**РЕЗУЛЬТАТЫ ОКРАШИВАНИЯ БРОМФЕНОЛОВЫМ СИНИМ МИКРОПРЕПАРАТОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС СО СКОПОЛАМИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ДЕМЕНЦИЕЙ**

Зоренко Е.М., Губина-Вакулик Г.И.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

**Актуальность.** В Украине некоторые исследователи в онкологии, гематологии, экспериментальной медицине для изучения соотношения карбоксильных и аминогрупп в белках микропрепаратов различных тканей организма используют окраску бромфеноловым синим, руководствуясь методикой Mikel Calvo (1975). В наше время методика Mikel Calvo (М.С.) – это то новое, что, по сути, давно забытое старое, поскольку после разработки эта методика очень мало использовалась. По методике М.С. в специальных компьютерных программах ImageJ, GIMP, ColorPic измеряют средние значения яркости выделенного фрагмента на микрофотографии микропрепарата, окрашенного бромфеноловым синим, в красной и синей части спектра и рассчитывают соотношение Red/Blue (R/B). Согласно предыдущим исследованиям, если R/B>1, то в белках преобладают карбоксильные группы, а если R/B <1 – в приоритете аминогруппы.

Известно, что в условиях гипоксии, окислительного стресса и холинодефицита в головном мозге (ГМ), экспериментально вызванного скополамином, активируется патологический распад белка-предшественника амилоида с последующим отложением амилоида в белом веществе и сосудах ГМ. Нас заинтересовало, какая будет морфологическая картина микропрепаратов ГМ при окрашивании бромфеноловым синим и каково соотношение R/B у крыс в условиях экспериментального холинодефицита разной продолжительности и после введения мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

**Цель.** Изучение результатов окрашивания бромфеноловым синим микропрепаратов головного мозга с измерением яркости цвета в синей и красной части спектра в участках нейропиля белых полушарий и гиппокампа и определение отношения R/B у крыс со скополамин-индуцированной деменцией.

**Материалы и методы.** 16 крыс-самцов популяции WAG массой 180-250 гр получали внутрибрюшинно раствор скополамина бутилбромида в дозе 1 мг/кг ежедневно в течение 14 и 28 дней (гр. Ск-14, Ск-28). Другие 16 крыс со скополамин-индуцированной деменцией получали единоразово внутривенно МСК в дозе 500тыс. клеток на одну крысу на следующий день после окончания инъекций скополамина (гр. Ск-14-С, Ск-28-С). Крысы группы контроля (гр. К, n=16) получали инъекции физиологического раствора по той же схеме. Выведение крыс из эксперимента проводили через 14 дней после инъекции МСК. Микропрепараты ГМ окрашивали бромфеноловым синим и изучали на бинокулярном микроскопе Zeiss Axiostar plus. Расчет R/B в белом веществе гиппокампа и полушарий проводили в программе GIMP.

**Результаты и выводы.** На всех препаратах ГМ экспериментальных групп обнаружена очаговая гомогенизация нейропиля. В гр. Ск-28 в области СА1 гиппокампа межнейрональные отростки оборваны. В гр. Ск-14 и гр. Ск-28 в белом веществе больших полушарий и гиппокампа зафиксированы «клубочки с волокнами внутри» соответственно: единичные и множественные. Соотношение R/B в сохранившимся нейропиле в экспериментальных группах ниже 1 и меньше, чем в гр. К (R/B=1,07±0,08). Так, в гр. Ск-14 R/B достигает 0,68±0,05. При этом после введения МСК R/B повышается до 0,74±0,06, но не достоверно по сравнению с гр. Ск-14 (р>0,05). У животных гр. Ск-28 - R/B=0,97±0,06, что выше значений гр. Ск-14(р<0,05) и Ск-14-С(р>0,05). В гр. Ск-28-С - R/B=0,77±0,07 - достоверно ниже, чем в гр. Ск-28 (р>0,05).

У крыс со скополаминой деменцией на фоне холинодефицита на микропрепаратах, окрашенных бромфеноловым синим, зафиксировано повреждение отростков нейронов («нейропиля») в белом веществе больших полушарий и в белом веществе гиппокампа. Это повреждение в гр. Ск-14 выражается в снижении количества кислотных радикалов (карбоксильных групп) в белках мембран. Это состояние можно назвать дистрофией. В гр. Ск-28 повреждение нейропиля более выражено, наблюдается увеличение отношения R/B, что сочетается с результатами биохимического исследования ткани ГМ, выявившего окислительный стресс (Zorenko Y., 2021). Введение МСК при непродолжительном введении скополамина обуславливает внутриклеточную регенерацию и повышение отношения R/B, а при более продолжительном введении скополамина и развитии окислительного стресса наблюдается также улучшение состояния нейропиля и снижение карбоксильных групп.

Окрашивание микропрепаратов ГМ бромфеноловым синим дает очень важную и интересную информацию о нарушении соотношения карбоксильных и аминогрупп в белках нейропиля белых полушарий и гиппокампа у крыс со скополамин-индуцированной деменцией.