

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-82-88

УДК 616.438:546.46:616-092.4

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2019

Характеристика популяции CD68+ клеток тимуса крыс при введении таутомерных форм магния оротата на фоне моделируемого дефицита магния

Н. Н. Чучкова^{1*}, К. А. Тукмачева¹, М. В. Сметанина¹, О. М. Канунникова³,
В. Г. Сергеев², В. М. Чучков², Н. В. Кормилина¹

¹ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия», г. Ижевск, Россия

²ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

³ФГБУН УдмФИЦ УрО РАН «Научный центр металлургической физики и материаловедения», г. Ижевск, Россия

Цель – изучение реакции CD68+ макрофагальной популяции тимуса на введение таутомерных форм оротата магния при дефиците магния.

Материал и методы. Магний-дефицитное состояние у крыс моделировали фуросемидной нагрузкой (30 мг/кг в течение 14 дней), затем животным вводили магния оротат в исходной оксо-форме (Magnerot©, Верваг, Германия) и гидроксид-форме, полученной путем механоактивации в дозе 50 мг/кг в течение 14 дней. В тимусе подсчитывали плотность расположения тимоцитов и макрофагов в субкапсулярной зоне, корковом и мозговом веществе (окраска гематоксилином и эозином), макрофаги исследовали иммуногистохимически с использованием моноклональных антител CD68 (Clone PG-M1).

Результаты. Показано, что оксо-форма препарата приводит к увеличению количества CD68+ клеток в корковом (в 1.7 раза по сравнению с контролем) и мозговом веществе (в 2.3 раза), повышению интенсивности иммунофлуоресценции (на 22.5%), появлению в коре и мозговой части тимусной долики крупных CD68+клеток, с четко прослеживаемой внутриклеточной локализацией гранул. Введение механоактивированной гидроксид-формы сопровождается увеличением количества CD68+ макрофагов в области коры (в 1.5 раза), и кортико-медуллярной границы (в 1.4 раза), но не затрагивает мозговую зону тимуса, снижается общая интенсивность флуоресцентного окрашивания до 27.87 ± 2.2 усл.ед.

Выводы. Таутомерные формы оротата магния оказывают различный эффект на макрофагальную популяцию тимуса: введение оксо-формы сопровождается резко выраженным активирующим действием на макрофаги CD68+ в отличие от гидроксид-формы, обладающей умеренным модулирующим воздействием.

Ключевые слова: тимус, CD68+ макрофаги, таутомерные формы магния оротата.

Characteristics of the Population of the Rat Thymus CD68+ Cells in Response to Tautomeric Forms of Magnesium Orotate Introduction under Simulated Magnesium Deficiency

© N.N. Chuchkova^{1*}, K.A. Tukmachova¹, M.V. Smetanina¹, O.M. Kanunnikova³, V.G. Sergeev², V.M. Chuchkov², N.V. Kormilina¹, 2019

¹Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia

²Udmurt State University, Izhevsk, Russia

³Research Centre of Metallurgic Physics and Material Technology, Izhevsk, Russia

The aim of study was to identify a response of the thymus CD68+ cells population to the introduction of tautomeric forms of magnesium orotate under magnesium deficiency.

Material and methods. Magnesium-deficient status in rats was simulated by furosemide loading (30 mg/kg 14 days); then the animals were injected magnesium orotate in the initial oxo-form (Magnerot©, Vervag, Germany) and hydroxy-form obtained by mechanical activation, dosage 50 mg/kg, for 14 days. The density of thymocytes and macrophages was calculated in the subcapsular zone, cortex and brain matter (stained with hematoxylin and eosin) in the thymus, macrophages were studied immunohistochemically using monoclonal CD68 antibodies (Clone PG-M1).

Results. The oxo-form of the drug was shown to lead to an increase in the number of CD68+ cells in the cortex of thymus (1.7 compared with the control) and medulla of thymus (2.3 times), an increase in the intensity of immunofluorescence (22.5%), the appearance of the thymus lobule of large CD68+cells in the cortex and the medulla part with a clearly traced intracellular localization of granules. The introduction of mechanically activated hydroxyl-form was accompanied by an increase in the number of CD68+ macrophages in the cortical area (1.5 times), and cortico-medullary partition (in 1.4 times), but did not affect the cerebral area of the thymus. The overall intensity of fluorescent staining reduced to 27.87 ± 2.2 relative units (RU).

Conclusion. The tautomeric forms of magnesium orotate have a diverse effect on the macrophage population of the thymus: the introduction of the oxo-form is accompanied by a significant activating effect on the CD68+macrophages in contrast to the hydroxyl form having a moderate modulating effect.

Key words: thymus, CD68+ macrophages, magnesium orotate tautomers.

***Автор для переписки:**

Чучкова Наталья Николаевна

Кафедра медицинской биологии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, ул. Коммунаров, 281, г. Ижевск, 426034, Российская Федерация
E-mail: migo5@inbox.ru***Corresponding author:**

Natal'ya Chuchkova

Department of Medical Biology, Izhevsk State Medical Academy, ul. Kommunarov, 281, Izhevsk, 426034, Russian Federation
E-mail: migo5@inbox.ru**Введение**

Оротат магния, широко применяемый для коррекции гипомagneзмии, в составе таблеток представлен оксо-формой, однако имеет три таутомера, с различным составом функциональных групп, которые по-разному участвуют в метаболических процессах, а следовательно, могут оказывать неодинаковое терапевтическое воздействие. Важным в оценке действия препарата является его влияние на иммунную систему организма. Макрофаги принимают участие в иммунном ответе на всех его стадиях. CD68 – маркерный белок (гликопротеин) моноцитов и макрофагов, использующийся для выявления клеток в гистологических срезах органов экспериментальных животных [13, 15]. Клетки, экспрессирующие CD68, локализуются как в корковом, так и в мозговом веществе тимуса, но их не обнаруживают в тельцах Гассала [14]. В исследованиях [7, 13] отмечается вариабельность популяции макрофагов тимуса CD68+ на введение иммуномодуляторов.

Ранее показано более быстрое и полное восстановление уровня магния в крови при введении в организм лабораторных животных гидроксид-формы магния оротата [12], выраженное активное действие его на электрокинетическую активность клеток, иммунокомпетентные клетки экспериментальных животных [6, 11].

В связи с вышеизложенным, целью нашего исследования явилось изучение популяции CD-68+ макрофагов тимуса в условиях дефицита магния, индуцированного введением фуросемида с последующей коррекцией таутомерными формами оротата магния: исходной, или оксо-формой и механоактивированной, или гидроксид-формой.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на 50 беспородных белых крысах *Rattus norvegicus* Berk обоего пола в возрасте 2–3 месяцев, массой тела 180–200 г. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» МЗ РФ. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении, стандартном режиме питания, свобод-

ном доступе к воде и двигательной активности. Для устранения влияния сезонной циркадной зависимости эксперименты проводили в осенне-зимний период во второй половине дня. Эксперименты на животных проводили в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals» (Женева, 1990) и Хельсинкской декларацией (1975).

Известно, что дефицит магния провоцируется диуретиками [3]. Для формирования магниидефицитного состояния была использована модель фуросемидной нагрузки [10]. Для этого животным внутрибрюшинно вводили 1% раствор фуросемида в дозе 30 мг/кг в течение 2 недель. На 14-й день введение фуросемида отменяли и животных разделяли на 2 группы. Первая (экспериментальная группа №1) получала внутривенно через зонд оксо-форму магния оротата (Magnerot®, Верваг Фарма ГмБХ и Ко, Германия); вторая (экспериментальная группа №2) – гидроксид-форму магния оротата. Гидроксид-форму препарата готовили с использованием метода механоактивации в шаровой планетарной мельнице АГО-2С (ФГБУН УдмФИЦ УРО РАН НЦ МФМ, Ижевск) при скорости вращения барабанов 600 об/мин., энергонапряженность составила 2кДж/г. Температура стенок барабана в процессе механоактивации не превышала 60°C за счет принудительного водяного охлаждения.

Доза препарата (исходного и механоактивированного) составляла 50 мг/кг элементарного магния, что соответствует терапевтической дозе магния оротата. Животных выводили из эксперимента на 14-й день путем эфирного наркоза в летальной дозе в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ Минздрава СССР от 12.08.1977 №755; приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 №708н).

Все процедуры проводились в строго контролируемых условиях, материал от опытных и контрольных животных каждой серии обрабатывали одновременно.

Тимус фиксировали в 10% формальдегиде («Реахим»), заливали в парафиновую среду Histomix, готовили серийные срезы и подвергали стандартной гистологической обработке с окраской гематоксилином и эозином. В тимусе подсчитывали плотность расположения тимоцитов и макрофагов в субкапсулярной зоне, корковом и мозговом веществе при увеличении в 1000 раз (ок. 10, об. 100, масляная иммерсия). Количество клеточных элементов рассчитывали на площадь 100 мкм², данные представляли в %. Макрофагальную реакцию оценивали иммуногистохимически с использованием мышиных моноклональных антител CD68 (Clone PG-M1, разведение 1:50), вторые антитела были конъю-

Таблица 1

Плотность расположения и количество тимоцитов и макрофагов в структурных зонах тимуса в эксперименте (M±m, %)

Показатели	Подкапсулярная зона	Корковое вещество	Мозговое вещество
Плотность расположения клеток	90.1±5.2	92.2±6.9	53.4±5.2
Тимоциты	71.5±5.8	76.4±2.5	56.3±5.3
Макрофаги	1.5±0.32	2.5±0.23	4.5±0.54
Фуросемид-индуцированный дефицит магния			
Плотность расположения клеток	96.8±7.5*	94.15±4.5	44.8±3.8*
Тимоциты	73.2±5.6	77.4±4.6	59.9±6.4
Макрофаги	2.2±0.32*	3.0±0.64	5.7±0.69*
Введение исходного магния оротата (оксо-форма)			
Плотность расположения клеток	92.3±1.5	89.6±2.5	31.3±2.0*
Тимоциты	70.2±4.3	74.2±5.2	60.6±6.8
Макрофаги	1.9±0.21*	5.7±0.5*	6.1±0.56*
Введение механомодифицированного магния оротата (гидрокси-форма)			
Плотность расположения клеток	91.0±1.3	90.9±5.8	56.5±6.2
Тимоциты	69.9±3.7	75.1±4.2	60.0±7.3
Макрофаги	2.4±0.32*	3.2±0.68*	5.2±0.47*

Примечание: * – различия достоверны в сравнении с контролем при $p \leq 0.05$.

гированы с FITC, ядра клеток докрашивали DAPI (Sigma-Aldrich, США). Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах в соответствии со стандартными протоколами пробоподготовки. Срезы изучали с помощью люминесцентного микроскопа Nikon ECLIPSE E200, измерение интенсивности свечения иммунореактивного продукта в границах определенной области проводили на фронтальных срезах при помощи морфометрических программ Image ProInsite 8.0, Image ProPlus 6.0 (MediaCybernetics). Результаты исследования оценивали с учетом локализации CD68+ клеток, их количества, степени окраски (интенсивность свечения). Рассчитывали: среднюю суммарную площадь клеток в поле зрения микроскопа (в 10 случайных полях зрения на каждом из 6 срезов препарата при увеличении 400 крат, представлена в усл. ед.); интенсивность свечения представлена для всей популяции клеток (в усл.ед).

Статистическая обработка материала велась с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0». Рассчитывали среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку средней (m). Использовали 95% уровень статистической значимости различий результатов исследования. Статистический анализ выполнялся согласно методикам, применяемым в медико-биологической статистике [2].

Результаты и их обсуждение

Количественная оценка клеточных популяций при стандартной гистологической окраске (гематоксилин и эозин) выявляет выраженный макрофагальную реакцию на введение таутомеров оротата магния как в исход-

ной, так и в механомодифицированной форме (табл. 1).

У животных в ответ на фуросемидную нагрузку и вызываемый ею дефицит магния (ДМ) плотность клеток в подкапсулярной зоне (ПЗ) тимуса увеличивается на $20.6 \pm 1.2\%$, а в мозговом веществе уменьшается в 1.2 раза. В этих же зонах тимуса увеличивается количество макрофагов (в 1.5 раза – в ПЗ; в 1.3 – в мозговом веществе, $p \leq 0.05$). Количество клеток в мозговом веществе тимической долики при введении оксо-формы магния оротата продолжает снижаться, при введении гидрокси-формы магния оротата восстанавливается. Количество макрофагов остается повышенным в обеих экспериментальных группах с введением препаратов, особенно в тимусе животных, получавших исходную оксо-форму магния оротата.

CD68 позитивные клетки в контрольной популяции представлены как в корковом, так и в мозговом веществе тимуса, локализуются на границе этих областей (кортико-медуллярная граница) (рис. 1). Клетки характеризуются в основном малыми размерами (суммарная площадь клеток равна 5753.3 ± 81.5 усл.ед.) с яркой или умеренной окраской (средние параметры интенсивности свечения – 44.74 ± 2.2 усл.ед.), что согласуется с данными литературы [4, 8, 9, 13].

Дефицит магния практически не вызывает изменений в интенсивности свечения CD68 положительных макрофагов, их величины и распределения в органе, суммарная площадь клеток не изменяется. Яркость окраски сохраняется на уровне интактного контроля (44.4 ± 2.5 усл.ед.). Таким образом, функциональная активность макрофагов, оцениваемая по экспрессии маркера CD68, изменяется незначительно, интенсивность

Таблица 2

Количество CD68+ клеток в структурных зонах тимуса в эксперименте (M±m)

Зона тимической доли	Интakтный контроль	Фуросемид-индуцированный дефицит магния	Введение оксо-формы магния оротата	Введение гидрокси-формы магния оротата
Корковое вещество	6.5±0.5	6.9±0.5	11.2±1.1*	10.3±0.9*
Мозговое вещество	1.5±0.2	1.4±0.5	3.5±0.9*	2.0±0.8
Кортико-медуллярная зона	4.1±0.9	3.8±0.5	4.5±0.5	5.8±0.4*

Примечание: * – различия достоверны в сравнении с контролем при $p \leq 0.05$

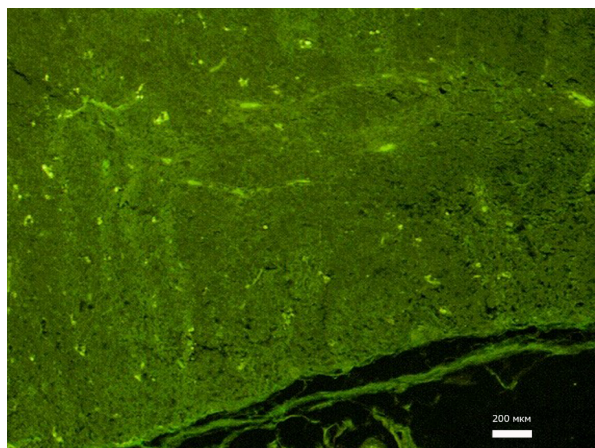


Рис. 1. Препарат тимуса крысы контрольной группы. CD68 позитивные макрофаги представлены мелкими клетками с ярким и умеренным свечением. Ок. 10, об. 4. Маркеры визуализированы с помощью вторых антител, конъюгированных с FITC.

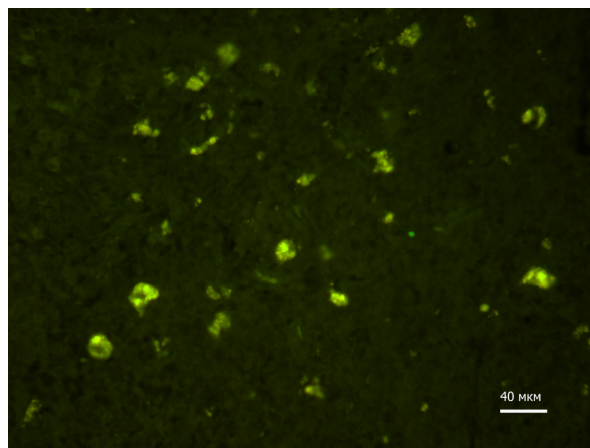


Рис. 2. Корковое вещество тимуса крыс с введением оксо-формы оротата магния. Популяция ярко окрашенных CD68+ клеток мелких и средних размеров. Ок. 10, об. 4.

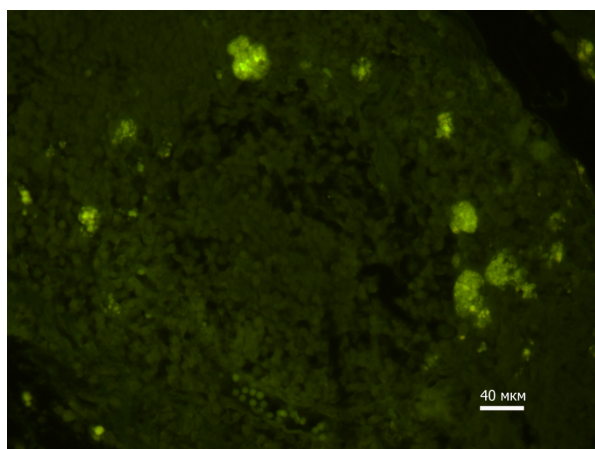


Рис. 3. Корковое вещество тимуса крыс после введения оксо-формы оротата магния. В крупных CD68+ клетках четко различимы внутриклеточные гранулы. Ок. 10, об. 40.

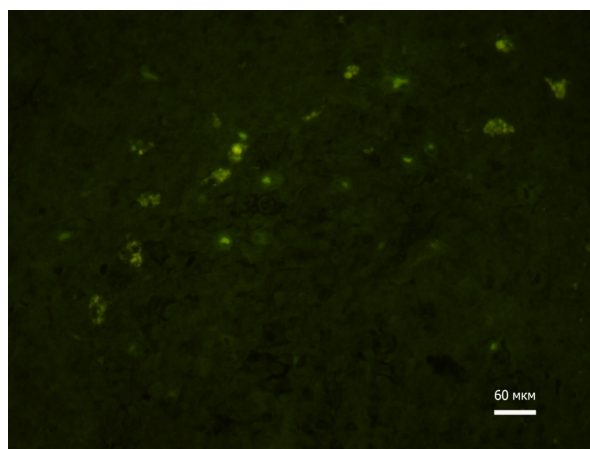


Рис. 4. Тимус крыс, которым вводили гидрокси-форму оротата магния. Корково-медуллярная зона. CD68+ макрофаги средней величины, с умеренной интенсивностью окраски. Ок. 10, об. 40.

иммуногистохимической реакции характеризуется относительно невысокой степенью проявления, что выражается слабым диффузным окрашиванием цитоплазмы.

При введении животным оксо-формы магния оротата экспрессия маркера резко возрастает, характерно интенсивное окрашивание цитоплазмы, появление в клетках компактных, четко различаемых и тесно расположенных зерен. С функциональной точки подобную картину можно трактовать как высокую степень функциональной активности

макрофагов. Введение оксо-формы магния оротата приводит к увеличению количества макрофагов в корковом веществе в 1.72 раза ($p \leq 0.05$), в мозговом – в 2.3 раза ($p \leq 0.05$) (табл. 2). Отмечается появление крупных, с яркой или умеренной окраской клеток, редко встречаемых в интактном контроле (рис. 2). В таких клетках четко прослеживается внутриклеточная структурированность окраски (рис. 3). Макрофаги CD68+ формируют группы и цепочки в корковом веществе (рис. 4), клетки меньших размеров локализуются по

периферии мозгового вещества, в области кортико-медуллярной границы. Общая интенсивность свечения CD68+ клеток при введении оксо-формы оротата магния возрастает на 22.5% (до 54.82 ± 1.3 усл.ед.).

Введение гидрокси-формы магния оротата приводит к увеличению количества макрофагов с фенотипом CD68+ в корковом веществе (в 1.59 раза, $p \leq 0.05$), но их число не изменяется в мозговом веществе. Выраженная реакция макрофагов при введении гидрокси-формы магния оротата отмечается в области кортико-медуллярной границы: здесь их количество увеличено на 41.5% (табл. 2).

Гидрокси-форма не вызывает столь выраженной ответной реакции макрофагальной популяции в отношении интенсивности иммуногистохимической окраски, проявляясь диффузным окрашиванием цитоплазмы и отдельными рассеянными в цитоплазме клеток зернами, что соответствует умеренной степени функциональной активности. Различается и локализация клеток: большая часть CD68+ макрофагов располагается в корковом веществе и в кортико-медуллярной зоне (табл. 2). При введении животным механомодифицированного магния оротата мы не обнаружили очень крупных CD68+ макрофагов с высокой степенью окраски, как это отмечалось при введении оксо-формы оротата магния. Популяция макрофагов при введении гидрокси-формы оротата магния представлена в подкапсулярной зоне крупными бледными CD68+ клетками, нередко формирующими цепочки. CD68+ макрофаги, располагающиеся в кортико-медуллярной области, средних размеров, умеренно окрашенные. Интенсивность свечения клеток при введении гидрокси-формы оротата магния составила 27.87 ± 2.2 усл.ед., что в 2 раза ниже, чем при введении исходной оксо-формы магния оротата.

Макрофаги – гетерогенная популяция, помимо присущей функции фагоцитоза они стимулируют и регулируют иммунный ответ, участвуют в репаративных процессах, обмене компонентов внеклеточного матрикса. CD68 взаимодействует с клеточной поверхностью лимфоцитов, эндотелиоцитов, фибробластов. В тканях крыс и мышей он используется как маркер макрофагальных клеток [7, 13, 16]. Механизмы преобразования макрофагов во многом неясны, что предполагает в интерпретации их изменений ряд обобщений и некоторых упрощений, необходимость выделения главных элементов, которые можно было бы связать с течением конкретного патологического процесса [5].

Фенотип CD68 связывают с появлением классически активированных макрофагов, которые обеспечивают клеточно-опосредованный иммунный ответ, таким же они могут реагировать на различные стрессо-

вые стимулы [1, 18]. Велика роль макрофагов и в регенерации [17, 19]. Полученные в эксперименте данные об активности популяции CD68+ макрофагов тимуса в ответ на введение различных таутомерных форм магния оротата свидетельствуют о напряженности иммунных процессов (увеличивается количество макрофагов, изменяется их функциональная активность) при введении таутомеров оротата магния, но более выраженное воздействие отмечается при использовании оксо-формы препарата, что может свидетельствовать об увеличении провоспалительного потенциала в ткани. В то же время, гидрокси-форма оказывает умеренно-модулирующее воздействие на популяцию CD68 положительных макрофагов, преобразования касаются в основном количественных показателей, интенсивность свечения изменяется незначительно.

Выводы

Введение магния оротата независимо от его таутомерной формы (исходной – оксо-формы или механоактивированной – гидрокси-формы) сопровождается увеличением количества CD68+ макрофагов в тимусе, но с различной локализацией активных клеток в зависимости от формы препарата.

Более выраженный как количественный, так и функциональный ответ наблюдается при введении оксо-формы магния оротата, в этом случае характерно наличие крупных CD68+клеток, с четко прослеживаемой внутриклеточной локализацией гранул, что предполагает активацию макрофагов по классическому пути с провоспалительной направленностью.

Введение механоструктурированного препарата (гидрокси-формы) сопровождается менее выраженной иммунной реакцией, с умеренной степенью окрашивания, а, следовательно, и функциональной активностью макрофагальной группы клеток.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Брындина И. Г., Васильева Н. Н., Казакова М. В. Пептидергические механизмы регуляции бактерицидной активности альвеолярных макрофагов в условиях эмоционального стресса. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2012; 3(85):257–259 [Bryndina IG, Vasilyeva NN, Kazakova MV. Peptidergic mechanisms of regulation of bactericidal activity of alveolar macrophages in condition of emotional stress. 2012; 3(85):257–9] (in Russian).
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика; 1998. 459 [Glantz S. Primer of

- biostatistics. Moscow: Praktika; 1998] (in Russian).
3. Громова О. А., Гришина Т. Р., Торшин И. Ю., Лиманова О. А., Юдина Н. Ю., Калачева А. Г. Прием диуретиков провоцирует дефицит магния: тактика коррекции. *Терапия*. 2017;2:122–133 [Gromova OA, Grishina TR, Torshin IY, Limanova OA, Yudina NY, Kalacheva AG. Diuretics induce magnesium deficiency: tactics of correction. *Therapy*. 2017;(2):122–33] (in Russian).
4. Драндрова Е. Г., Стручко Г. Ю., Меркулова Л. М., Кострова О. Ю., Москвичев Е. В., Михайлова М. Н., Арлашкина О. М. Иммуногистохимические исследования клеточного состава тимуса при канцерогенезе в условиях врожденного иммунодефицита. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 3:193. [Drandrova EG, Struchko GY, Merkulova LM, Kostrova OY, Moskvichev EV, Mikhaylova MN, et al. Immunohistochemical researches of thymic cellular composition at carcinogenesis in condition of congenital immunodeficiency. *Modern problems of science and education*. 2015;(3):193] (in Russian).
5. Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Шкурупий В. А. Механизмы активации макрофагов. *Успехи современной биологии*. 2007;127(3):243–256 [Zenkov NK, Men'shchikova EB, Shkurupiy VA. Mechanisms of Macrophage Activation. *Uspekhi sovremennoi biologii*. 2007;127(3):243–256] (in Russian).
6. Комиссаров В. Б., Сметанина М. В., Чучкова Н. Н., Кормилина Н. В. Показатели лейкограммы и лейкоцитарные индексы при коррекции магниевого дефицита нанодисперсной формой оротата магния. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9(18), 2(1):256–258 [Komissarov VB, Smetanina MV, Chuchkova NN, Kormilina NV. Pokazateli leukogrammy i leukotsitarnye indeksy pri korrektsii magnievogo defitsita nanodispersnoi formoi orotata magniya. *Russian Journal of Immunology*. 2015; 9(2–1):256–258] (in Russian).
7. Луговцов Н. А., Платонов А. Н., Луговцова П. А. Топография клеточных элементов тимуса человека: CD68-положительные макрофаги, S-100, CD1a-положительные дендритные клетки, тельца Гассала, их содержимое (СЕА). *Научные стремления*. 2012; 2:101–105 [Luhautsou MA, Platonau AM, Luhautsova PA. Topography of the human thymic microenvironment: CD68+ macrophages, S-100, CD1a+ dendritic cells, hassall's' corpuscles, its' content (CEA). *Scientific Aspirations*. 2012;(2):101–5] (in Russian).
8. Мичурина С. В., Васендин Д. В., Машков С. В., Ищенко И. Ю. Особенности структурных изменений в тимусе после воздействия экспериментальной гипертермии. *Вестник ВолГМУ*. 2011;4 (40):95–98 [Michurina SV, Vasendin DV, Maschkov SV, Ischenko IY. Peculiarities of structural changes in thymus after experimental hyperthermia. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2011;(4):95–8] (in Russian).
9. Москвичев Е. В., Меркулова Л. М., Стручко Г. Ю., Михайлова М. Н., Кострова О. Ю. Иммуногистохимическая характеристика акцидентальной инволюции тимуса после спленэктомии. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2012; 2:40–43 [Moskvichev EV, Merkulova LM, Struchko GYu, Michailova MN, Kostrova OYu. Immunohistochemical characterization of accidental involution of the thymus after splenectomy. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2012;7(2):40–3] (in Russian).
10. Спасов А. А., Озеров А. А., Иезица И. Н., Харитонов М. В., Кравченко М. С., Желтова А. А. Сравнительная коррекция фуросемидной гипомagneзиемии различными стереоизомерами органических солей магния. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2011; 151(3): 308–310. [Spasov AA, Ozerov AA, Iezhitsa IN, Kharitonova MV, Kravchenko MS, Zheltova AA. Correction of Furosemide-Induced Magnesium Deficiency with Different Stereoisomers of Organic Magnesium Salts: A Comparative Study. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2011 Jul;151(3):333–5] (in Russian). doi: 10.1007/s10517-011-1323-y
11. Чучкова Н. Н., Канунников М. М., Сметанина М. В., Комиссаров В. Б., Соловьев А. А. Сравнительное исследование эффективности применения таутомеров оротата магния для компенсации дефицита магния. Часть I. Влияние таутомеров магния оротата на изолированные клетки лабораторных животных и человека. *Уральский медицинский журнал*. 2018; 4 (159):141–146 [Chuchkova NN, Kanunnikov MM, Smetanina MB, Komissarov VB, Solov'yev AA. A comparative study of the effectiveness of magnesium orotate tautomers to compensate magnesium deficiency. Part I. The influence of magnesium orotate tautomers on laboratory animals and humans isolated cells. *Ural Medical Journal*. 2018;(4):141–6] (in Russian).
12. Чучкова Н. Н., Сметанина М. В., Комиссаров В. Б., Канунников О. М., Аксенова В. В., Кормилина Н. В. Сравнительное исследование эффективности применения таутомеров оротата магния для компенсации дефицита магния. Часть II. Влияние оксо- и гидроксид-форм оротата магния на элементный состав крови и тканей органов лабораторных животных. *Уральский медицинский журнал*. 2018;4(159):147–153 [Chuchkova NN, Smetanina MV, Komissarov VB, Kanunnikov OM, Aksenova VV, Kormilina NV. A comparative study of the effectiveness of magnesium orotate tautomers to compensate magnesium deficiency. II. The influence of oxo- and hydroxyforms of magnesium orotate on laboratory animals blood and tissues elemental composition. *Ural Medical Journal*. 2018;(4):147–153] (in Russian).
13. Ястребова С. А., Илларионова С. В., Зайцева Н. А., Сергеева В. Е. Реакция CD68 позитивных клеток селезенки и тимуса на введение иммуномодуляторов. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016; 4:590–593 [Yastrebova SA, Illarionova SV, Zaitseva NA, Sergeeva VE. The reaction of CD68-positive cells of the spleen and thymus on the introduction of immunomodulators. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2016;(4):590–3] (in Russian).
14. Papoudou-Bai A, Bai M, Doukas M, Stefanaki K, Spyridonos P, Karatzias G. Immunohistological characterization of thymic dendritic cells. *In Vivo*. 2012;26(6):985–992.

15. *Rehg JE, Bush D, Ward JM.* The Utility of Immunohistochemistry for the Identification of Hematopoietic and Lymphoid Cells in Normal Tissues and Interpretation of Proliferative and Inflammatory Lesions of Mice and Rats. *Toxicologic Pathology.* 2012 Feb;40(2):345–74. doi: 10.1177/0192623311430695
16. *Saito N, Pulford KA, Breton-Gorius J, Masse JM, Mason DY, Cramer EM.* Ultrastructural localization of the CD68 macrophage-associated antigen in human blood neutrophils and monocytes. *Am. J. Pathol.* 1991;139(5):1053–9.
17. *Vannella KM, Wynn TA.* Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. *Annual Review of Physiology.* 2017 Feb 10;79(1):593–617. doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034356
18. *Wills QF, Mellado-Gomez E, Nolan R, Warner D, Sharma E, Broxholme J, et al.* The nature and nurture of cell heterogeneity: accounting for macrophage gene-environment interactions with single-cell RNA-Seq. *BMC Genomics.* 2017 Jan 7;18(1):53. doi: 10.1186/s12864-016-3445-0
19. *Wynn TA, Vannella KM.* Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity.* 2016 Mar;44(3):450–62. doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.015

Поступила в редакцию 14.01.2019
Принята в печать 1.03.2019

Received 14.01.2019
Accepted 1.03.2019

Для цитирования: Чучкова Н.Н., Тукмачева К.А., Сметанина М.В., Канунникова О.М., Сергеев В.Г., Чучков В.М., Кормилина Н.В. Характеристика популяции CD68+ клеток тимуса крыс при введении таутомерных форм магния оротата на фоне моделируемого дефицита магния. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2019; 8(1): 82–88. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-82-88.

For citation: Chuchkova NN, Tukmacheva KA, Smetanina MV, Kanunnikova OM, Sergeev VG, Chuchkov VM, Kormilina NV. Characteristics of the population of the rat thymus CD68+ cells in response to tautomeric forms of magnesium orotate introduction under simulated magnesium deficiency. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2019; 8(1): 82–88. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-82-88.