

Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106, № 3. С. 170-178.
Animal Husbandry and Fodder Production. 2023. Vol. 106, no 3. P. 170-178.

Научная статья
УДК 636.32/.38:576.8.094.4:591.11
doi:10.33284/2658-3135-106-3-170

Изменение параметров ядрышковых организаторов у овец под влиянием эндогенных факторов

Инна Петровна Новгородова¹, Байлар Садрадин оглы Иолчиев², Юрий Александрович Прытков³

^{1,2,3}Федеральный исследовательский центр животноводства им. Л.К. Эрнста - ВИЖ им. Академика Л.К. Эрнста, Дубровицы, Московская область, Россия

¹novg-inna2005@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4617-1644>

²baylar1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5386-7263>

³prytkov_y@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0843-1297>

Аннотация. Активность ядрышковых организаторов (ЯОР) зависит от многочисленных факторов, под действием которых происходит изменение их параметров. Это свойство напрямую связано с морфофункциональным состоянием клеток. Для изучения влияния эндогенных факторов на параметры ядрышек проводили исследования животных, содержащихся в разных условиях и при разном физиологическом состоянии; и в зависимости от этого они были разделены на 4 группы (в каждой группе – 5 голов). Исследования проведены в лаборатории клеточной инженерии ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. От исследуемых животных были отобраны пробы крови и приготовлены мазки крови для дальнейшего изучения пролиферативной активности клеток с использованием методики окрашивания нитратом серебра. Изучены следующие показатели: число аргирофильных зон (A_{gNOR}), средняя плотность их окраски (D_{NOR}), средняя плотность участков, свободных от ЯОР (D_F), общая площадь ядра (S_N) и среднее значение яркости аргирофильных зон (F). В ходе исследований выявлено, что в группе животных, отнесённых к условно здоровым, при сравнительном анализе с контролем максимальными были следующие показатели: общая площадь ядра (S_N) и средняя плотность окраски аргирофильных зон (D_{NOR}). Максимальные показатели количества A_{gYOP} в клетках животных 3 и 4 групп (условно больные и павшие через 7-10 дней после забора крови) составило 5 с частотой 4,5 %, в контрольной группе данный показатель имел высокую вариабельность и максимальное количество ядрышек составило 11. Таким образом, эндогенные факторы оказывают влияние на параметры ядрышек лимфоцитов.

Ключевые слова: ядрышковые организаторы (ЯОР или NOR), аргирофильная структура, животные, овцы, ядрышко, лимфоциты

Благодарности: работа выполнена в соответствии с планом НИР за 2021-2023 гг. ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста № 0445-2021-0005.

Для цитирования: Новгородова И.П., Иолчиев Б.С., Прытков Ю.А. Изменение параметров ядрышковых организаторов у овец под влиянием эндогенных факторов // Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106, № 3. С. 170-178. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-3-170>

Original article

Changes in the parameters of nucleolar organizers in sheep under the influence of endogenous factors

Inna P Novgorodova¹, Bailer S Iolchiev², Yuri A Prytkov³

^{1,2,3}Federal Research Centre for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Dubrovitsy, Moscow Region, Russia

¹novg-inna2005@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4617-1644>

²baylar1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5386-7263>

³prytkov_y@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0843-1297>

Abstract. The activity of nucleolar organizers (NORs) depends on numerous factors that change their parameters. This property is directly related to the morphofunctional state of cells. To study the in-

fluence of endogenous factors on the parameters of the nucleoli, studies were carried out on animals kept in different conditions and different physiological states, they were divided into 4 groups (n = 5 animals in each group). The studies were carried out in the cell-engineering laboratory of the Federal Research Centre for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst. Blood samples were taken from the studied animals and blood smears were prepared for further study of the proliferative activity of cells using the silver nitrate staining technique. The following indicators were studied: the number of argyrophilic zones (AgNOR), their average color density (D_{NOR}), the average density of NOR-free areas (D_F), the total core area (S_N) and the average brightness of argyrophilic zones (F). In the course of the research, it was found that in the group of animals that were classified as conditionally healthy, in a comparative analysis with the control, the following indicators were maximum: total nuclear area (SN) and average color density of argyrophilic zones (D_{NOR}). The maximum indicators of the amount of AgNOR in the cells of animals of groups 3 and 4 (conditionally sick and dead 7-10 days after blood sampling was 5 with a frequency of 4.5%, in the control group this indicator had a high variability and the maximum number of nucleoli was 11. Thus, endogenous factors affect the parameters of the nucleoli of lymphocytes.

Keywords: nucleolar organizers (NOR), argyrophilic structure, animals, sheep, nucleolus, lymphocytes

Acknowledgments: the work was performed in accordance to the plan of research works for 2023-2024 Federal Research Centre for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst No. 0445-2021-0005.

For citation: Novgorodova IP, Iolchiev BS, Prytkov YuA. Changes in the parameters of nucleolar organizers in sheep under the influence of endogenous factors. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2023;106(3):170-178. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-3-170>

Введение.

Эукариотические клетки имеют сотни или тысячи копий генов рРНК, сгруппированных в длинные тандемные массивы, некоторые из которых образуют области ядрышковых организаторов (ЯОР или NOR). Ядрышки являются местами биогенеза рибосом. Во время интерфазы каждого клеточного цикла только локусы с активной транскрипцией и процессингом рРНК могут образовывать ядрышки (Handa H et al., 2018). Они представляют собой многофункциональную и динамичную органеллу, участвующую во многих жизненно-важных процессах. Также они играют важную роль в регуляции клеточного цикла, распознавании и восстановлении ДНК-повреждений (Lam YM and Trinkle-Mulcahy L, 2015; Mangan H et al., 2017), контроле клеточного старения, клеточного ответа на стресс (Pederson T, 2011). При этом проявляется способность адаптации их морфологии в ответ на клеточные раздражители, различные патологии и т. д. Именно поэтому ядрышко считается важным индикатором физиологического состояния клеток (Caudron-Hergeri M et al., 2015; Villegas-Mercado CE et al., 2018).

Необходимо понимать эволюционные функциональные последствия вариаций числа копий гена рРНК в пределах ЯОР, наблюдаемых среди особей, хромосом и видов (Britton-Davidian J et al., 2012; Litterman R et al., 2014). Некоторые геномы содержат один локус ЯОР, что характерно для рептилий, амфибий и рыб (Montiel E.E. et al., 2016), в то время как другие таксоны обладают несколькими локусами, включая млекопитающих и птиц (Barbarosa MO et al., 2013; Farley KI et al., 2015). У позвоночных они меняют месторасположение хромосом и могут присутствовать в аутозомах или половых хромосомах, например, у черепах, змей (Bandenhorst D et al., 2013; Montiel EE et al., 2016). Существует несколько методов диагностики использования ЯОР, из них наиболее распространённые: с помощью вторичных перетяжек хромосом (Prieto JL and McStay B, 2008); окрашивание серебром (AgЯОР) транскрипционноактивных ЯОР (Howell WM and Black DA, 1980).

Метод окрашивания нитратом серебра является наиболее доступным и заключается в окрашивании активно функционирующих ЯОРс целью анализа функционального состояния клетки

(Новгородова И.П., 2022). При этом интенсивность окрашивания AgЯОР коррелирует с транскрипционной активностью рибосомных генов (Embaló B et al., 2018; Dobson JM, 2019).

Цель исследования.

Изучение влияния эндогенных факторов (условия содержания, физиологическое состояние) на параметры ЯОР животных

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Овцы в возрасте 18 месяцев.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями российских нормативных актов (1987 г.; Приказ Минздрава СССР No 755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных») и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Academy Press, Washington, D.C., 1996). При проведении исследований были предприняты меры для обеспечения минимума страданий животных и уменьшения количества исследуемых опытных образцов.

Схема эксперимента. Исследования проведены на физиологическом дворе ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Были сформированы 4 группы животных в зависимости от условий содержания и общего состояния. Т. к. на данном этапе исследований у нас не было цели постановки диагноза (это – компетенция ветврачей), мы изучали только параметры ЯОР животных с различными клиническими состояниями. 1 группа – овцы, содержащиеся в индивидуальных станках (контроль), 2 группа – овцы, содержащиеся в стаде, условно здоровые, 3 группа – овцы, содержащиеся в стаде, условно больные (повышение температуры, слезоточивость, слабость, отказ от корма), 4 группа – овцы, условно больные, у которых наблюдался падёж на 7-10 сутки после забора крови. В каждой группе было 5 голов овец.

Для приготовления мазков отобрали кровь из яремной вены животных в пробирки с гепарином (Vacuette, Австрия) в объёме 5-9 мл. Мазки крови готовили с разбавлением 0,9 %-м физраствором («ПанЭко», Россия) (в соотношении 3:1). Затем мазки фиксировали в течение 10 мин метиловым спиртом («ХимМед», Россия) и высушивали. По истечении 7-10 дней, необходимых для созревания препаратов, проводили их окрашивание 50 %-м раствором азотнокислого серебра («ХимМед», Россия) по методике Хавелла-Блейка (Howell WM and Black DA, 1980) в течение 20 мин при +37 °С. От каждого животного после дифференцирования популяций клеток крови было исследовано по 25-30 лимфоцитов. Стёкла с препаратами просматривали под масляной иммерсией при увеличении $\times 100$.

Состояние аргирофильных структур оценивали по таким параметрам, как число аргирофильных зон (A_{gNOR}), средняя плотность их окраски (D_{NOR}), средняя плотность участков, свободных от ЯОР (D_F), общая площадь ядра (S_N) и среднее значение яркости аргирофильных зон (F).

Оборудование и технические средства. Исследования проведены в лаборатории клеточной инженерии ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Для фотосъёмки использовали камеру «Альтами 3М Пикс» (Альтами, Россия) и микроскоп «Альтами Био 1» (Альтами, Россия). Анализ данных проводили с помощью программы «ImageScope 1.0.» (Leica Biosystems, Германия) и алгоритму, разработанному Кленовицким П.М. и др. (2019).

Статистическая обработка. Результаты, полученные при исследовании, обрабатывали при помощи компьютерной программы SPSS «Statistics 23.0» (IBM, США). Результаты представлены в виде среднего (M) и стандартной ошибки среднего (m). Достоверность различий сравниваемых показателей определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования.

Сравнительные исследования состояния ядрышкового аппарата у овец в зависимости от исследуемой группы позволили выявить, что максимальные значения общей площади ядра (S_N) были у животных условно здоровых (2 группа) и составили $914\,280,00 \pm 34871,64$ мкм, в то время как минимальные значения были у овец, которые пали в течение 7-10 дней после взятия крови ($779\,669,63 \pm 43338,20$ мкм). Эти значения в контрольной группе составили $836\,416,75 \pm 17435,82$ мкм (табл. 1).

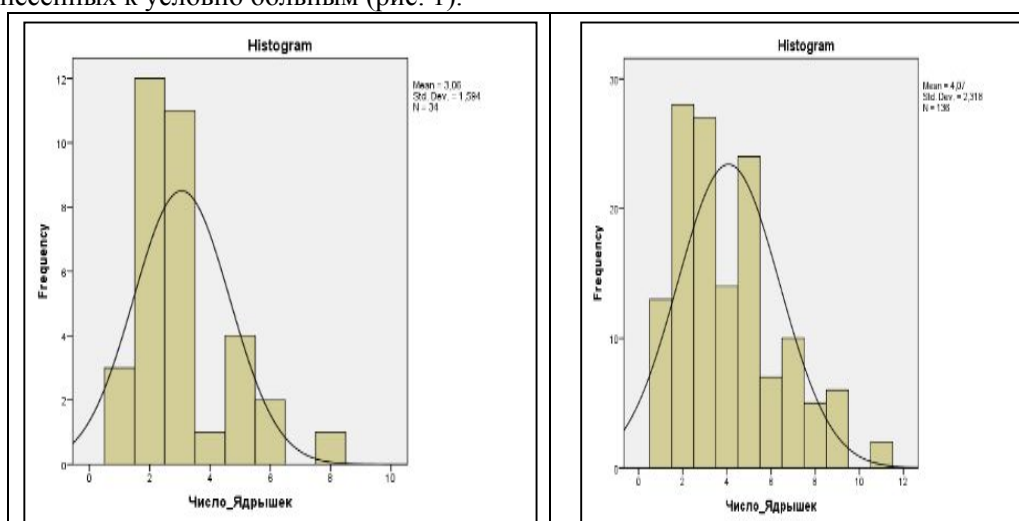
Таблица 1. Параметры ЯОР овец в исследуемых группах
Table 1. NOR parameters of sheep in the studied groups

Параметры/ <i>Options</i>	Группы / <i>Groups</i>			
	условно здоровые/ <i>Conditionally healthy</i>	контроль/ <i>Control</i>	условно больные/ <i>Conditionally sick</i>	падёж/ <i>mortality</i>
S_N , мкм / S_N , μ	$914282,6 \pm 34871,6$	$836416,7 \pm 17435,8$	$882056,80 \pm 28204,2$	$779664,34 \pm 43338,2$
D_F / D_F	$77,0 \pm 2,0$	$93,2 \pm 1,0$	$98,90 \pm 1,7$	$80,83 \pm 2,6$
F , кд/м ² / F , cd/m^2	$79,9 \pm 2,0$	$96,1 \pm 1,0$	$100,53 \pm 1,6$	$82,70 \pm 2,5$
Ag_{NOR} , шт. / Ag_{NOR} , pieces	$3,0 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,4$
D_{NOR} / D_{NOR}	$215,9 \pm 3,7$	$198,7 \pm 1,9$	$195,6 \pm 3,0$	$214,8 \pm 4,6$

После автоматической калибровки максимальное среднее значение яркости аргирофильных зон (F) было у животных 3 группы (условно больные) и составило $100,53 \pm 1,6$ кд/м², минимальные значения – у животных 2 группы ($79,9 \pm 2,0$ кд/м²).

Значения средней плотности участков, свободных от ЯОР (D_F) у животных в зависимости от изучаемой группы изменялись. Наименьшие показатели плотности были у овец 2 группы (условно здоровые) ($76,98 \pm 2,0$), в то время как наибольшие – у животных 3 группы (условно больные) ($98,90 \pm 1,7$), что превышает показатели животных 2 группы на 28,5 %, разница между группами имеет достоверное значение. В контрольной группе этот показатель составил $93,21 \pm 1,0$.

Результаты анализа гистограмм показывают, что во всех группах распределение частот $Ag_{ЯОР}$ носит ассиметричный характер, в группах животных условно здоровых (2 группа) и контрольной (1 группа) является левосторонним, аналогичная картинка наблюдается в группе животных, отнесённых к условно больным (рис. 1).



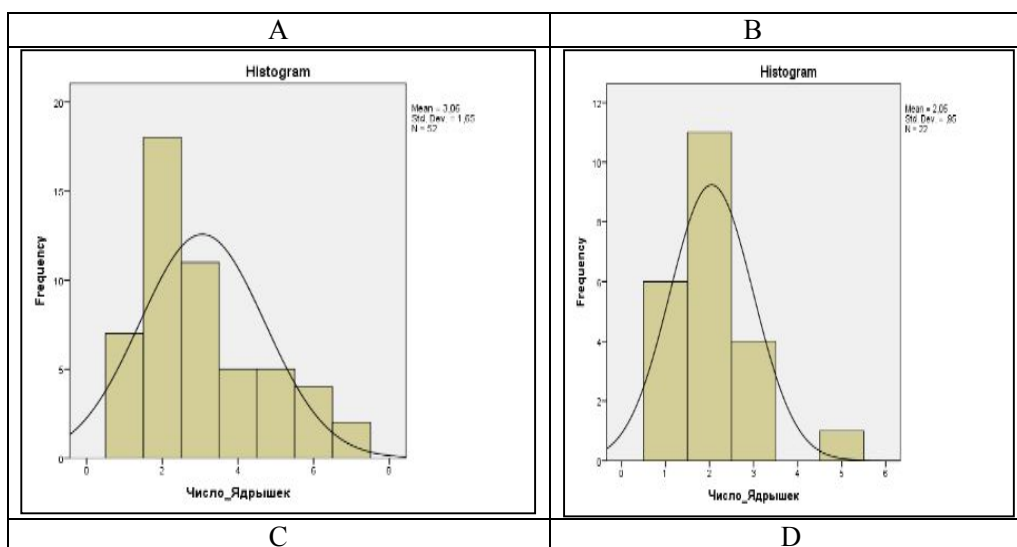


Рис.1 – Частота распределение AgЯОР у исследуемых животных (А – животные условно здоровые, В – контроль, С – животные условно больные, D – животные условно больные, павшие через 7-10 дней после отбора крови)

Figure 1 – Frequency distribution of AgNOR in the studied animals (A – conditionally healthy animals, B – control, C – conditionally sick animals, D – conditionally sick animals that died 7-10 days after blood sampling)

Число аргирофильных зон в клетке AgЯОР варьировало от 0 до 11. Среднее значение числа аргирофильных зон в зависимости от группы находилось в интервале от $2,04 \pm 0,20$ (павшие животные) до $4,07 \pm 0,20$ (контроль). Анализ частоты встречаемости ЯОР в клетках показывает, что наиболее высокая частота встречаемости наблюдалась в контрольной группе (2 шт.), она составляла 26 %, у животных 3 группы – 50 %. Максимальное количество AgЯОР – в клетках животных 3 с частотой 1,9 %.

Обсуждение полученных результатов.

Описано достаточно много исследований с использованием ядрышковых организаторов как с целью диагностики, так и прогноза различных заболеваний (Новгородова И.П. и др., 2020). Так как на данном этапе проведения нашей работы не была поставлена цель постановки диагноза, были проведены только исследования параметров ЯОР овец, отличающихся условиями содержания и общим состоянием животного. Бутеева С.К. (2014) изучала активность ЯОР у свиноматок в различных группах. Был выявлен полиморфизм интерфазных ЯОР и их число на одно ядро варьировало от 1 до 7 шт. У свиноматок крупной белой породы (возраст 1,5 года) и у свиноматок гибридов F1 крупной белой породы и ландраса (возраст 2 года) было обнаружено 5 и 6 шт. ЯОР, в процентном отношении составило 3,4; 0,1 и 11,6; 6,5 % соответственно. Также во II группе встречались животные с 7 шт. ЯОР (1,8 %). В наших исследованиях количество ЯОР в зависимости от исследуемой группы было распределено следующим образом: в контрольной группе (здоровые животные) от 2 до 11 шт., в то время как количество ЯОР у животных 2 группы (условно здоровые) колебалось от 1 до 5 шт.

Имеются также данные исследователей, направленные на изучение состояния ЯОР у лабораторных животных при иммунизации (чума и туляремия) (Бугоркова С.А. и др., 2015). При этом наблюдалось увеличение количества ЯОР у заражённых особей (3 и более клеток). В наших исследова-

дованиях в контрольной группе количество ЯОР было максимальным. У животных из группы с условно больными животными среднее значение ЯОР составило 5 шт.

Другими учёными была изучена активность ЯОР у животных, больных бронхопневмонией. В результате проведённой ими работы было предложено использовать параметры ЯОР для постановки диагноза, а также для прогнозирования течения заболевания (Калаева Е.А. и др., 2019). В медицине достаточно много проведено исследований, связанных с использованием ЯОР для диагностики онкологических заболеваний (доброкачественных, злокачественных), а также для оценки этих параметров при применении химиопрепаратов (Eroz R et al., 2013).

Заключение.

В ходе исследований выявлено, что в группе животных, отнесённых к условно здоровым, максимальными были следующие показатели по сравнению с контролем: общая площадь ядра (S_N) и средняя плотность окраски аргирофильных зон (D_{NOR}). Таким образом, можно сделать заключение, что эндогенные факторы оказывают влияние на параметры ядрышек лимфоцитов. В дальнейшем необходимо проводить исследования изучаемых нами параметров с учётом диагноза и возможности использования данного метода с целью диагностики и прогнозирования течения различных заболеваний, в том числе паразитарных, а также их динамику в период ремиссии.

Список источников

1. Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Курьлина А.Ф. Ядрышковый аппарат лимфоцитов как индикатор функциональной активности лимфоидных органов при доклинической оценке вакцин // Проблемы особо опасных инфекций. 2015. Вып. 2. С. 75-78. [Bugorkova SA, Shchukovskaya TN, Kurylina AF. Nucleolar Apparatus of Lymphocytes as an Indicator of Lymphoid Organs' Functional Activity in the Context of Pre-Clinical Vaccine Evaluation. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2015;(2):75-78. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2015-2-75-78>
2. Бутеева С.К. Влияние генофонда свиней на активность и полиморфизм интерфазных ядрышковых организаторов лимфоцитов // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2014. № 3(32). С. 62-66. [Buteeva SK. The influence of pig gene pool on the activity and polymorphism of interphase nucleolar organizers of lymphocytes. Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University). 2014;3(32):62-66. (In Russ.)].
3. Динамика показателей белкового обмена и активности ядрышкообразующих районов лимфоцитов в первый месяц жизни у телят в норме и при развитии бронхопневмонии / Е.А. Калаева, В.Н. Калаев, К.А. Ефимова, Н.Н. Каверин, А.Е. Черницкий // Генетика и разведение животных. 2019. № 1. С. 34-42. [Kalaeva E, Kalaev V, Efimova K, Kaverin N, Chernickiy A. Dynamics of protein metabolism indicators and activity of lymphocyte nucleoli activity in the first month of life in calves in normal conditions and in the progression of bronchopneumonia. Genetics and Breeding of Animals. 2019;1:34-42. (In Russ.)]. doi: 10.31043/2410-2733-2019-1-34-42
4. Кленовицкий П.М., Иолчиев Б.С., Багиров В.А. Анализ параметров, характеризующих ядрышковые организаторы в интактных лимфоцитах у помесных коз // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2019. Т. 5. № 3. С. 298-304. [Klenovicky PM, Iolchiev BS, Bagirov VA. Analysis of the parameters characterizing the nucleolar organizers in intact lymphocytes in crossbreed goats. Vestnik of the Mari State University. Chapter "Agriculture. Economics". 2019;5(3):298-304. (In Russ.)]. doi: 10.30914/2411-9687-2019-5-3-298-304
5. Новгородова И.П., Кленовицкий П.М., Иолчиев Б.С. Связь активности ЯОР с уровнем пролиферации и биосинтеза белка // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. № 3(51). С. 125-135. [Novgorodova IP, Klenovickiy PM, Iolchiev BS. Activity link of nucleolar organaizers with proliferation level and protein biosynthesis (survey). Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. 2020;3(51):125-135. (In Russ.)]. doi: 10.18286/1816-4501-2020-3-125-135

6. Новгородова И.П. Перспективы применения современных методов окрашивания ядрышкообразующих областей клеток для диагностики заболеваний у животных // Аграрная наука. 2022. Т. 360. № 6. С. 20-26. [Novgorodova IP. Prospects for the use of modern methods of staining nucleolar organizers regions of cells for the diagnosis of diseases in animals. Agrarian Science. 2022;360(6):20-26. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-360-6-20-26>
7. Badenhorst D, Stanyon R, Engstrom T, Valenzuela N. A ZZ/ZW microchromosome system in the spiny softshell turtle, *Apalone spinifera*, reveals an intriguing sex chromosome conservation in Trionychidae. Chromosome Research. 2013;21:137-147. doi: 10.1007/s10577-013-9343-2
8. Barbosa MO, da Silva RR, de Sena Correia VC, dos Santos LP, Garnero ADV, Gunski RJ. Nucleolar organizer regions in *Sittasomus griseicapillus* and *Lepidocolaptes angustirostris* (Aves, Dendrocolaptidae): evidence of a chromosome inversion. Genet Mol Biol. 2013;36(1):70-73. doi: 10.1590/S1415-47572013000100010
9. Britton-Davidian J, Cazaux B, Catalan J Chromosomal dynamics of nucleolar organizer regions (NORs) in the house mouse: micro-evolutionary insights. Heredity. 2012;108:68-74. doi: 10.1038/hdy.2011.105
10. Caudron-Herger M, Pankert T, Seiler J, Németh A, Voit R, Grummt I, Rippe K. *Alu* element-containing RNAs maintain nucleolar structure and function. The EMBO Journal. 2015;34(22): 2758-2774. doi: 10.15252/embj.201591458
11. Dobson JM. Significant advances in veterinary oncology 60 years on. Journal of Small Animal Practice. 2019;60(12):711-722. doi: 10.1111/jsap.13076
12. Embaló B, Parize HN, Rivero ERC. Evaluation of cell proliferation in cystic lesions associated with impacted third molars. Microsc Res Tech. 2018;81(11):1241-1245. doi: 10.1002/jemt.23128
13. Eroz R, Yilmaz S, Cucer N. Argyrophilic nucleolar organizing region associated protein synthesis in hair root cells of humans at different developmental stages and sex. Biotechnic & Histochemistry. 2013;88(5):267-271. <https://doi.org/10.3109/10520295.2013.769632>
14. Farley KI, Surovtseva Y, Merkel J, Baserga SJ. Determinants of mammalian nucleolar architecture. Chromosoma. 2015;124(3):323-331. doi: 10.1007/s00412-015-0507-z
15. Handa H, Kanamori H, Tanaka T, Murata K, Kobayashi F, Robinson FJ, Koh CS, Pozniak CJ, Sharpe AG, Paux E. Structural features of two major nucleolar organizer regions (NORs), *Nor-B1* and *Nor-B2* and chromosome-specific rRNA gene expression in wheat. The Plant Journal. 2018;96(6):1148-1159. doi: 10.1111/tpj.14094
16. Howell WM, Black DA. Controlled silver-staining of nucleus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia. 1980;36(8):1014-1015. doi: 10.1007/BF01953855
17. Lam YW, Trinkle-Mulcahy L. New insights into nucleolar structure and function. F1000Prime Rep. 2015;7:48. doi: 10.12703/P7-48
18. Literman R, Badenhorst D, Valenzuela N. qPCR-based molecular sexing by copy number variation in rRNA genes and its utility for sex identification in soft-shell turtles. Methods in Ecology and Evolution. 2014;5(9):872-880. doi: 10.1111/2041-210X.12228
19. Mangan H, Gailín MÓ and McStay B. Integrating the genomic architecture of human nucleolar organizer regions with the biophysical properties of nucleoli. The FEBS Journal. 2017;284(23):3977-3985. doi: 10.1111/febs.14108
20. Montiel EE, Badenhorst D, Lee LS, Literman R, Trifonov V, Valenzuela N. Cytogenetic insights into the evolution of chromosomes and sex determination reveal striking homology of turtle sex chromosomes to amphibian autosomes. Cytogenetic and Genome Research. 2016;148(4):292-304. doi: 10.1159/000447478
21. Pederson T. The nucleolus. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011;3:a000638. doi: 10.1101/cshperspect.a000638
22. Prieto JL, McStay B. Pseudo-NORs: A novel model for studying nucleoli. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research. 2008;1783(11):2116-2123. doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.004

23. Villegas-Mercado CE, Agredano-Moreno LT, Bermúdez M, Segura-Valdez ML, Arzate H, Del Toro-Rangel EF, Jiménez-García LF. Cementum protein 1 transfection does not lead to ultrastructural changes in nucleolar organization of human gingival fibroblasts. *J Periodont Res.* 2018;53(4):636-642. <https://doi.org/10.1111/jre.12553>

References

1. Bugorkova SA, Shchukovskaya TN, Kurylina AF. The nucleolar apparatus of lymphocytes as an indicator of the functional activity of lymphoid organs in the preclinical evaluation of vaccines. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2015;(2):75-78. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2015-2-75-78>
2. Buteeva SK. Influence of the gene pool of pigs on the activity and polymorphism of interphase nucleolar organizers of lymphocytes. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University).* 2014;3(32):62-66.
3. Kalaeva E, Kalaev V, Efimova K, Kaverin N, Chernickiy A. Dynamics of protein metabolism indicators and activity of lymphocyte nucleoli activity in the first month of life in calves in normal conditions and in the progression of bronchopneumonia. *Genetics and Breeding of Animals.* 2019;1:34-42. doi: 10.31043/2410-2733-2019-1-34-42.
4. Klenovicky PM, Iolchiev BS, Bagirov VA. Analysis of the parameters characterizing the nucleolar organizers in intact lymphocytes in crossbred goats. *Bulletin of the Mari State University. Series "Agricultural sciences. Economic Sciences. Economics".* 2019;5(3):298-304. doi: 10.30914/2411-9687-2019-5-3-298-304
5. Novgorodova IP, Klenovickiy PM, Iolchiev BS. Activity link of nucleolar organaizers with proliferation level and protein biosynthesis (survey). *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy.* 2020;3(51):125-135. doi: 10.18286/1816-4501-2020-3-125-135
6. Novgorodova IP. Prospects for the use of modern methods of staining nucleolar organizers regions of cells for the diagnosis of diseases in animals. *Agrarian Science.* 2022;360(6):20-26. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-360-6-20-26>
7. Badenhorst D, Stanyon R, Engstrom T, Valenzuela N. A ZZ/ZW microchromosome system in the spiny softshell turtle, *Apalone spinifera*, reveals an intriguing sex chromosome conservation in Trionychidae. *Chromosome Research.* 2013;21:137-147. doi: 10.1007/s10577-013-9343-2
8. Barbosa MO, da Silva RR, de Sena Correia VC, dos Santos LP, Garnero ADV, Gunski RJ. Nucleolar organizer regions in *Sittasomus griseicapillus* and *Lepidocolaptes angustirostris* (Aves, Dendrocolaptidae): evidence of a chromosome inversion. *Genet Mol Biol.* 2013;36(1):70-73. doi: 10.1590/S1415-47572013000100010
9. Britton-Davidian J, Cazaux B, Catalan J Chromosomal dynamics of nucleolar organizer regions (NORs) in the house mouse: micro-evolutionary insights. *Heredity.* 2012;108:68-74. doi: 10.1038/hdy.2011.105
10. Caudron-Herger M, Pankert T, Seiler J, Németh A, Voit R, Grummt I, Rippe K. *Alu* element-containing RNAs maintain nucleolar structure and function. *The EMBO Journal.* 2015;34(22): 2758-2774. doi: 10.15252/embj.201591458
11. Dobson JM. Significant advances in veterinary oncology 60 years on. *Journal of Small Animal Practice.* 2019;60(12):711-722. doi: 10.1111/jsap.13076
12. Embaló B, Parize HN, Rivero ERC. Evaluation of cell proliferation in cystic lesions associated with impacted third molars. *Microsc Res Tech.* 2018;81(11):1241-1245. doi: 10.1002/jemt.23128
13. Eroz R, Yilmaz S, Cucer N. Argyrophilic nucleolar organizing region associated protein synthesis in hair root cells of humans at different developmental stages and sex. *Biotechnic & Histochemistry.* 2013;88(5):267-271. <https://doi.org/10.3109/10520295.2013.769632>
14. Farley KI, Surovtseva Y, Merkel J, Baserga SJ. Determinants of mammalian nucleolar architecture. *Chromosoma.* 2015;124(3):323-331. doi: 10.1007/s00412-015-0507-z
15. Handa H, Kanamori H, Tanaka T, Murata K, Kobayashi F, Robinson FJ, Koh CS, Pozniak CJ, Sharpe AG, Paux E. Structural features of two major nucleolar organizer regions (NORs), *Nor-B1* and *Nor-B2* and chromosome-specific rRNA gene expression in wheat. *The Plant Journal.* 2018;96(6):1148-1159. doi: 10.1111/tpj.14094

16. Howell WM, Black DA. Controlled silver-staining of nucleus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*. 1980;36(8):1014-1015. doi: 10.1007/BF01953855
17. Lam YW, Trinkle-Mulcahy L. New insights into nucleolar structure and function. *F1000Prime Rep*. 2015;7:48. doi: 10.12703/P7-48
18. Literman R, Badenhorst D, Valenzuela N. qPCR-based molecular sexing by copy number variation in rRNA genes and its utility for sex identification in soft-shell turtles. *Methods in Ecology and Evolution*. 2014;5(9):872-880. doi: 10.1111/2041-210X.12228
19. Mangan H, Gailín MÓ and McStay B. Integrating the genomic architecture of human nucleolar organizer regions with the biophysical properties of nucleoli. *The FEBS Journal*. 2017;284(23):3977-3985. doi: 10.1111/febs.14108
20. Montiel EE, Badenhorst D, Lee LS, Literman R, Trifonov V, Valenzuela N. Cytogenetic insights into the evolution of chromosomes and sex determination reveal striking homology of turtle sex chromosomes to amphibian autosomes. *Cytogenetic and Genome Research*. 2016;148(4):292-304. doi: 10.1159/000447478
21. Pederson T. The nucleolus. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3:a000638. doi: 10.1101/cshperspect.a000638
- Prieto JL, McStay B. Pseudo-NORs: A novel model for studying nucleoli. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2008;1783(11):2116-2123. doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.004
23. Villegas-Mercado CE, Agredano-Moreno LT, Bermúdez M, Segura-Valdez ML, Arzate H, Del Toro-Rangel EF, Jiménez-García LF. Cementum protein 1 transfection does not lead to ultrastructural changes in nucleolar organization of human gingival fibroblasts. *J Periodont Res*. 2018;53(4):636-642. <https://doi.org/10.1111/jre.12553>

Информация об авторах:

Инна Петровна Новгородова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии, Федеральный исследовательский центр животноводства им. Л.К. Эрнста - ВИЖ им. Академика Л.К. Эрнста, 142132, Московская область, г.о. Подольск, п. Дубровицы д. 60, тел.: 8(916)822-76-96.

Байлар Садратдин оглы Иолчиев, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии, Федеральный исследовательский центр животноводства им. Л.К. Эрнста - ВИЖ им. Академика Л.К. Эрнста, 142132, Московская область, г.о. Подольск, п. Дубровицы д. 60.

Юрий Александрович Прытков, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии, Федеральный исследовательский центр животноводства им. Л.К. Эрнста - ВИЖ им. Академика Л.К. Эрнста, 142132, Московская область, г.о. Подольск, п. Дубровицы д. 60.

Information about the authors:

Inna P Novgorodova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cell Engineering, Federal Research Centre for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132, Dubrovitsy 60, tel.: 8(916)822-76-96.

Bailar S Iolchiev, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher of Cell Engineering, Federal Research Centre for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Podolsk Municipal District, 142132, Dubrovitsy 60, Moscow Region.

Yuri A Prytkov, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Laboratory of Cell Engineering, Federal Research Centre for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Podolsk Municipal District, 142132, Dubrovitsy 60, Moscow Region.

Статья поступила в редакцию 31.05.2023; одобрена после рецензирования 24.08.2023; принята к публикации 11.09.2023.

The article was submitted 31.05.2023; approved after reviewing 24.08.2023; accepted for publication 11.09.2023.