

АНАЛИЗ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ АРГИРОФИЛЬНЫХ ЗОН В ПОПУЛЯЦИЯХ ИНТАКТНЫХ ЛИМФОЦИТОВ У ГИБРИДОВ ДОМАШНЕЙ ОВЦЫ И АРХАРА

Кленовицкий Павел Михайлович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник

Иолчиев Байлар Садраддинович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник

Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста

142132, Московская область, г. о. Подольск, п. Дубровицы, дом 60; E-mail: klenpm@mail.ru

Ключевые слова: аргирофильные структуры, архар, гибриды, овцы, лимфоциты, микрофотометрия, ядрышковые организаторы, ядро.

Цель настоящего исследования - определение связей между полученными на основе компьютерного анализа характеристиками AgNOR в популяциях интактных лимфоцитов у гибридных овец разных генотипов и выбор параметров для функциональной оценки ядрышек. Исследования проводили на животных с физиологического двора ФИЦ ВИЖ им. академика Л. К. Эрнста. Состояние AgNOR изучали в лимфоцитах периферической крови у гибридных овец трех генотипов гибриды: чистопородных романовских овец F_1 с архаром (группа 1), гибриды, несущие 3/4 крови романовских овец и 1/4 крови архара (группа 2), и гибриды, имевшие 7/8 крови домашней овцы и 1/8 крови архара (группа 3). Учитывали число аргирофильных зон (AgNOR), их общую площадь (ΣS_{NOR}), среднюю плотность их окраски (D_{NOR}), средние плотности окраски ядра (D_N) и его участка, свободного от AgNOR (D_p). Параметры, характеризующие аргирофильные зоны и коэффициенты корреляции между ними, рассчитывали по выборкам лимфоцитов, полученным от гибридов разного генотипа, и по их обобщенной популяции. Исследование препаратов проводили на оборудовании фирмы Альтами (Россия, С.-П.). Обработку и анализ изображений проводили средствами программы Image Score 1.0 (СМА, Россия, М.). Наиболее тесные корреляции существуют между показателями плотности окраски, что свидетельствует о равной возможности использования их в оценке состояния аргирофильных зон. Установлено, что коэффициенты корреляции между различными сравниваемыми признаками принимают значения от близких к 0 до 1,0. Число AgNOR в клетке, их суммарная площадь и средняя плотность являются признаками, дополняющими друг друга, поскольку слабо коррелирует между собой. Для оценки состояния ядрышкообразующей системы целесообразно учитывать взаимодополняющие друг друга признаки: число AgNOR, их суммарную площадь, а также средние оптические плотности AgNOR (D_{NOR}). Тесно коррелирующая со значениями D_{NOR} величина средней плотности ядра может служить альтернативой этому показателю.

Работа выполнена при поддержке РФФИ: проект № 20-016-00116А и Минобрнауки России в рамках государственного задания шифр темы 0445-2021-0005

Введение

Ядрышко - органелла, связанная с несущими гены рибосомных РНК (рРНК) участками хромосом - ядрышковыми организаторами (ЯОР), активность и структура которой изменяется под действием ряда эндо- и экзогенных факторов. Активизацию транскрипции локализованных в ЯОР рибосомных генов и ее процесс обеспечивает группа кислых non-histone proteins (негистоновых) ядерных белков: C23-protein, B23-protein, UBF (upstream binding factor) РНК-полимераза I [1, 2], которые относятся к аргирофильным белкам и специфически окрашиваются азотнокислым серебром. Около 70 % ядерных белков, которые присутствуют в ядрах независимо от цикла клетки, приходится на долю нуклеофозмина

(B23) и нуклеолина (C23). Эти белки участвуют в регуляции РНК-полимеразы, транскрипции, репликации и рекомбинации ДНК и процессинге рРНК. Кроме того, они влияют на структуру хроматина, а также участвуют в процессах митоза и апоптоза. [1, 3]. Отмечено, что интенсивность окрашивания ядрышек азотнокислым серебром на 75 % зависит от содержания этих двух аргирофильных белков [4]. Высокий уровень экспрессии нуклеофозмина (B23) и нуклеолина (C23) наблюдается при многих пролиферативных заболеваниях [1]. Для оценки активности рибосомных генов можно использовать содержания этих белков в ядрышке [5, 6].

Окраска клеток с помощью нитрата серебра ($AgNO_3$) позволяет провести качественную

и количественную оценку ядрышкообразующих районов хромосом (ЯОР) и ядрышек [7]. Изменение параметров ядрышкового аппарата связано с особенностями функционирования клетки в онтогенезе [7, 8], при регенерации [9] и патологических процессах: эндокринных заболеваний [10] и онкологии [11].

Показано, что активность ядрышкообразующего аппарата усиливается при вакцинации [12] и применении биологически активных веществ [13]. Активность ядрышковых организаторов влияет и на уровень экспрессии качественных признаков [14, 15]. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что параметры ядрышка могут быть использованы для оценки уровня пролиферации и биосинтеза белка при оценке состояния организма.

Целью данного исследования являлось изучение сопряженности отдельных параметров ядрышкового аппарата у гибридов архара с домашней овцой. Впервые изучена корреляционная взаимосвязь различных параметров, характеризующих состояние аргирофильных зон у гибридов разного генотипа, полученных в результате межвидовой гибридизации архара (*Ovis ammon*) с домашней овцой (*Ovis aries*).

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в лаборатории клеточной инженерии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста». Материалом для изучения состояния ядрышкового аппарата являлась кровь, полученная из яремной вены от гибридов разных поколений, полученных на физиологическом дворе Федерального исследовательского центра ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста (табл. 1). Было исследовано три группы животных:

- гибриды F_1 ($\frac{1}{2}$ *Ovis aries* $\frac{1}{2}$ *Ovis ammon*);
- гибриды F_2 ($\frac{3}{4}$ *Ovis aries* $\frac{1}{4}$ *Ovis ammon*);
- гибриды F_3 ($\frac{7}{8}$ *Ovis aries* $\frac{1}{8}$ *Ovis ammon*).

Таблица 1

Характеристика исследуемого поголовья

Группа	Генотип животных	Исследовано	
		Голов	Клеток
1	$\frac{1}{2}$ <i>Ovis aries</i> $\frac{1}{2}$ <i>Ovis ammon</i>	4	60
2	$\frac{3}{4}$ <i>Ovis aries</i> $\frac{1}{4}$ <i>Ovis ammon</i>	5	76
3	$\frac{7}{8}$ <i>Ovis aries</i> $\frac{1}{8}$ <i>Ovis ammon</i>	5	65
Всего		14	201

Мазки крови фиксировали в метиловом спирте и окрашивали 50% раствором нитрата

серебра в соответствии с протоколом окрашивания по методу Хавелла-Блейка [7]. Микроскопию полученных препаратов проводили с помощью микроскопа Альтами БИО7, оснащенного цифровой камерой УHCCD03100KPA. Полученный материал исследовали под масляной иммерсией (увеличение 100^{*}). Результаты исследования документировали с помощью цифровой видеокамеры УHCCD03100KPA и программы Image Scope 1.0 (Системы для микроскопии и анализа, Москва). Цифровую обработку и анализ изображений, полученных с помощью программы Image Scope 1.0., проводили по разработанному нами алгоритму [16]

Для характеристики ядрышкового аппарата использовали следующие параметры, определяемые в каждой клетке:

\emptyset AgNOR - число аргирофильных зон в клетке;

$\emptyset \Sigma S_{NOR}$ - общая площадь ядрышек, выраженная в логических единицах,

\emptyset Интенсивность окраски ядра и его различных областей в логических единицах.

Интенсивность (плотность) окраски определяли по формуле:

$$D = 254 - F, \text{ где}$$

D — плотность окраски;

254- число логических единиц, соответствующее белому цвету;

F - среднее значение яркости объекта в логических единицах.

Определяли среднюю плотность окраски аргирофильных зон (D_{NOR}), а также средние плотности окраски ядра (D_N) и его участков, свободных от ЯОР (D_F). Для характеристики аргирофильных зон клеток также определяли величину экстинкции по формуле:

$$EXT_N = D_N - D_F, \text{ где}$$

EXT_N - экстинкция аргирофильных зон;

D_N - средние плотности окраски ядра;

D_F - средние плотности окраски участков, свободных от ЯОР

В качестве интегральной оценки рассчитывали оптический эквивалент ЯОР

$$OE_{NOR} = D_{NOR} \times \Sigma S_{NOR}, \text{ где}$$

OE_{NOR} - оптический эквивалент ЯОР;

D_{NOR} - плотность окраски аргирофильных зон;

ΣS_{NOR} -плотность окраски аргирофильных зон

Для определения величины D_{NOR} использовали формулу:

$$D_{NOR} = (S_N \cdot D_N - S_F \cdot D_F) / \Sigma S_{NOR}, \text{ где}$$

S_N -площадь ядра;

Таблица 2

Корреляционная взаимосвязь параметров аргирофильных зон ЯОР гибридов разного генотипа

Показатель	Группа	D_N	D_F	EXT_N	AgNOR	ΣS_{NOR}	D_{NOR}	OE_{NOR}	OE_{OTH}
D_N	1	-	0,99***	0,03	-0,21	0,03	0,70***	0,16	0,19
	2	-	0,99***	0,10	-0,26*	-0,05	0,78***	0,11	0,29*
	3	-	1,00***	0,03	-0,13	-0,14	0,67***	0,02	0,07
	Общий	-	0,99***	0,15	-0,16*	-0,01	0,68***	0,07	0,25**
D_F	1	-	-	-0,08	-0,22	-0,06	0,67***	0,06	0,08
	2	-	-	-0,01	-0,30**	-0,15	0,76***	0,02	0,19
	3	-	-	-0,07	-0,14	-0,23	0,65***	-0,06	-0,01
	Общий	-	-	0,04	-0,19*	-0,09	0,66***	0,07	0,15*
EXT_N	1	-	-	-	0,15	0,77***	0,20	0,83***	0,94***
	2	-	-	-	0,36***	0,84***	0,23*	0,88***	0,92***
	3	-	-	-	0,06	0,87***	0,12	0,85***	0,79***
	Общий	-	-	-	0,26***	0,81***	0,27***	0,83***	0,89***
AgNOR	1	-	-	-	-	0,21	-0,16	0,17	0,13
	2	-	-	-	-	0,43***	-0,16	0,39***	0,26*
	3	-	-	-	-	0,27*	0,22	0,33*	0,22
	Общий	-	-	-	-	0,33***	0,03	0,32***	0,23**
ΣS_{NOR}	1	-	-	-	-	-	-0,09	0,98***	0,87***
	2	-	-	-	-	-	-0,02	0,97***	0,82***
	3	-	-	-	-	-	0,12	0,97***	0,84***
	Все	-	-	-	-	-	0,07	0,95***	0,84***
D_{NOR}	1	-	-	-	-	-	-	0,08	0,12
	2	-	-	-	-	-	-	0,19	0,20
	3	-	-	-	-	-	-	0,33*	0,18
	Общий	-	-	-	-	-	-	0,33***	0,25**
OE_{NOR}	1	-	-	-	-	-	-	-	0,90***
	2	-	-	-	-	-	-	-	0,85***
	3	-	-	-	-	-	-	-	0,87***
	Общий	-	-	-	-	-	-	-	0,87***

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ D_N - средняя плотность ядра; S_F - площадь свободной от ядрышек зоны ядра; D_F - средняя плотность свободной от ядрышек зоны;

Подобный подход позволяет ускорить процесс анализа аргирофильных структур, исключив необходимость измерения параметров каждого ядрышка, одновременно снизив погрешность измерения ΣS_{NOR} и D_{NOR} . Помимо средних величин анализировали корреляции между изучаемыми признаками.

Параметры, характеризующие зоны AgNOR и корреляции между ними, определяли в выборках лимфоцитов, полученных от гибридов разного генотипа, и по их обобщенной популяции. Цифровой материал подвергали статистической обработке по стандартным программам вариационной статистики согласно пакету программ Microsoft Excel-2007 с определением

критерия достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований

Величины коэффициентов корреляции между параметрами аргирофильных зон у гибридных овец приведены в таблице 2.

Из приведенных в таблице 2 данных видно, что коэффициенты корреляции между различными сравниваемыми признаками принимают значения от близких к 0 до 1,0. Наиболее тесные связи в исследованных группах выявлены между всеми показателями плотности окраски. Корреляция между средней плотностью окраски ядер (D_N) и плотностью окраски их областей, свободных от аргирофильных зон (D_F), в среднем по выборке и в группах гибридов разной кровности по архару была близка к 1,0 ($p < 0,001$).

Коэффициент корреляции между средними плотностями окраски ядер (D_N) и аргирофильных зон (D_{NOR}) в среднем по выборке равен

0,68 ($p < 0,001$), в группах гибридов он колебался от 0,67 ($p < 0,001$) до 0,78 ($p < 0,001$). Для средних плотностей аргирофильных зон (D_{NOR}) и свободных от них областей (D_F) коэффициент корреляции в среднем по выборке равен 0,66 ($p < 0,001$), а по группам он колебался от 0,65 ($p < 0,001$) до 0,76 ($p < 0,001$). Оказалось, что средняя плотность окраски ядра и его анализируемых областей не зависит от общей площади аргирофильных зон. Сходный характер корреляций был отмечен нами ранее и у коз [17].

Подобная зависимость между анализируемыми показателями обусловлена тем, что D_N по сути, является функцией от D_F и D_{NOR} . Этим же объясняются и высокие положительные коэффициенты корреляции D_N и D_F с D_{NOR} ($p < 0,001$). Близкой к 1,0 корреляцией между D_F и D_N объясняется практически полное отсутствие связи этих показателей с EXT_N .

Высокий коэффициент корреляции характеризует связь величин OE_{NOR} и EXT_N в среднем он равен 0,83 ($p < 0,001$), с колебаниями от 0,83 ($p < 0,001$) до 0,83 ($p < 0,001$). Величина EXT_N также имеет высокий коэффициент корреляции с общей площадью аргирофильных зон. В среднем по выборке $r = 0,81$ ($p < 0,001$), с колебаниями от 0,77 ($p < 0,001$) до 0,87 ($p < 0,001$). Общая площадь ядрышковых организаторов (ΣS_{NOR}) имеет высокую корреляцию и с OE_{NOR} . В среднем по выборке и по группам она находилась практически на одном уровне: от 0,95 до 0,98 ($p < 0,001$).

Число AgNOR в клетке слабо коррелировало с их суммарной площадью. В среднем коэффициент корреляции между этими признаками был равен 0,33 ($p < 0,001$) и колебался по группам гибридов от 0,21 до 0,43. Между EXT_N и AgNOR корреляция в среднем равна 0,26 ($p < 0,001$) с колебаниями по группам от 0,06 до 0,36. Средний коэффициент корреляции между AgNOR и OE_{NOR} составил 0,32 ($p < 0,001$) и колебался по группам от 0,17 до 0,39. Достоверная корреляция между числом аргирофильных зон и плотностью окраски ядер и их различных зон отсутствовала.

Обсуждение

Установлено, что число AgNOR в клетке, их суммарная площадь и средняя плотность слабо коррелирует между собой, следовательно, могут рассматриваться как признаки, дополняющие друг друга. Для оценки состояния ядрышкообразующей системы целесообразно учитывать взаимодополняющие друг друга признаки: число AgNOR, их суммарную площадь, а также средние оптические плотности AgNOR (D_{NOR}).

Заключение

Таким образом, результаты исследования показывает, что существуют корреляции между показателями плотности окраски и параметрами аргирофильных зон ЯОР что дает возможности использования их в оценке состояния этих зон.

Библиографический список

1. Функциональное значение белка ядрышка SURF6 человека —ключевого белка одноименного семейства эукариот / М. Ю. Кордюкова, М. А. Ползиков, К. В. Шишова, О. В. Зацепина // Доклады Академии Наук. — 2014. - Т. 455, № 4. - С. 1–3. - DOI:10.7868/S0869565214100211
2. Pelletier, J. Ribosome biogenesis in cancer: New players and therapeutic avenues / J. Pelletier, G. Thomas, S. Volarevic // Nat. Rev. Cancer. — 2018. -18. — P. 51–63. - DOI: 10.1038/nrc.2017.104
3. Coexisting Liquid Phases Underlie Nucleolar Subcompartments / M. Feric, N. Vaidya, T. S. Harmon, D. M. Mitrea, L. Zhu, T. M. Richardson, R. W. Kriwacki, R. V. Pappu, C. P. Brangwynne // Cell. — 2016. -165. — P.1686–1697. - DOI: 10.1016/j.cell.2016.04.047.
4. Функциональные особенности ядрышкового организатора в растущих ооцитах неполовозрелых самок птиц / А. Г. Давидьян, Е. И. Кошель, О. Б. Лаврова, А. Г. Демин, С. А. Галкина, А. Ф. Сайфитдинова, Е. Р. Гагинская // Онтогенез. - 2017. - Т. 48, № 3. - С. 263–269. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_29404363_54891183.pdf
5. Tiku, V. Nucleolar Function in Lifespan Regulation / V. Tiku, A. Antebi // Trends Cell Biol. — 2018. - 28. — P. 662–672. - DOI: 10.1016/j.tcb.2018.03.007.
6. Howell, W. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: in a one step method / W. Howell, D. Black // Experientia. — 1980. - V. 36. - P. 1014–1015.
7. Параметры ядрышковых организаторов эритроцитов уток в постнатальном онтогенезе / В. И. Трухачев, А. Н. Квочко, А. В. Малюкин, А. Ю. Криворучко, И. И. Некрасова, В. С. Скрипкин, Ф. А. Мещеряков // Цитология. - 2016. - Т. 58, № 3. - С. 229–233. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_25676646_83866250.pdf
8. Изменение параметров ядрышковых организаторов в клетках почечных канальцев после частичной нефрэктомии при использовании для ушивания операционной раны нитей кетгута / А. И. Сидельников, А. Н. Квочко, А. Ю.

Криворучко, Е. В. Шаламова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2016. - № 5(139). - С. 143-148.

9. Боташева, В. С. Характер морфологических изменений при эндемическом зобе / В. С. Боташева, А. А. Калоева, Л. Д. Эркенова // Фундаментальные исследования. - 2015. - № 1-1. - С. 36-40. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_23033674_16949899.pdf

10. Взаимосвязь аргирофильных белков ядрышкообразующих районов в mib-1 позитивных клетках с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при немелкоклеточном раке легкого / Д. С. Кобяков, А. М. Авдалян, А. Ф. Лазарев, Е. Л. Лушникова, Л. М. Непомнящих // Фундаментальные исследования. - 2015. - № 1. - С. 1600-1604.

11. Бугоркова, С. А. Ядрышковый аппарат лимфоцитов как индикатор функциональной активности лимфоидных органов при доклинической оценке вакцин / С. А. Бугоркова, Т. Н. Щуковская, А. Ф. Курылина // Проблемы особо опасных инфекций. - 2015. - Вып. 2. - С. 75-78. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_23699694_93296639.pdf

12. Влияние новых средств из сырья пантовых оленей на биосинтетические процессы в клетках скелетной мускулатуры крыс в условиях длительной физической нагрузки / А. Ю. Жариков, В. Г. Луницын, В. В. Лампатов, Ю. Г. Мотин, О. С. Талалаева, Д. В. Елисеев, Г. В. Павляшик // Биомедицина. - 2016. - №

1. - С. 90-94. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_26382946_45202615.pdf

13. Копытко, А. С. Оценка белково-синтетической функции у кур кросса COBB 500 и ABER ACRESS PLUS для прогнозирования их продуктивности / А. С. Копытко, А. Н. Квочко // Вестник АПК Ставрополя. - 2014. - № 4(16). - С. 107-110.

14. International Wheat Genome Sequencing Consortium, Wu J, Nasuda S. Structural features of two major nucleolar organizer regions (NORs), Nor-B1 and Nor-B2, and chromosome-specific rRNA gene expression in wheat / H. Handa, H. Kanamori, T. Tanaka, K. Murata, F. Kobayashi, S. J. Robinson, C. S. Koh, C. J. Pozniak, A. G. Sharpe, E. Paux // Plant J. - 2018. - 96(6). - P. 1148-1159. - DOI: 10.1111/tj.14094

15. Оценка ядрышек в интактных лимфоцитах овец с использованием компьютерного анализа изображений / П. М. Кленовицкий, Н. Т. Онкорова, Б. С. Иолчиев, В. А. Багиров, Л. Г. Моисейкина // Теоретические и прикладные проблемы АПК. - 2018. - № 3. - С. 42-46. - DOI: 10.32935/2221-7312-2018-36-3

16. Кленовицкий, П. М. Анализ параметров, характеризующих ядрышковые организаторы в интактных лимфоцитах у помесных коз / П. М. Кленовицкий, Б. С. Иолчиев, В. А. Багиров // Вестник Марийского государственного университета. Серия Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. - 2019. - Т. 5, № 3. - С. 298-304. - DOI: 10.30914/2411-9687-2019-5-3-298-304

ANALYSIS OF RELATIONS BETWEEN CHARACTERISTICS OF ARGYROPHILIC ZONES IN POPULATIONS OF INTACT LYMPHOCYTES OF DOMESTIC AND WILD SHEEP (OVIS AMMON) HYBRIDS

Klenovitskiy P.M., Iolchiev B.S.
Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member
L. K. Ernst - L. K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry,
Podolsk Municipal District, Moscow Region, Russia
142132, Moscow region, Podolsk city district, Dubrovitsy village, house 60
e-mail: *klenpm@mail.ru

Keywords: argyrophilic structures, argali (*Ovis ammon*), hybrids, sheep, lymphocytes, microphotometry, nucleolar organizers, nucleus.

The purpose of this study is to determine the relations between AgNOR characteristics, obtained by means of computer analysis, in populations of intact lymphocytes of hybrid sheep of different genotypes and to select parameters for functional assessment of nucleoli. The AgNOR state was studied in peripheral blood lymphocytes of hybrid sheep of three genotypes: purebred F1 Romanov sheep with argali (group 1), hybrids carrying 3/4 of Romanov sheep blood and 1/4 of argali blood (group 2), and hybrids with 7/8 blood of domestic sheep and 1/8 of argali blood (group 3). The number of argyrophilic zones (AgNOR), their total area (ΣS_{NOR}), their average color density (D_{NOR}), and average color density of the nucleus (D_N) and its AgNOR-free area (D_p) were taken into account. Parameters which characterize argyrophilic zones and the correlation coefficients between them were calculated in the samples of lymphocytes obtained from hybrids of different genotypes and from their generalized population. The study of the preparations was carried out on the equipment of the Altami company (Russia, S.-P.). Image processing and analysis were performed using the Image Scope 1.0 software (SMA, Russia, M.). The closest correlations exist between parameters of color density, which confirms an equal possibility of using them in assessing the state of argyrophilic zones. It was found that the correlation coefficients between different compared features have values from close to 0 to 1.0. The number of AgNORs in a cell, their total area and average density are characteristics that complement each other, since they are weakly correlated with each other. To assess the state of the nucleus-forming system, it is advisable to take into account mutually complementary features: the number of AgNORs, their total area, as well as the average optical densities of AgNOR (D_{NOR}). The average nucleus density, closely correlated with D_{NOR} values, can serve as an alternative to this parameter.

Bibliography:

1. Functional value of the human SURF6nucleolus protein, a key protein of the of the same name eukaryotic family / M. Yu. Kordyukova, M. A. Polzikov, K.

- V. Shishova, O. V. Zatsepina // *Reports of the Academy of Sciences*. - 2014. - V. 455, № 4. - P. 1-3. - DOI: 10.7868/S0869565214100211
2. Pelletier, J. Ribosome biogenesis in cancer: New players and therapeutic avenues / J. Pelletier, G. Thomas, S. Volarevic // *Nat. Rev. Cancer*. - 2018. - 18. - P. 51-63. - DOI: 10.1038/nrc.2017.104
3. Coexisting Liquid Phases Underlie Nucleolar Subcompartments / M. Feric, N. Vaidya, T. S. Harmon, D. M. Mitrea, L. Zhu, T. M. Richardson, R. W. Kriwacki, R. V. Pappu, C. P. Brangwynne // *Cell*. - 2016. - 165. - P. 1686-1697. - DOI: 10.1016/j.cell.2016.04.047.
4. Functional features of nucleolar organizer in growing oocytes of immature female birds / A. G. Davidyan, E. I. Koshel, O. B. Lavrova, A. G. Demin, S. A. Galkina, A. F. Sayfitdinova, E. R. Gaginskaya // *Ontogenesis*. - 2017. - V. 48, № 3. - P. 263-269. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_29404363_54891183.pdf
5. Tiku, V. Nucleolar Function in Lifespan Regulation / V. Tiku, A. Antebi // *Trends Cell Biol.* - 2018. - 28. - P. 662-672. - DOI: 10.1016/j.tcb.2018.03.007.
6. Howell, W. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: in a one step method / W. Howell, D. Black // *Experientia*. - 1980. - V. 36. - P. 1014-1015.
7. Parameters of nucleolar organizers of duck erythrocytes in postnatal ontogenesis / V. I. Trukhachev, A. N. Kvochko, A. V. Malyukin, A. Yu. Krivoruchko, I. I. Nekrasova, V. S. Skripkin, F. A. Meshcheryakov // *Cytology*. - 2016. - V. 58, № 3. - P. 229-233. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_25676646_83866250.pdf
8. Changes of parameters of nucleolar organizers in cells of the renal tubules after partial nephrectomy when using catgut threads for suturing an operating wound / A. I. Sidelnikov, A. N. Kvochko, A. Yu. Krivoruchko, E. V. Shalamova // *Vestnik of the Altai State agrarian university*. - 2016. - № 5 (139). - P. 143-148.
9. Botasheva, V. S. The nature of morphological changes in case of hypothyrosis / V. S. Botasheva, A. A. Kaloeva, L. D. Erkenova // *Fundamental research*. - 2015. - № 1-1. - P. 36-40. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_23033674_16949899.pdf
10. Interrelation of argyrophilic proteins of nucleolar-forming regions in mib-1 positive cells with clinical and morphological parameters and survival in case of non-small cell lung cancer / D. S. Kobaykov, A. M. Avdalyan, A. F. Lazarev, E. L. Lushnikova, L. M. Nepomnyashchikh // *Fundamental research*. - 2015. - № 1. - P. 1600-1604.
11. Bugorkova, S.A. The nucleolar apparatus of lymphocytes as a parameter of functional activity of lymphoid organs for preclinical assessment of vaccines / S.A. Bugorkova, T.N. Shchukovskaya, A.F. Kurylina // *Problems of especially dangerous infections*. - 2015. - Issue. 2. - P. 75-78. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_23699694_93296639.pdf
12. The influence of new agents from raw antler deer material on biosynthetic processes in the cells of skeletal muscles of rats under conditions of prolonged physical activity / A. Yu. Zharikov, V. G. Lunitsyn, V. V. Lampatov, Yu. G. Motin, O. S. Talalaeva, D.V. Eliseev, G.V. Pavlyashikh // *Biomedicine*. - 2016. - № 1. - P. 90-94. - URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_26382946_45202615.pdf
13. Kopytko, A.S. Evaluation of protein-synthetic function of chickens of COBB 500 and ABER ACRESS PLUS crosses for predicting their productivity / A.S. Kopytko, A.N. Kvochko // *Vestnik of AIC of Stavropol*. - 2014. - № 4 (16). - P. 107-110.
14. International Wheat Genome Sequencing Consortium, Wu J, Nasuda S. Structural features of two major nucleolar organizer regions (NORs), Nor-B1 and Nor-B2, and chromosome-specific rRNA gene expression in wheat / H. Handa, H. Kanamori, T. Tanaka, K. Murata, F. Kobayashi, SJ Robinson, CS Koh, CJ Pozniak, AG Sharpe, E. Paux // *Plant J.* - 2018. - 96 (6). - P. 1148-1159. - DOI: 10.1111/tjp.14094
15. Evaluation of nucleoli in intact lymphocytes of sheep using computer analysis of images / P. M. Klenovitskiy, N. T. Onkороva, B. S. Iolchiev, V. A. Bagirov, L. G. Moiseykina // *Theoretical and applied problems of agro-industrial complex ...* - 2018. - № 3. - P. 42-46. - DOI: 10.32935/2221-7312-2018-36-3
16. Klenovitskiy, P.M. Analysis of parameters which characterize nucleolar organizers in intact lymphocytes of hybrid goats / P.M. Klenovitskiy, B.S. Iolchiev, V.A. Bagirov // *Vestnik of the Mari State University. Agricultural Sciences Series. Economic sciences*. - 2019. - V. 5, № 3. - P. 298-304. - DOI: 10.30914/2411-9687-2019-5-3-298-304