

Функциональные морфоденситометрические параметры хроматина ядра и цитоплазмы эритробластов и эритроцитов птиц в постэмбриональном онтогенезе

Е. А. Колесник¹✉, М. А. Дерхо², М. Б. Ребезов^{3, 4}

¹ Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва, Россия

² Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия

³ Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

⁴ Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

✉ E-mail: evgeniy251082@mail.ru

Аннотация. Цель – характеристика развития синтетической активности полихроматофильных эритробластов и эритроцитов, в частности статуса гемоглобин-синтезируемой функции клеток эритроидного ряда птиц в раннем постэмбриональном онтогенезе. **Методы.** Экспериментальная часть исследования была выполнена в условиях ООО «Чибаркульская птица» (Чибаркульский район Челябинской области, Россия). Изучалась цельная кровь кур-бройлеров Hubbard ISA F15 четырех возрастных групп ($n = 40$): I группа – 1-суточные птенцы; II – 7-суточные цыплята; III – 23-суточные бройлеры; IV – 42-суточные куры. **Научная новизна.** Цитофизиологические и эпигенетические параметры синтеза гемоглобина эритробластами и юными эритроцитами важны в выяснении регуляции функций клеток крови в норме, адаптации и при нарушениях. Критерии синтетической активности эритробластов и созревающих эритроцитов животных и человека – это оптическая плотность как показатель концентрации эухроматина и метаболической динамики цитоплазмы, а также площадь, как показатель распределения эухроматина в строме ядра и размера цитоплазмы. **Результаты.** На модельном организме бройлерных кур по результатам расчета спектральных, морфометрических и оптикометрических величин ядерного хроматина, цитоплазмы и их индексированных соотношений для полихроматофильных эритробластов и эритроцитов – был охарактеризован синтез гемоглобина в раннем постэмбриональном онтогенезе. По результатам определения геометрических ($n = 30$) и оптических ($n = 300$) параметров эухроматина, гетерохроматина ядра и цитоплазмы были рассчитаны их соотношения и индексы для полихроматофильных эритробластов, полихроматофильных эритроцитов и зрелых эритроцитов в мазках периферической крови ($n = 158$), окрашенных по Паппенгейму. Цитохимические реакции, отражающие физиолого-биохимические взаимосвязи эритробластов и эритроцитов, – это основа комплексного морфоденситометрического теста уровня активности синтеза гемоглобина клетками эритроидного ряда в раннем постнатальном онтогенезе.

Ключевые слова: эритробласты, эритроциты, эухроматин, гетерохроматин, цитоплазма, гемоглобин, морфоденситометрические параметры, эпигенетика, оптическая плотность.

Для цитирования: Колесник Е. А., Дерхо М. А., Ребезов М. Б. Функциональные морфоденситометрические параметры хроматина ядра и цитоплазмы эритробластов и эритроцитов птиц в постэмбриональном онтогенезе // Аграрный вестник Урала. 2024. Т. 24, № 01. С. 59–85. DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-01-59-85.

Дата поступления статьи: 02.06.2023, **дата рецензирования:** 10.11.2023, **дата принятия:** 20.11.2023.

Functional morpho-densitometric parameters of chromatin of the nucleus and cytoplasm of erythroblasts and red blood cells of birds in postembryonic ontogenesis

E. A. Kolesnik¹✉, M. A. Derkho², M. B. Rebezov^{3,4}

¹Russian State Agrarian University – Moscow State Agricultural Academy named after K. A. Timiryazev, Moscow, Russia

²South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia

³V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia

✉E-mail: evgeniy251082@mail.ru

Abstract. The purpose is to characterize the development of the synthetic activity of polychromatophilic erythroblasts and erythrocytes, in particular the status of the hemoglobin-synthesized function of avian erythroid cells in early postembryonic ontogenesis. **Methods.** The experimental part of the study was carried out in the conditions poultry farm of “Chebarkul’skaya ptitsa” (Chebarkul district of the Chelyabinsk region, Russia). The whole blood of *Hubbard ISA F15* broiler chickens of four age groups ($n = 40$) was studied: group I – 1-day-old chicks; II – 7-day-old chickens; III – 23-day-old broilers; IV – 42-day-old chickens. **The scientific novelty.** Functional morpho-densitometric parameters of chromatin of the nucleus and cytoplasm of erythroblasts and red blood cells of birds in postembryonic ontogenesis. Cytophysiological and epigenetic parameters of hemoglobin synthesis by erythroblasts and young erythrocytes are important in elucidating the regulation of the functions of blood cells in normal, adaptation and disorders. Criteria for the synthetic activity of erythroblasts and maturing erythrocytes of animals and humans are optical density as an indicator of the concentration of euchromatin and the metabolic dynamics of the cytoplasm, as well as area as an indicator of the distribution of euchromatin in the stroma of the nucleus and the size’s of the cytoplasm. **Results.** According to the results of calculation of spectral, morphometric and opticometric values of nuclear chromatin, cytoplasm and their indexed ratios for polychromatophilic erythroblasts and erythrocytes, hemoglobin synthesis in early postembryonic ontogenesis is characterized on a model organism of broiler chickens. According to the results of determining the geometric ($n = 30$) and optical ($n = 300$) parameters of euchromatin, heterochromatin of the nucleus and cytoplasm, their ratios and indices were calculated for polychromatophilic erythroblasts, polychromatophilic erythrocytes and mature erythrocytes in peripheral blood smears ($n = 158$) stained by Pappenheim. Cytochemical reactions reflecting the physiological and biochemical interrelations of erythroblasts and erythrocytes are the basis of a complex morpho-densitometric test of the activity level of hemoglobin synthesis by erythroid cells in early postnatal ontogenesis.

Keywords: erythroblasts, red blood cells, euchromatin, heterochromatin, cytoplasm, hemoglobin, morpho-densitometric parameters, epigenetics, optical density.

For citation: Kolesnik E. A., Derkho M. A., Rebezov M. B. Funktsional’nye morfodensitometricheskie parametry khromatina yadra i tsitoplazmy eritroblastov i eritrocitov ptits v postembrional’nom ontogeneze [Functional morpho-densitometric parameters of chromatin of the nucleus and cytoplasm of erythroblasts and red blood cells of birds in postembryonic ontogenesis] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2024. Vol. 24, No. 01. Pp. 59–85. DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-01-59-85. (In Russian.)

Date of paper submission: 02.06.2023, **date of review:** 10.11.2023, **date of acceptance:** 20.11.2023.

Постановка проблемы (Introduction)

Известны общие физиолого-биохимические и морфофункциональные закономерности строения, динамики состояния и активности фракций хроматина ядра, цитоплазмы и их генетически обусловленной синтетической активности клеток организма животных и человека [1–4], среди которых особая роль, учитывая интегрирующие функции, принадлежит клеткам крови [5–7].

За счет генетического материала, полученного из красных клеток крови кур *Gallus gallus* L., коллективами авторов были выполнены сравнительно новые общебиологические исследования стадий образования физиологически активной фракции ядерного хроматина – эухроматина [8], а также моделирование транскрипционной активности эухроматина в процессах синтеза белков в цитоплазме клеток животных и человека [1; 8–10].

В основе механизмов, обеспечивающих реализацию регуляторных функций эухроматина как физиологически активной фракции ядерного хроматина [2; 3; 9], а также трансформационного изменения эухроматина путем спирализации и компактизации хроматиновых фибрилл в неактивный гетерохроматин, и обратных процессов преобразования факультативного гетерохроматина в эухроматин [1; 8; 9; 11] осуществляются эпигенетические реакции [1; 12; 13].

Адаптивные изменения физиологической нормы реакции, то есть клеточных реакций как иммунной, так и систем обмена веществ, репаративных процессов метаболической модуляции, начинаются на субклеточном уровне, с функциональной реорганизации хроматина [11; 14; 15], то есть с эпигенетических изменений, проявляющихся в конденсации, а также форме и пространственной локализации генетического материала в ядре [13; 16; 17].

При рассмотрении регуляции синтетических функций может быть полезной динамика соотношений фракций активного и неактивного, в том числе факультативного хроматина и клеточного ядра в целом [10; 18–21].

На модельных организмах – домашней курицы (*Gallus gallus domesticus*), японского перепела (*Coturnix japonica*) и зяблика (*Fringilla coelebs*) – проведены экспериментальные исследования, показывающие, что эпигенетические механизмы, то есть морфофизиологические и морфобиохимические механизмы регуляции экспрессии генотипа, не изменяют первичную структуру дезоксирибонуклеиновой кислоты (*DNA*). При этом эпигенетические модификации функциональной активности генов могут наследоваться компетентными клетками [12].

Известно, что содержание хроматина в соматических клетках стабильно. При этом в процессе активации клетки структурная упорядоченность интерфазного хроматина претерпевает разнообразные конформационные превращения, в результате которых изменяются физико-химические и, соответственно, оптические (анизотропия) свойства фракций хроматина [22].

По данным [22], коэффициент преломления всех компонентов субклеточных структур в среднем составляет 1,088. Однако его величина может меняться в зависимости от степени конденсации хроматина: при уменьшении размера комплекса белков *DNA* и *RNA* (рибонуклеиновой кислоты) снижается и коэффициент преломления [22].

В свою очередь, по модельным организмам – птицам – установлено что степень и качество упаковки (компактизация хроматина), то есть плотность *DNA* хроматина, регулируется коровыми гистонами нуклеосом, а также территориями *DNA*, включающими сигнальные метилированные остатки цитозина [12].

Морфологическим проявлением метилирования *DNA* как основного эпигенетического феномена является состояние оптической плотности ядер и диапазон ее изменчивости, обусловленный отношением конденсации к деконденсации хроматина [23; 24].

Также по новым данным известна роль ацетилирования гистона H4 по остатку лизина в положении 16 (*H4K16-Ac*) в энхансер-промоторном взаимодействии в обеспечении декомпактизации хроматиновой фибриллы при образовании физиологически активного ядерного эухроматина [1; 9].

На основе специально подготовленного *in vitro*, очищенного трипсином ядерного хроматина из эритроцитов кур *Gallus gallus* L. изучались особенности процесса ацетилирования гистонов, ответственных за декомпактизацию факультативного гетерохроматина, то есть высококонденсированного хроматина в транскрипционно-компетентный эухроматин [9].

Следовательно, снижение уровня анизотропии ядра клеток крови (соответственно, понижение оптической плотности эухроматина) может интерпретироваться как показатель, свидетельствующий о переходе факультативного гетерохроматина в эухроматин, что указывает на биологическую активацию хроматина и служит предпосылкой для появления матричной активности *DNA* [22].

Поэтому сущность эпигенетических механизмов в генотипе индивидуума заключается в степени и качестве упаковки наследственного материала, от уровня которой зависит регуляция и доступность генетической информации для транскрипционного аппарата клетки [1; 2; 6; 12; 13].

Реализация транскрипционного аппарата клетки направлена на синтез рибонуклеиновых кислот (*RNA*), которые в дальнейшем перемещаются из ядра в цитоплазму для осуществления синтетических процессов [5; 24; 25], в том числе синтеза компонентов гемоглобина и, собственно, самих молекул гемоглобина гемопоэтическими компетентными клетками [6; 25–28].

Так, синтез гема происходит в митохондриях [7; 15], глобина на рибосомах [4] – в цитоплазме полихроматофильных эритробластов.

Гем регулирует синтез глобина, митохондриальный синтез гема предшествует началу синтеза глобиновых цепей [6; 25; 29].

Биогенез гема происходит стадийно от проэритробластов и завершается в базофильных эритробластах [25].

Собственно, молекулярная сборка гемоглобина наиболее активно осуществляется на полирибосомах в цитоплазме полихроматофильных эритроцитов [5; 6; 27].

Синтез *mRNA* (информационная *RNA*: *messenger RNA*) завершается до стадии ортохромного нормо-

бласта (эритробласта). Отмечается, что в организме цыплят необходимая для синтеза гемоглобина *mRNA* образуется в базофильных эритробластах, которая (*mRNA*), далее в последующих формах эритробластов расходуется на синтез глобина на рибосомах (глобиновых полирибосомах) [27].

Подчеркивается, что синтез глобиновых цепей осуществляется в уже «коммитированных» в направлении эритроидного роста бластов, содержащих заранее синтезированную глобиновую *mRNA*. При этом установлено, что по мере созревания эритробластов и уменьшения синтеза глобина в них количество глобиновых полирибосом в цитоплазме постепенно убывает [27].

Необходимо подчеркнуть, что расходование аккумулируемого гема по принципу обратной отрицательной связи приводит к прекращению синтеза и глобиновых цепочек и, соответственно, прекращению транскрипции *RNA* [6], так как сам гем является одним из основных сигнальных факторов синтеза глобина [6; 25].

В итоге в цитоплазме полихроматофильных эритробластов по мере синтеза гемоглобина уменьшается число глобиновых полирибосом и молекул *RNA* соответственно [27].

Данные процессы отражаются в характере окраски цитоплазмы эритроидных клеток [6; 19; 30; 31], в частности, перехода от выраженной базофилии (синевы) окраса цитоплазмы у базофильных эритробластов к сиреневому окрасу цитоплазмы у полихроматофильных эритробластов и появлению розово-сиреневого окраса цитоплазмы у полихроматофильных эритроцитов [15; 28; 30] обусловленного, с одной стороны, прекращением синтеза гема и глобина, с другой – наиболее активным синтезом собственно гемоглобина с соответствующим расходом накопленных гема и глобина [4; 6]. Данные процессы приводят к окончательному переходу розово-сиреневого окраса цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов к эозинофильному (розовому) окрасу цитоплазмы у зрелых эритроцитов птиц [30; 32].

Согласно исследованиям [2], выполненным на модели домашней курицы (*Gallus gallus L.*), была установлена четкая пространственная дифференциация конфигурации ядерного интерфазного хроматина на гетерохроматиновые и эухроматиновые участки (зоны).

Акцентируется, что терминальная эритроидная дифференцировка сопровождается обширной конденсацией хроматина [6].

Фактически ядерный эухроматин эритробластов поэтапно подвергается компактизации, следствием которой является завершение его регуляторной гемоглобин-синтезирующей активности по мере созревания эритроцитарных предшественников в зрелые эритроциты [6; 31].

Подчеркивается, что параметр оптической плотности ядерного хроматина позволяет количественно и качественно анализировать состояние и динамику ядерного хроматина и, таким образом, характеризовать и оценивать метаболическое, физиологическое и патофизиологическое, патобиохимическое состояние клеток в мазках от образцов клинической биопсии тканей, поскольку существует прямая связь между уровнями оптической плотности цифрового изображения и количественной конденсацией (компактизацией) хроматина [33–35].

В исследованиях функциональной морфологии тканей животных и человека посредством определения морфоденситометрических показателей клеточных структур, была установлена достоверная связь динамики периметра и площади фракций ядерного хроматина с оптической плотностью и физиологическим состоянием хроматина, реакциями образования эухроматина из гетерохроматина в ядре клеток [20; 33; 36; 37].

Компоненты гистологического протокола по Паппенгейму (*Artur Pappenheim*), включающего схемы окрашивания мазков клеток по Маю – Грюнвальду (*Richard May, Ludwig Grünwald*) и по Романовскому – Гимзе (*Дмитрий Л. Романовский, Gustav Giemsa*), применяют для определения параметров оптической плотности и характеристики ядерного хроматина и цитоплазмы клеток крови [19; 38; 39] и других тканей [20; 40].

Путем определения величины оптической плотности ядерного хроматина исследовали конденсацию хроматина и ядерную организацию нормальных эритропоэтических клеток в мазках костного мозга, окрашенных по Маю – Грюнвальду – Гимзе [33].

Установлено цитохимическое средство компонентов красителей схемы по Маю – Грюнвальду – Гимзе к ядерному хроматину и синтезируемым цитоплазматическим компонентам гемоглобина проэритробластов и базофильных, полихроматофильных и ортохроматических нормобластов (эритробластов) [15; 33]; для математической обработки полученных данных и интерпретации результатов применяли методы спектрального картирования подобия и анализа главных компонент (факторный анализ) [33].

Эозин и гематоксилин применяли для субклеточной дифференциации в световой микроскопии ядерных участков эухроматина и гетерохроматина в мазках эндоцервикальных клеток шейки матки, с последующим изучением спектральных и морфологических характеристик эухроматина и гетерохроматина в цветовой модели *RGB* [20].

Эозин и метиленовый синий (входящие в схему окрашивания по Паппенгейму) применяют для оценки динамики концентрации гемоглобина в цитоплазме эритроцитов в результате определения оп-

тической плотности и геометрических параметров красных клеток крови в стандартно изготовленных и окрашенных мазках периферической крови [15; 41; 42].

Параметры оптической плотности структур ядра и цитоплазмы клеток крови в мазках периферической крови применяют для разработки новой гиперспектральной дифференциальной диагностики групп гранулярных, агранулярных лейкоцитов путем компьютерного моделирования гиперспектральных характеристик лейкоцитов на основе компьютерной денситометрии клеток [43].

Эти исследования основаны и, в свою очередь, подтверждают гипотезу о том, что компоненты с аналогичным биохимическим составом будут иметь сходные спектральные характеристики. А различия в спектральных характеристиках клеточных структур могут быть измерены как репрезентативные характеристики [15; 20; 43].

Подчеркивается, что классификация лейкоцитов может выиграть от микроскопии гиперспектральных изображений в сочетании с методами обработки изображений и математической статистики [43].

Таким образом, параметр *оптическая плотность* как показатель концентрации эухроматина [16; 22; 36; 37; 40; 44–48] и метаболической динамики цитоплазмы [40; 47–49], а также, *площадь* как показатель величины пространственного распределения эухроматина в строме ядра [39; 48; 52] и размера цитоплазмы [39; 42], являются ведущими валидными критериями оценки синтетической активности, в частности, реализации основной гемоглобин-синтетической функции эритробластами и созревающими эритроцитами в развивающихся организмах животных и человека.

Целью исследования являлась характеристика развития синтетической активности полихроматофильных эритробластов и эритроцитов, в частности, статуса гемоглобин-синтезируемой функции клеток эритроидного ряда птиц в раннем постэмбриональном онтогенезе.

Задачи заключались в определении спектральных, морфометрических и оптикометрических параметров эухроматина, гетерохроматина ядра и цитоплазмы с расчетом соотношений функциональных величин фракций хроматина и цитоплазмы, показывающих синтетическую активность клеток эритроидного ряда птиц.

Методология и методы исследования (Methods)

Этическое заявление

Данное исследование было разработано и реализовано в соответствии с рекомендациями комитета по биоэтике Южно-Уральского государственного аграрного университета (Троицк, Челябинская область, Россия), а также было согласовано с ветеринарной службой сельскохозяйственной компании.

Животные, дизайн исследования

Экспериментальная часть исследования была выполнена в условиях ООО «Чебаркульская птица» (Чебаркульский район Челябинской области, Россия). Данное птицеводческое предприятие специализируется на выращивании цыплят-бройлеров.

Избранный объект исследования

Высокопродуктивный имеющий широкое распространение птичий кросс мясной селекции кур-бройлеров *Hubbard ISA F15* выращивался в клетках промышленным стадом в цехе бройлеров – генеральная совокупность исследуемой птицы, из которой согласно принципам случайной выборки и сбалансированных групп сформировывали четыре опытные группы ($n = 40$) в зависимости от возраста:

I группа – 1-суточные птенцы;

II – 7-суточные цыплята;

III – 23-суточные бройлеры;

IV – 42-суточные куры (бройлеры).

Экспериментальные группы кур *Gallus gallus L.* по *Anamnesis vitae* клинически (*status praesens*) соответствовали *fusce sanitas status* (статусу здоровых животных). Кормление и содержание подопытной птицы осуществляли в соответствии с алиментарными и зоогигиеническими нормами согласно рекомендациям (руководство Hubbard ISA, <http://hubbardbreeders.com>).

Материал и цитологический протокол исследования. Исследования световой микроскопией

Материалом исследований служила цельная кровь, которую получали путем декапитации птицы в 1- и 7-суточном возрасте и прижизненно из подкрыльцовой вены у 23- и 42-суточных цыплят; кровь собирали в стандартизированные вакуумные пробирки со стабилизатором *EDTA* (этилендиаминтетраацетат) [53]. Изготавливали мазки крови, которые окрашивали по комбинированному гистологическому протоколу по Паппенгейму, включающему процедуру окраски по Маю – Грюнвальду и по Романовскому – Гимзе [53; 54]. Выполняли микрофотографии клеток эритроидного ряда на большом биологическом микроскопе МББ-1А (ЛОМО, Россия) [44] микрографической окулярной видеокамерой с матрицей разрешением 5 мегапикселей (Full HD High resolution HAYEAR CMOS 5.0 Megapixel microscope video camera, China), с визуализацией, в программе ToupView (ToupTek Photonics, China, <http://www.touptek.com>) [53; 54], с построенной светодиодной системой освещения микропрепаратов белым спектром по принципу Келера (A. Köhler) [55].

Для получения наиболее качественных изображений применяли микроскопный 90-кратный апохроматический объектив масляной иммерсии с апертурой 1,3 (ЛОМО, Россия). Калибровку видеокамеры производили по шкале объекта-микрометра для проходящего света с ценой деления 0,01 мм (ЛОМО, Россия) в программе ToupView.

Калибровка спектральной чувствительности цифровых микрофотографий эритроидных клеток периферической крови

Учитывая цвет цитоплазмы и хроматина эритробластов и эритроцитов, инструментальное вычисление оптической плотности клеточных структур по микрофотографиям мазков крови начинали с калибровки спектральной чувствительности изображений по комбинации тонов синего, красного и оттенков фиолетового цветов [20; 56–60] в стандартизированных спектрограммах.

Данные спектрограммы получали при извлечении градиентов формата *RGB* из участков микрофотографий в условиях программного обеспечения Adobe Color (Adobe Inc., США, <https://color.adobe.com/ru/create/color-wheel>).

Для этого выполняли спектральный анализ и оценку оптических характеристик в построенных моделях спектра полихроматических картин фракций ядерного хроматина и цитоплазмы полихроматофильных эритробластов, полихроматофильных эритроцитов и зрелых эритроцитов с помощью Adobe Color.

Для построения моделей спектра полихроматических изображений клеточных структур крови, изображения клеток крови регистрировали цифровой микрографической камерой HAYEAR 5.0 MP (Китай) в цветовой модели *RGB* [20; 56–60].

После регистрации устройством цифровой записи микрофотографий, в Adobe Color (США) выполняли обработку экспериментальных полихроматических изображений клеток крови, выделяли необходимые для измерительного контроля, стандартизации и калибровки области изображений.

При компьютерном анализе изображений для определения цвета пикселей необходим упорядоченный набор трех значений интенсивности базисных цветов аддитивной, то есть комбинированной опорной модели [20; 56–60]. При этом каждый пиксель полученного изображения содержал информацию о значении интенсивности каждого из основных цветов – красного (*R*), зеленого (*G*) и синего (*B*).

Были приняты следующие обозначения:

- R_{\min} – минимальная величина красного спектра;
- R_{\max} – максимальная величина красного спектра;
- $R_{\text{differ.-min-max}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений красного спектра;
- G_{\min} – минимальная величина зеленого спектра;
- G_{\max} – максимальная величина зеленого спектра;
- $G_{\text{differ.-min-max}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений зеленого спектра;
- B_{\min} – минимальная величина синего спектра;
- B_{\max} – максимальная величина синего спектра;
- $B_{\text{differ.-min-max}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений синего спектра.

Морфометрия и денситометрия эритроидных клеток периферической крови

В компьютерной программе PhotoM 1.21 (Россия) [16; 61] по микрофотографиям осуществляли стехиометрическую морфометрию и денситометрию параметров полихроматофильных эритробластов (*Polychrom_EBCs*), полихроматофильных эритроцитов (*Polychrom_RBCs*) и зрелых эритроцитов (*RBCs*): определяли площадь (μm^2) ядра клетки, эухроматина ядра и цитоплазмы; площадь ядерного гетерохроматина (μm^2) определяли вычитанием площади эухроматина (μm^2) из площади ядра клетки (μm^2); определяли оптическую плотность (денситометрия) ядра клетки, эухроматина, гетерохроматина и цитоплазмы [16; 62; 63].

Всего в исследуемых возрастных группах птиц были проанализированы цитофизиологические показатели по 158 единицам ($n = 158$) микрофотографий.

В программе Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, США) выполняли корректировку абсолютных числовых значений показателя оптической плотности (*OD*) введением в расчет поправочного коэффициента путем вычисления произведения *D* на 100: ($OD = D \times 100$), где *D* – показатель оптической плотности учитываемых структур на микрофотографиях; 100 – поправочный коэффициент.

Были приняты следующие обозначения:

- $S_{\text{heterochromatin}}$, μm^2 – площадь гетерохроматина;
- $S_{\text{euchromatin}}$, μm^2 – площадь эухроматина;
- S_{nucleus} , μm^2 – площадь ядра;
- $S_{\text{cytoplasm}}$, μm^2 – площадь цитоплазмы;
- $D_{\text{heterochromatin}}$ – оптическая плотность гетерохроматина;
- $D_{\text{euchromatin}}$ – оптическая плотность эухроматина;
- $D_{\text{cytoplasm}}$ – оптическая плотность цитоплазмы.

Расчет спектральных, морфогометрических и морфоденситометрических индексов эритроидных клеток периферической крови

В программе Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, США) рассчитывали индексы *Polychrom_EBCs*, *Polychrom_RBCs* и *RBCs*:

1. $CS_{\text{RGB-differ.-min-max}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений цветового спектра (*Color Spectrum*, *CS*) в модели *RGB* – по формуле:

$$CS_{\text{RGB-differ.-min-max}} = \frac{\max CS_{\text{RGB}} \times 100}{\min CS_{\text{RGB}}} - 100 \quad (1),$$

где $\max CS_{\text{RGB}}$ – максимальная величина цветового спектра в модели *RGB*;

$\min CS_{\text{RGB}}$ – минимальная величина цветового спектра в модели *RGB*.

По формуле (1) рассчитывали процент различия минимальных от максимальных значений цветового спектра (*Color Spectrum*, *CS*) для каждого цвета

ядерных [20] и цитоплазматических структур эритроидных клеток периферической крови в модели RGB [20; 56–60].

2. $P_{\text{nucleus-differ.-min-max}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений площади ядра клетки – по формуле:

$$P_{\text{nucleus-differ.-min-max}} = \frac{S_{\text{nucleus-max}} \times 100}{S_{\text{nucleus-min}}} - 100 \quad (2),$$

где $S_{\text{nucleus-max}}$ – максимальная площадь ядра клетки, μm^2 ;

$S_{\text{nucleus-min}}$ – минимальная площадь ядра клетки, μm^2 .

3. $P_{\text{cytoplasm-differ.-min-max}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений площади цитоплазмы клетки – по формуле:

$$P_{\text{cytoplasm-differ.-min-max}} = \frac{S_{\text{cytoplasm-max}} \times 100}{S_{\text{cytoplasm-min}}} - 100 \quad (3),$$

где $S_{\text{cytoplasm-max}}$ – максимальная площадь цитоплазмы клетки, μm^2 ;

$S_{\text{cytoplasm-min}}$ – минимальная площадь цитоплазмы клетки, μm^2 .

4. N/C Ratio – величина ядерно-цитоплазматического соотношения [15; 21]:

$$N/C \text{ Ratio} = \frac{S_{\text{nucleus}}}{S_{\text{cytoplasm}}} \quad (4),$$

где S_{nucleus} – площадь ядра клетки, μm^2 ;

$S_{\text{cytoplasm}}$ – площадь цитоплазмы, μm^2 .

5. $P_{\text{N/C Ratio}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений N/C Ratio – по формуле:

$$P_{\text{N/C Ratio}} = \frac{N/C \text{ Ratio}_{\text{-max}} \times 100}{N/C \text{ Ratio}_{\text{-min}}} - 100 \quad (5),$$

где $N/C \text{ Ratio}_{\text{-max}}$ – максимальное значение ядерно-цитоплазматического соотношения клеток;

$N/C \text{ Ratio}_{\text{-min}}$ – минимальное значение ядерно-цитоплазматического соотношения клеток.

6. E/N Ratio – индекс соотношения площади эухроматина к площади ядра [20]:

$$E/N \text{ Ratio} = \frac{S_{\text{euchromatin}}}{S_{\text{nucleus}}} \quad (6),$$

где $S_{\text{euchromatin}}$ – площадь эухроматина ядра клетки, μm^2 ;

S_{nucleus} – площадь ядра клетки, μm^2 .

7. H/N Ratio – индекс соотношения площади гетерохроматина к площади ядра [20]:

$$H/N \text{ Ratio} = \frac{S_{\text{heterochromatin}}}{S_{\text{nucleus}}} \quad (7),$$

где $S_{\text{heterochromatin}}$ – площадь гетерохроматина ядра клетки, μm^2 ;

S_{nucleus} – площадь ядра клетки, μm^2 .

8. E/H Ratio – индекс соотношения площади эухроматина к площади гетерохроматина [18; 20]:

$$E/H \text{ Ratio} = \frac{S_{\text{euchromatin}}}{S_{\text{heterochromatin}}} \quad (8),$$

где $S_{\text{euchromatin}}$ – площадь эухроматина ядра клетки, μm^2 ;

$S_{\text{heterochromatin}}$ – площадь гетерохроматина ядра клетки, μm^2 .

9. $P_{\text{D}_{\text{euchromatin-differ.-min-max}}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений оптической плотности эухроматина ядра клетки – по формуле:

$$P_{\text{D}_{\text{euchromatin-differ.-min-max}}} = \frac{D_{\text{euchromatin-max}} \times 100}{D_{\text{euchromatin-min}}} - 100 \quad (9),$$

где $D_{\text{euchromatin-max}}$ – максимальное значение оптической плотности эухроматина ядра клетки;

$D_{\text{euchromatin-min}}$ – минимальное значение оптической плотности эухроматина ядра клетки.

10. $P_{\text{D}_{\text{heterochromatin-differ.-min-max}}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений оптической плотности гетерохроматина ядра клетки – по формуле:

$$P_{\text{D}_{\text{heterochromatin-differ.-min-max}}} = \frac{D_{\text{heterochromatin-max}} \times 100}{D_{\text{heterochromatin-min}}} - 100 \quad (10),$$

где $D_{\text{heterochromatin-max}}$ – максимальное значение оптической плотности гетерохроматина ядра клетки;

$D_{\text{heterochromatin-min}}$ – минимальное значение оптической плотности гетерохроматина ядра клетки.

11. $P_{\text{D}_{\text{cytoplasm-differ.-min-max}}}$, % – процент различия минимальных от максимальных значений оптической плотности цитоплазмы клетки – по формуле:

$$P_{\text{D}_{\text{cytoplasm-differ.-min-max}}} = \frac{D_{\text{cytoplasm-max}} \times 100}{D_{\text{cytoplasm-min}}} - 100 \quad (11),$$

где $D_{\text{cytoplasm-max}}$ – максимальное значение оптической плотности цитоплазмы клетки;

$D_{\text{cytoplasm-min}}$ – минимальное значение оптической плотности цитоплазмы клетки.

Расчет комплексных морфоденситометрических индексов клеток периферической крови

На основании выполненных исследований в программе Microsoft Office Excel 2007 (США) рассчитывали комплексные индексы *Polychrom_EBCs*, *Polychrom_RBCs* и *RBCs*:

12. Денситометрический эухроматино-цитоплазматический индекс (ДЭЦИ, DECI) в условных единицах по формуле:

$$DECI = \frac{100}{ODE \times ODC} \quad (12),$$

где *ODE* – оптическая плотность эухроматина;

ODC – оптическая плотность цитоплазмы;

100 – поправочный коэффициент.

13. Эухроматино-цитоплазматический морфоденситометрический индекс (ЭЦМИ, ESMI) в условных единицах по формуле:

$$ESMI = \frac{(ODE \times Se) \times (ODC \times Sc)}{100} \quad (13)$$

где *ODE* – оптическая плотность эухроматина;

Se – площадь эухроматина, μm^2 ;

ODC – оптическая плотность цитоплазмы;

Sc – площадь цитоплазмы, μm^2 ;

100 – поправочный коэффициент.

Статистический анализ

Все цифровые данные измеренных и проанализированных значений изучаемых параметров объ-

екта исследования представлены средним арифметическим (\bar{X}) и стандартной ошибкой среднего: Standard Error Mean (\pm SEM).

Для проверки гипотезы, что случайные величины морфогометрических и морфоденситометрических параметров распределены нормально (*распределение Гаусса*), применяли критерий Шапиро – Уилка в программе STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., США).

Степень и достоверность различий для величин морфоденситометрических показателей оценивали с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента для парных сравнений в программе IBM SPSS Statistics, version 20 (США).

Критический уровень значимости различия значений при проверке статистических гипотез был принят за $p \leq 0,05$.

Результаты (Results)

Морфофизиология эритроидных клеток периферической крови

В процессе созревания предшественников эритроцитов в зрелые эритроциты количественно и качественно изменялись геометрические и морфоденситометрические параметры клеточных и субклеточных структур ядра и цитоплазмы.

Базофильная (фиолетовая) окраска цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов (*Polychrom*

EBCs) (рис. 1.1) в ходе созревания становилась слабо-базофильной (светло-фиолетовой) у полихроматофильных эритроцитов (*Polychrom_RBCs*) (рис. 1.3). Слабо-базофильная окраска цитоплазмы *Polychrom_RBCs* превращалась в ацидофильную (розовую) у зрелых эритроцитов (*RBCs*) птиц (рис. 1.5).

Ядерный гетерохроматин у *Polychrom_EBCs* был базофильным с элементами ацидофильной окраски (рис. 1.2). Эухроматин *Polychrom_EBCs* был ближе к ацидофильному цвету окраски (рис. 1.2). У *Polychrom_RBCs* гетерохроматин получает более базофильную окраску (рис. 1.4), эухроматин становится ближе к светло-базофильному цвету (рис. 1.4). Отличительной особенностью окраски фракций хроматина *RBCs* птиц являются насыщенная базофилия для гетерохроматина и светло-базофильный окрас для эухроматина ядра (рис. 1.6).

Спектральная чувствительность эритроидных клеток периферической крови на микрофотографиях

С учетом физико-химических свойств клеточных и субклеточных структур различно воспринимать пигменты из протокола окрашивания для анализа спектрограмм эритроцитов и эритроцитов были выбраны *опорные цветовые каналы* из вычисленных моделей *RGB* (рис. 2.1–2.6).

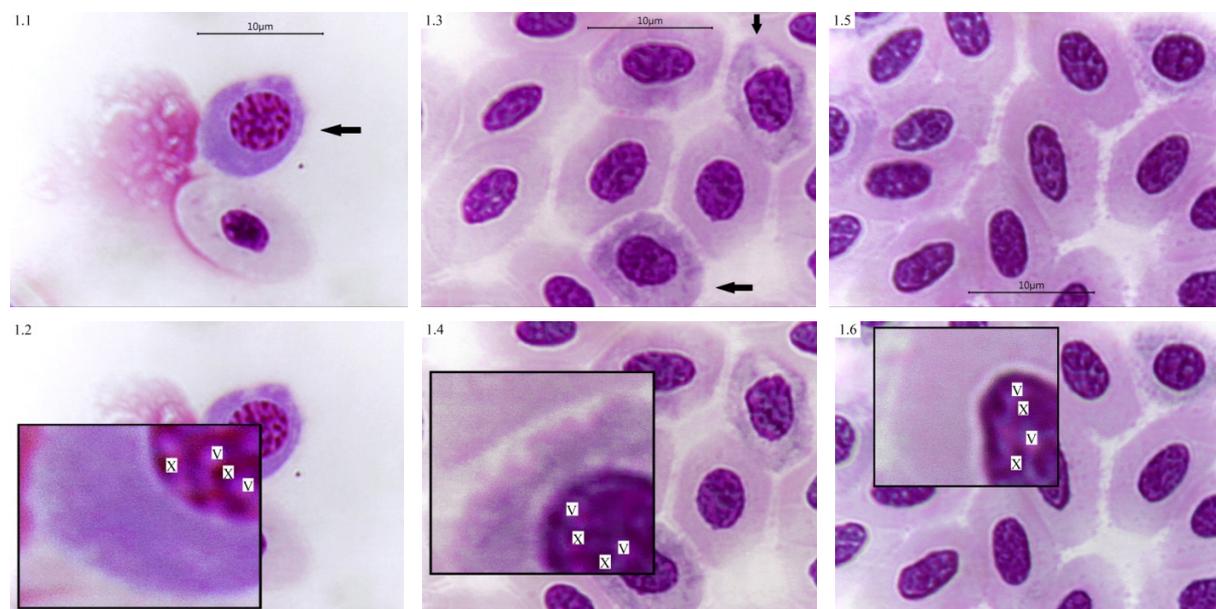
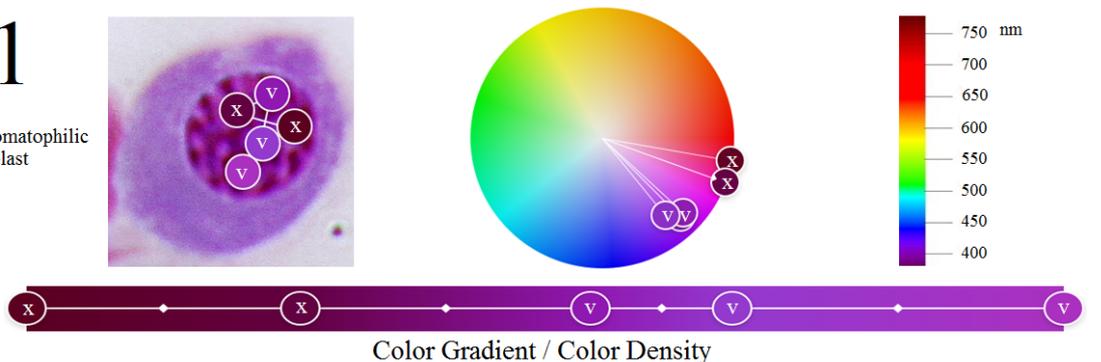


Рис. 1. Гетерохроматин и эухроматин ядра полихроматофильных эритроцитов (1.1 – 1-е сут.), полихроматофильных эритроцитов (1.3 – 7-е сут.) и зрелых эритроцитов (1.5 – 7-е сут.) периферической крови кур *Gallus gallus L.* в раннем онтогенезе. Окраска по Паппенгейму. Стрелкой показаны обозначаемые объекты. Рамкой выделены территории с цифровым увеличением в масштабе: 1.2 – 9:1, 1.4 – 9:1 и 1.6 – 8:1 соответственно, крестиком (X) отмечены структуры гетерохроматина (темные участки), галочкой (V) отмечены участки эухроматина (светлая зона). Цена деления масштабной линейки 10 микрометров (μm)

Fig. 1. Heterochromatin and euchromatin of the nucleus of polychromatophilic erythroblasts (1.1 – 1st day), polychromatophilic red blood cells (1.3 – 7th day) and mature red blood cells (1.5 – 7th day) of peripheral blood of chickens *Gallus gallus L.* in the early ontogenesis. Coloring according to Pappenheim. The arrow shows the designated objects. The frame highlights the territories with digital zoom to scale: 1.2 – 9:1, 1.4 – 9:1 and 1.6 – 8:1 respectively, the cross (X) marks the heterochromatin structures (dark areas), the tick (V) marks the euchromatin areas (light zone). Scale bar division value is 10 micrometers (μm)

2.1

Polychromatophilic Erythroblast



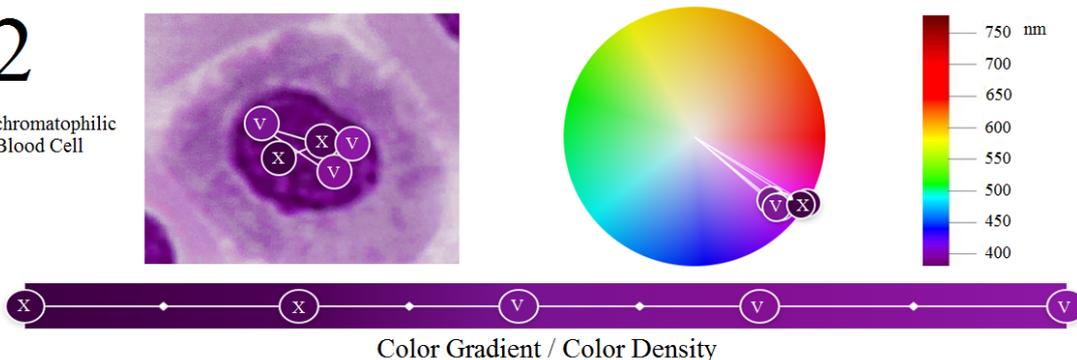
	RGB 91 : 0 : 33	RGB 99 : 0 : 66	RGB 143 : 24 : 176	RGB 148 : 57 : 206	RGB 170 : 48 : 192
	Heterochromatin (X)	Heterochromatin (X)	Euchromatin (V)	Euchromatin (V)	Euchromatin (V)
Coefficient of the Color Spectrum / Hue Balance	R 98	102	141	140	143
	G 1	1	27	47	29
	B 34	69	185	197	177
Color Contrast Ratio	38	40	73	77	69

Рис. 2.1. Модель спектра полихроматического изображения участков ядерного хроматина полихроматофильного эритробласта бройлерных кур. Модель отображает аддитивную структуру спектра включающую: изображение клетки крови с выделенными кругами территорий гетерохроматина (X) и эухроматина (V), опорный спектральный круг фракций хроматина, стандартную нанометровую спектральную шкалу, шкалу цветового градиента и плотности цвета фракций хроматина, RGB-шкалу с коэффициентами интенсивности цветового спектра, балансом цветового оттенка и коэффициентами цветового контраста фракций хроматина

Fig. 2.1. Model of the spectrum of polychromatic image of nuclear chromatin sites of polychromatophilic erythroblast of broiler chickens. The model displays an additive spectrum structure including: an image of a blood cell with highlighted circles of heterochromatin (X) and euchromatin (V) territories, a reference spectral circle of chromatin fractions, a standard nanometer spectral scale, a scale of color gradient and density of chromatin fractions, an RGB-scale with color spectrum intensity coefficients, color shade balance and color contrast coefficients fractions of chromatin

2.2

Polychromatophilic Red Blood Cell



	RGB 63 : 0 : 68	RGB 79 : 0 : 87	RGB 120 : 20 : 145	RGB 132 : 16 : 148	RGB 140 : 24 : 165
	Heterochromatin (X)	Heterochromatin (X)	Euchromatin (V)	Euchromatin (V)	Euchromatin (V)
Coefficient of the Color Spectrum / Hue Balance	R 64	73	122	141	125
	G 2	0	33	24	25
	B 67	74	141	165	149
Color Contrast Ratio	26	29	55	65	58

Рис. 2.2. Модель спектра полихроматического изображения участков ядерного хроматина полихроматофильного эритроцита бройлерных кур. Модель отображает аддитивную структуру спектра включающую: изображение клетки крови с выделенными кругами территорий гетерохроматина (X) и эухроматина (V), опорный спектральный круг фракций хроматина, стандартную нанометровую спектральную шкалу, шкалу цветового градиента и плотности цвета фракций хроматина, RGB-шкалу с коэффициентами интенсивности цветового спектра, балансом цветового оттенка и коэффициентами цветового контраста фракций хроматина

Fig. 2.2. Model of the spectrum of polychromatic image of nuclear chromatin sites of polychromatophilic erythrocyte of broiler chickens. The model displays an additive spectrum structure including: an image of a blood cell with highlighted circles of heterochromatin (X) and euchromatin (V) territories, a reference spectral circle of chromatin fractions, a standard nanometer spectral scale, a scale of color gradient and density of chromatin fractions, an RGB-scale with color spectrum intensity coefficients, color shade balance and color contrast coefficients fractions of chromatin

2.3

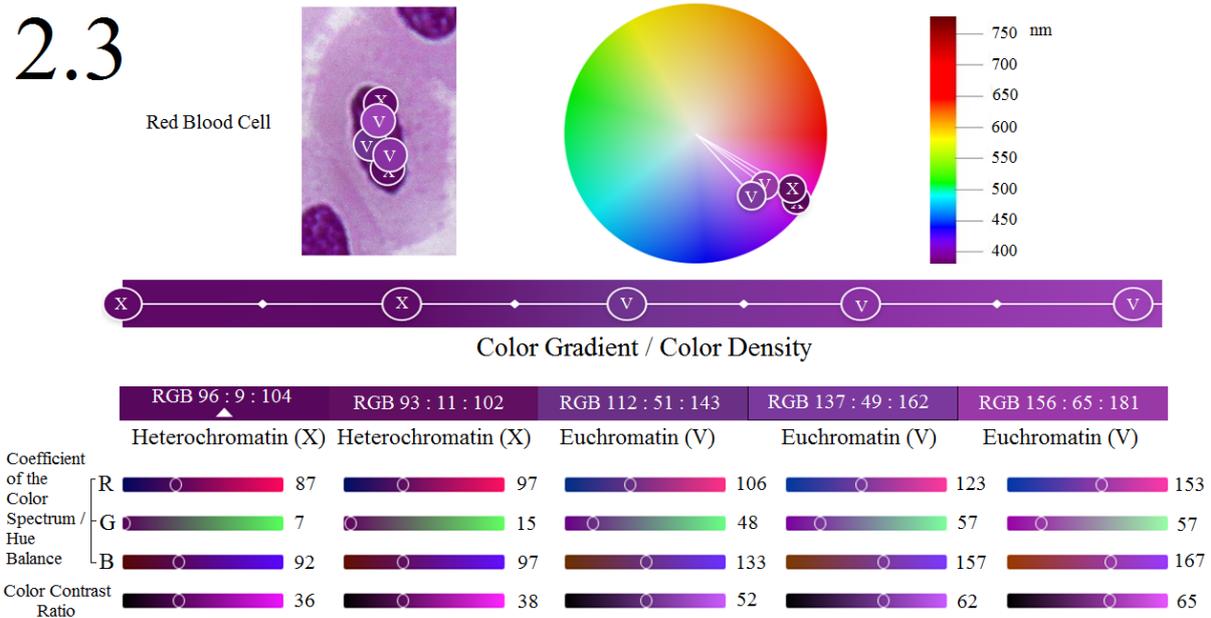


Рис. 2.3. Модель спектра полихроматического изображения участков ядерного хроматина зрелого эритроцита бройлерных кур. Модель отображает аддитивную структуру спектра включающую: изображение клетки крови с выделенными кругами территорий гетерохроматина (X) и эухроматина (V), опорный спектральный круг фракций хроматина, стандартную нанометровую спектральную шкалу, шкалу цветового градиента и плотности цвета фракций хроматина, RGB-шкалу с коэффициентами интенсивности цветового спектра, балансом цветового оттенка и коэффициентами цветового контраста фракций хроматина

Fig. 2.3. Model of the spectrum of polychromatic image of nuclear chromatin sites of mature erythrocyte of broiler chickens. The model displays an additive spectrum structure including: an image of a blood cell with highlighted circles of heterochromatin (X) and euchromatin (V) territories, a reference spectral circle of chromatin fractions, a standard nanometer spectral scale, a scale of color gradient and color density of chromatin fractions, an RGB-scale with color spectrum intensity coefficients, color shade balance and color contrast coefficients fractions of chromatin

2.4

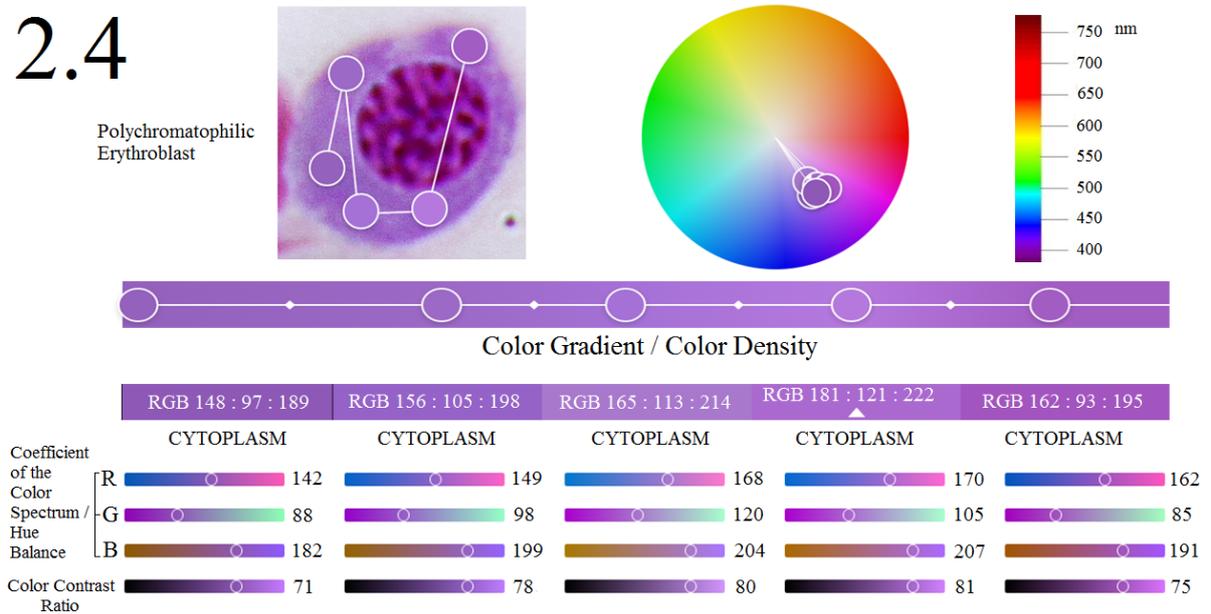


Рис. 2.4. Модель спектра полихроматического изображения участков цитоплазмы полихроматофильного эритроблеста бройлерных кур. Модель отображает аддитивную структуру спектра включающую: изображение клетки крови с выделенными кругами территорий цитоплазмы, опорный спектральный круг цитоплазмы, стандартную нанометровую спектральную шкалу, шкалу цветового градиента и плотности цвета цитоплазмы, RGB-шкалу с коэффициентами интенсивности цветового спектра, балансом цветового оттенка и коэффициентами цветового контраста цитоплазмы

Fig. 2.4. Model of the spectrum of polychromatic imaging of cytoplasm sites of polychromatophilic erythroblast of broiler chickens. The model displays an additive spectrum structure including: an image of a blood cell with highlighted circles of cytoplasmic territories, a reference spectral circle of cytoplasm, a standard nanometer spectral scale, a scale of color gradient and color density of cytoplasm, an RGB-scale with color spectrum intensity coefficients, color shade balance and color contrast coefficients of cytoplasm

2.5

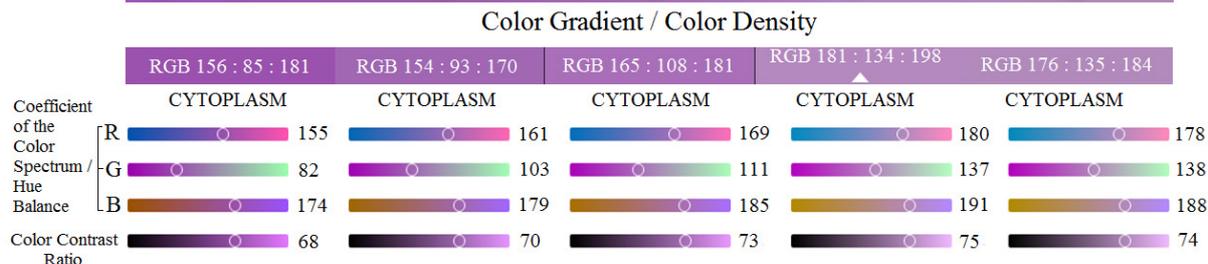
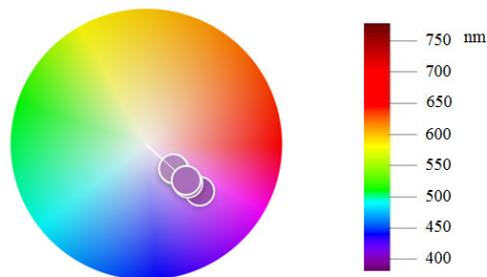
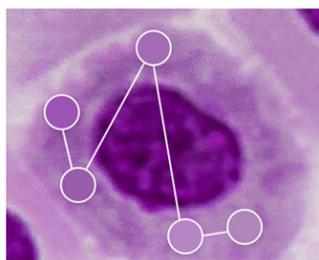
Polychromatophilic
Red Blood Cell

Рис. 2.5. Модель спектра полихроматического изображения участков цитоплазмы полихроматофильного эритроцита бройлерных кур. Модель отображает аддитивную структуру спектра включающую: изображение клетки крови с выделенными кругами территорий цитоплазмы, опорный спектральный круг цитоплазмы, стандартную нанометровую спектральную шкалу, шкалу цветового градиента и плотности цвета цитоплазмы, RGB-шкалу с коэффициентами интенсивности цветового спектра, балансом цветового оттенка и коэффициентами контраста цитоплазмы

Fig. 2.5. A model of the spectrum of the polychromatic image of the cytoplasm sites of the polychromatophilic erythrocyte of broiler chickens. The model displays an additive spectrum structure including: an image of a blood cell with highlighted circles of cytoplasmic territories, a reference spectral circle of cytoplasm, a standard nanometer spectral scale, a scale of color gradient and color density of cytoplasm, an RGB-scale with color spectrum intensity coefficients, color shade balance and color contrast coefficients of cytoplasm

2.6

Red Blood Cell

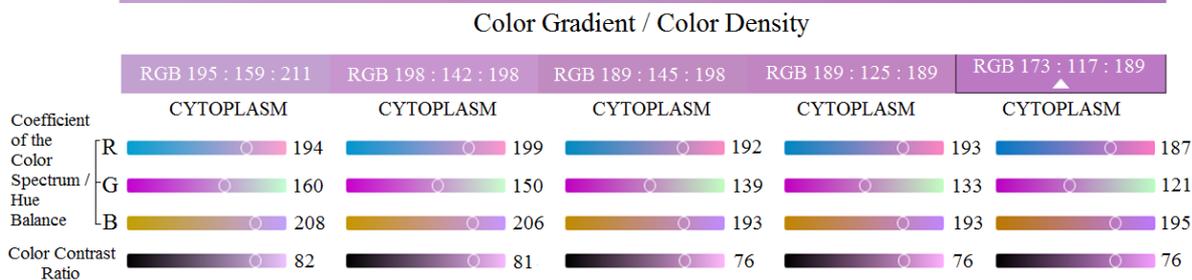
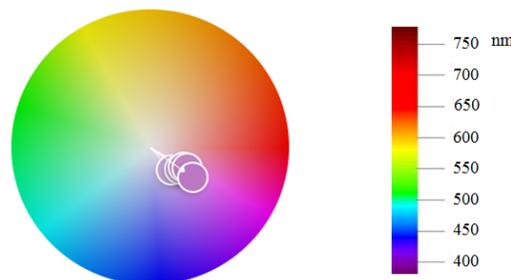
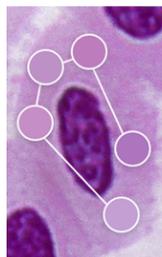


Рис. 2.6. Модель спектра полихроматического изображения участков цитоплазмы зрелого эритроцита бройлерных кур. Модель отображает аддитивную структуру спектра включающую: изображение клетки крови с выделенными кругами территорий цитоплазмы, опорный спектральный круг цитоплазмы, стандартную нанометровую спектральную шкалу, шкалу цветового градиента и плотности цвета цитоплазмы, RGB-шкалу с коэффициентами интенсивности цветового спектра, балансом цветового оттенка и коэффициентами контраста цитоплазмы

Fig. 2.6. Model of the spectrum of polychromatic image of the cytoplasm sites of mature erythrocyte of broiler chickens. The model displays an additive spectrum structure including: an image of a blood cell with highlighted circles of cytoplasmic territories, a reference spectral circle of cytoplasm, a standard nanometer spectral scale, a scale of color gradient and color density of cytoplasm, an RGB-scale with color spectrum intensity coefficients, color shade balance and color contrast coefficients of cytoplasm

Таблица 1

Значения аддитивной цветовой модели RGB фракций хроматина и цитоплазмы полихроматофильных эритробластов, полихроматофильных эритроцитов и зрелых эритроцитов бройлерных кур в микрофотографиях

Параметр	min R	max R	R _{differ.min-max} , %	min B	max B	B _{differ.min-max} , %	min G	max G	G _{differ.min-max} , %
Фракции хроматина									
<i>Polychrom_EBCs</i>	91	170	86,81	33	206	524,24	0	57	-
<i>Polychrom_RBCs</i>	63	140	122,22	68	165	142,65	0	24	-
<i>RBCs</i>	93	156	67,74	102	181	77,45	9	65	622,22
Цитоплазма									
<i>Polychrom_EBCs</i>	148	181	22,30	189	222	17,46	93	121	30,11
<i>Polychrom_RBCs</i>	154	181	17,53	170	198	16,47	85	135	58,82
<i>RBCs</i>	173	198	14,45	189	211	11,64	117	159	35,90

Table 1

Values of the additive RGB color model of chromatin fractions and cytoplasm of polychromatophilic erythroblasts, polychromatophilic erythrocytes and mature erythrocytes of broiler chickens in microphotographs

Parameter	min R	max R	R _{differ.min-max} , %	min B	max B	B _{differ.min-max} , %	min G	max G	G _{differ.min-max} , %
Fractions of chromatin									
<i>Polychrom_EBCs</i>	91	170	86.81	33	206	524.24	0	57	-
<i>Polychrom_RBCs</i>	63	140	122.22	68	165	142.65	0	24	-
<i>RBCs</i>	93	156	67.74	102	181	77.45	9	65	622.22
Cytoplasm									
<i>Polychrom_EBCs</i>	148	181	22.30	189	222	17.46	93	121	30.11
<i>Polychrom_RBCs</i>	154	181	17.53	170	198	16.47	85	135	58.82
<i>RBCs</i>	173	198	14.45	189	211	11.64	117	159	35.90

Опорный для фракций хроматина В синий цветовой канал имел тенденцию к существенному снижению величин от *Polychrom_EBCs* к *Polychrom_RBCs* с последующим ростом у *RBCs* (рис. 2.1–2.3, таблица 1). Схожая тенденция динамики величин регистрировалась для R – красного цветowego канала (рис. 2.1–2.3, таблица 1). При этом процент различия минимальных от максимальных значений цветowego канала В имел стабильную тенденцию к снижению для фракций хроматина от *Polychrom_EBCs* к *RBCs* (таблица 1). Процент различия минимальных от максимальных значений «R» – цветowego канала для фракций хроматина отличался ростом от *Polychrom_EBCs* к *Polychrom_RBCs* с последующим снижением для *RBCs* (таблица 1).

Опорными для цитоплазмы эритроидных клеток являлись цветовой каналы R и B. Цветовой канал R цитоплазмы имел стабильные величины от *Polychrom_EBCs* к *Polychrom_RBCs* (рис. 2.4, 2.5, таблица 1), и повышался для *RBCs* (рис. 2.6, таблица 1). Динамика цветowego канала B цитоплазмы отличалась снижением от *Polychrom_EBCs* к *Polychrom_RBCs* (рис. 2.4, 2.5, таблица 1), и некоторым ростом у *RBCs* (рис. 2.6, таблица 1). Проценты различия минимальных от максимальных значений цветowych каналов R и B имели тенденцию к снижению от *Polychrom_EBCs* к *RBCs* (таблица 1).

Тенденцию стабилизации структуры ядра и цитоплазмы в ряду от *Polychrom_EBCs* к *RBCs* показы-

вала стагнационная динамика процентов различия минимальных от максимальных значений цветowych каналов спектрограмм (таблица 1). Величины зеленого цветowego канала G хроматина и цитоплазмы изменялись (рис. 2.1–2.6, таблица 1), их роль может быть интересна в последующих исследованиях.

Динамика морфogeометрических и морфоденситометрических параметров развития эритроидных клеток в связи с регуляцией синтеза гемоглобина

В таблицах 2–3 и рис. 3.1–3.6 представлены стохастические абсолютные и индексированные геометрические и оптические данные по морфологии клеток эритроидного ряда бройлерных кур в раннем постэмбриональном онтогенезе.

При созревании от полихроматофильных эритробластов (*Polychrom_EBCs*) к полихроматофильным эритроцитам (*Polychrom_RBCs*) в связи со статистически значимым уменьшением оптической плотности эухроматина на 41,82 %, $p \leq 0,001$ и цитоплазмы на 39,38 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.1) существенно уменьшалась стабильность структуры эухроматина и цитоплазмы у *Polychrom_RBCs*. Процент различия минимальных от максимальных значений оптической плотности у эухроматина *Polychrom_RBCs* возрастал до 248,23 %, $p \leq 0,001$, у цитоплазмы *Polychrom_RBCs* повышался до 161,73%, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.3). При этом структура гетерохроматина *Polychrom_RBCs* стабилизировалась.

Таблица 2
Морфогеометрические параметры полихроматофильных эритробластов, полихроматофильных эритроцитов и зрелых эритроцитов бройлерных кур в постэмбриональном онтогенезе ($X \pm SEM$)

Показатель	<i>Polychrom_EBCs</i>	<i>Polychrom_RBCs</i>	<i>RBCs</i>
$S_{heterochromatin}, \mu m^2 (n = 30)$	9,00 ± 0,46	7,98 ± 0,47	7,55 ± 0,29
$S_{euchromatin}, \mu m^2 (n = 30)$	8,20 ± 0,39	7,95 ± 0,43	6,43 ± 0,33**
$S_{nucleus}, \mu m^2 (n = 30)$	17,19 ± 0,68	15,93 ± 0,82	13,98 ± 0,45
$S_{min_nucleus}, \mu m^2$	14,85	11,61	11,93
$S_{max_nucleus}, \mu m^2$	21,95	19,59	15,96
$P_{nucleus-differ-min-max}, \%$	47,81	68,73	33,78
$S_{cytoplasm}, \mu m^2 (n = 30)$	53,27 ± 2,78	67,27 ± 3,05*	75,76 ± 2,94
$S_{min_cytoplasm}, \mu m^2$	33,22	54,39	63,71
$S_{max_cytoplasm}, \mu m^2$	62,9	80,82	91,18
$P_{cytoplasm-differ-min-max}, \%$	89,34	48,59*	43,12
N/C Ratio	0,32 ± 0,02	0,24 ± 0,01**	0,18 ± 0,01**
N/C Ratio _{min}	0,26	0,19	0,17
N/C Ratio _{max}	0,47	0,29	0,23
$P_{N/C Ratio}, \%$	80,77	52,63**	35,29**
E/N Ratio	0,48 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,46 ± 0,01
H/N Ratio	0,52 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,54 ± 0,01
E/H Ratio	0,91 ± 0,06	1,01 ± 0,05	0,85 ± 0,05

Примечание. *, ** – уровни значимости различий средних значений статистически значимы по t-критерию в парном сравнении: *Polychrom_EBCs* и *Polychrom_RBCs*, *Polychrom_RBCs* и *RBCs* соответственно при $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$.

Table 2
Morpho-geometric parameters of polychromatophilic erythroblasts, polychromatophilic erythrocytes and mature erythrocytes of broiler chickens in postembryonic ontogenesis ($X \pm SEM$)

Parameter	<i>Polychrom_EBCs</i>	<i>Polychrom_RBCs</i>	<i>RBCs</i>
$S_{heterochromatin}, \mu m^2 (n = 30)$	9.00 ± 0.46	7.98 ± 0.47	7.55 ± 0.29
$S_{euchromatin}, \mu m^2 (n = 30)$	8.20 ± 0.39	7.95 ± 0.43	6.43 ± 0.33**
$S_{nucleus}, \mu m^2 (n = 30)$	17.19 ± 0.68	15.93 ± 0.82	13.98 ± 0.45
$S_{min_nucleus}, \mu m^2$	14.85	11.61	11.93
$S_{max_nucleus}, \mu m^2$	21.95	19.59	15.96
$P_{nucleus-differ-min-max}, \%$	47.81	68.73	33.78
$S_{cytoplasm}, \mu m^2 (n = 30)$	53.27 ± 2.78	67.27 ± 3.05*	75.76 ± 2.94
$S_{min_cytoplasm}, \mu m^2$	33.22	54.39	63.71
$S_{max_cytoplasm}, \mu m^2$	62.9	80.82	91.18
$P_{cytoplasm-differ-min-max}, \%$	89.34	48.59*	43.12
N/C Ratio	0.32 ± 0.02	0.24 ± 0.01**	0.18 ± 0.01**
N/C Ratio _{min}	0.26	0.19	0.17
N/C Ratio _{max}	0.47	0.29	0.23
$P_{N/C Ratio}, \%$	80.77	52.63**	35.29**
E/N Ratio	0.48 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.46 ± 0.01
H/N Ratio	0.52 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.54 ± 0.01
E/H Ratio	0.91 ± 0.06	1.01 ± 0.05	0.85 ± 0.05

Note. *, ** – the significance levels of differences in mean values are statistically significant according to the t-criterion in a pair comparison: *Polychrom_EBCs* and *Polychrom_RBCs*, *Polychrom_RBCs* and *RBCs*, respectively, at $p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$.

Таблица 3

Морфоденситометрические параметры полихроматофильных эритробластов, полихроматофильных эритроцитов и зрелых эритроцитов бройлерных кур в постэмбриональном онтогенезе ($X \pm SEM$)

Биология и биотехнологии

Показатель	<i>Polychrom_EBCs</i>	<i>Polychrom_RBCs</i>	<i>RBCs</i>
<i>D_heterochromatin</i> ($n = 300$)	4,85 ± 0,35	4,51 ± 0,36	3,02 ± 0,20***
<i>D_min_heterochromatin</i>	0,02	0,12	0,14
<i>D_max_heterochromatin</i>	16,40	18,30	9,67
$P_{D_{heterochromatin-differ-min-max}} \%$	81,9 × 10 ³	15,15 × 10 ³	68,07 × 10 ³ ***
<i>D_euchromatin</i> ($n = 300$)	3,18 ± 0,28	1,85 ± 0,14***	2,67 ± 0,19***
<i>D_min_euchromatin</i>	0,05	0,07	0,07
<i>D_max_euchromatin</i>	12,50	6,14	8,73
$P_{D_{euchromatin-differ-min-max}} \%$	24,90 × 10 ³	86,71 × 10 ³ ***	12,37 × 10 ³ ***
<i>D_cytoplasm</i> ($n = 300$)	1,60 ± 0,12	0,97 ± 0,09***	1,24 ± 0,10
<i>D_min_cytoplasm</i>	0,03	0,01	0,01
<i>D_max_cytoplasm</i>	4,89	4,25	4,22
$P_{D_{cytoplasm-differ-min-max}} \%$	16,20 × 10 ³	42,40 × 10 ³ ***	42,10 × 10 ³
DECI	19,67 ± 1,63	55,39 ± 4,51***	30,28 ± 2,21***
ECMI	22,19 ± 1,29	9,66 ± 0,56***	16,09 ± 0,90***

Примечание. *** – уровень значимости различий средних значений статистически значим по *t*-критерию в парном сравнении: *Polychrom_EBCs* и *Polychrom_RBCs*, *Polychrom_RBCs* и *RBCs* соответственно при $p \leq 0,001$.

Table 3

Morpho-densitometric parameters of polychromatophilic erythroblasts, polychromatophilic erythrocytes and mature erythrocytes of broiler chickens in postembryonic ontogenesis ($X \pm SEM$)

Parameter	<i>Polychrom_EBCs</i>	<i>Polychrom_RBCs</i>	<i>RBCs</i>
<i>D_heterochromatin</i> ($n = 300$)	4.85 ± 0.35	4.51 ± 0.36	3.02 ± 0.20***
<i>D_min_heterochromatin</i>	0.02	0.12	0.14
<i>D_max_heterochromatin</i>	16.40	18.30	9.67
$P_{D_{heterochromatin-differ-min-max}} \%$	81.9 × 10 ³	15.15 × 10 ³	68.07 × 10 ³ ***
<i>D_euchromatin</i> ($n = 300$)	3.18 ± 0.28	1.85 ± 0.14***	2.67 ± 0.19***
<i>D_min_euchromatin</i>	0.05	0.07	0.07
<i>D_max_euchromatin</i>	12.50	6.14	8.73
$P_{D_{euchromatin-differ-min-max}} \%$	24.90 × 10 ³	86.71 × 10 ³ ***	12.37 × 10 ³ ***
<i>D_cytoplasm</i> ($n = 300$)	1.60 ± 0.12	0.97 ± 0.09***	1.24 ± 0.10
<i>D_min_cytoplasm</i>	0.03	0.01	0.01
<i>D_max_cytoplasm</i>	4.89	4.25	4.22
$P_{D_{cytoplasm-differ-min-max}} \%$	16.20 × 10 ³	42.40 × 10 ³ ***	42.10 × 10 ³
DECI	19.67 ± 1.63	55.39 ± 4.51***	30.28 ± 2.21***
ECMI	22.19 ± 1.29	9.66 ± 0.56***	16.09 ± 0.90***

Note: *** the significance level of differences in mean values are statistically significant according to the *t*- criterion in a pair comparison: *Polychrom_EBCs* and *Polychrom_RBCs*, *Polychrom_RBCs* and *RBCs*, respectively, at $p \leq 0.001$.

При созревании *Polychrom_RBCs* в зрелые эритроциты (*RBCs*) статистически значимо возрасла оптическая плотность эухроматина *RBCs* до 44,32 %, $p \leq 0,001$; и существенно снижалась оптическая плотность гетерохроматина *RBCs* до 33,04 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.1). Процент различия минимальных от максимальных значений оптической плотности у эухроматина *RBCs* снижался до 85,73 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.3). Процент различия минимальных от максимальных значений оптической плотности у гетерохроматина

RBCs повышался до 349,31%, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.3). Поэтому происходила существенная стабилизация структуры эухроматина *RBCs* и значительное уменьшение стабильности структуры гетерохроматина *RBCs*, в том числе факультативного гетерохроматина *RBCs*.

У цитоплазмы *RBCs* оптическая плотность и процент различия минимальных от максимальных значений статистически не изменялись (таблица 3, рис. 3.3). Соответственно, структура цитоплазмы *RBCs* стабилизировалась.

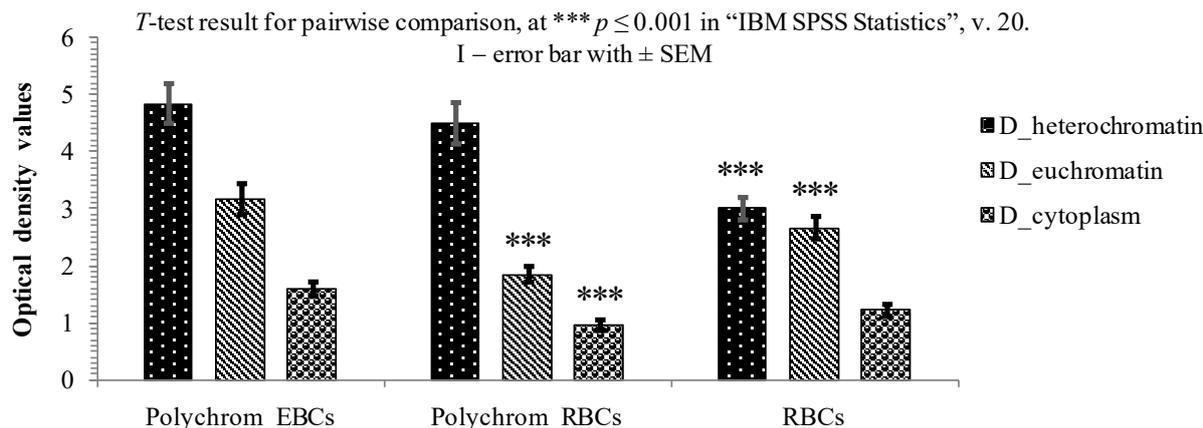


Рис. 3.1. Значения оптической плотности (D) гетерохроматина, эухроматина ядра и цитоплазмы полихроматофильных эритробластов (Polychrom_EBCs), полихроматофильных эритроцитов (Polychrom_RBCs) и зрелых эритроцитов (RBCs) в периферической крови бройлерных кур в раннем постэмбриональном онтогенезе. \pm SEM – стандартная ошибка средней

Fig. 3.1. Optical density (D) of heterochromatin, euchromatin of the nucleus and cytoplasm of polychromatophilic erythroblasts (Polychrom_EBCs), polychromatophilic red blood cells (Polychrom_RBCs) and mature red blood cells (RBCs) in the peripheral blood of broiler chickens in early postembryonic ontogenesis. \pm SEM – standard error of the mean

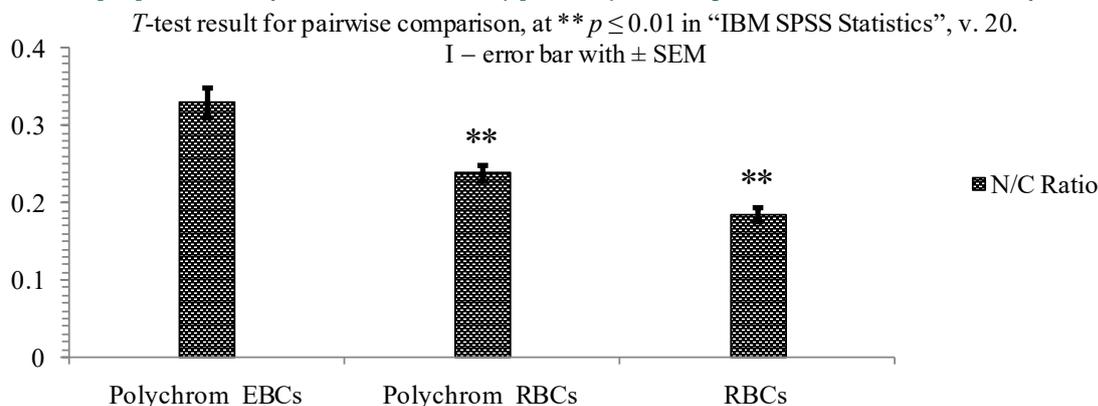


Рис. 3.2. Значения ядерно-цитоплазматического соотношения (ЯЦС) полихроматофильных эритробластов (Polychrom_EBCs), полихроматофильных эритроцитов (Polychrom_RBCs) и зрелых эритроцитов (RBCs) в периферической крови бройлерных кур в раннем постэмбриональном онтогенезе. \pm SEM – стандартная ошибка средней

Fig. 3.2. Nuclear-cytoplasmic ratio (N/C Ratio) of polychromatophilic erythroblasts (Polychrom_EBCs), polychromatophilic red blood cells (Polychrom_RBCs) and mature red blood cells (RBCs) in the peripheral blood of broiler chickens in early postembryonic ontogenesis. \pm SEM – standard error of the mean

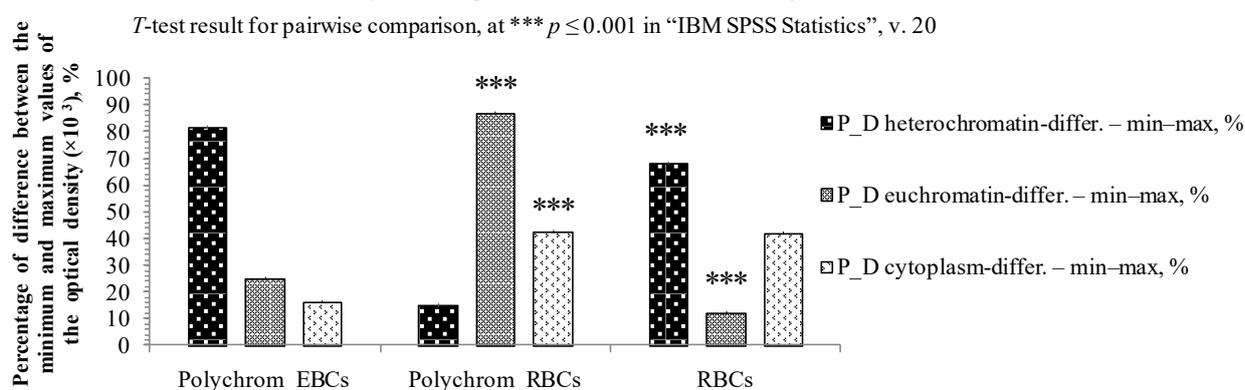


Рис. 3.3. Процент различия минимальных от максимальных значений P оптической плотности D ($\times 10^3$) (%) гетерохроматина, эухроматина ядра и цитоплазмы полихроматофильных эритробластов (Polychrom_EBCs), полихроматофильных эритроцитов (Polychrom_RBCs) и зрелых эритроцитов (RBCs) в периферической крови бройлерных кур в раннем постэмбриональном онтогенезе

Fig. 3.3. Percentage of difference between the minimum and maximum values P of the optical density D ($\times 10^3$) (%) of heterochromatin, euchromatin of the nucleus and cytoplasm of polychromatophilic erythroblasts (Polychrom_EBCs), polychromatophilic red blood cells (Polychrom_RBCs) and mature red blood cells (RBCs) in peripheral blood of broiler chickens in early postembryonic ontogenesis

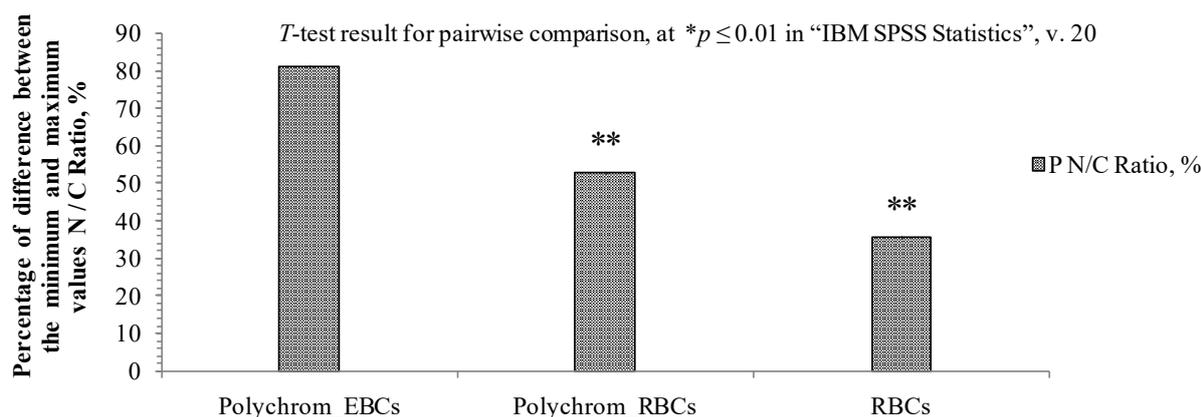


Рис. 3.4. Процент разницы минимальных от максимальных значений P ядерно-цитоплазматического соотношения N/C Ratio (%) полихроматофильных эритробластов (Polychrom_EBCs), полихроматофильных эритроцитов (Polychrom_RBCs) и зрелых эритроцитов (RBCs) в периферической крови бройлерных кур в раннем постэмбриональном онтогенезе

Fig. 3.4. Percentage of difference between the minimum and maximum values P of the nuclear-cytoplasmic ratio N/C Ratio (%) of polychromatophilic erythroblasts (Polychrom_EBCs), polychromatophilic red blood cells (Polychrom_RBCs) and mature red blood cells (RBCs) in the peripheral blood of broiler chickens in early postembryonic ontogenesis

Динамика величин ядерно-цитоплазматического соотношения у клеток эритроидного ряда имела статистически значимый нисходящий тренд. N/C Ratio у Polychrom_RBCs на 25,0 %, $p \leq 0,01$ меньше N/C Ratio для Polychrom_EBCs. N/C Ratio у RBCs на 25,0 %, $p \leq 0,01$ меньше N/C Ratio для Polychrom_RBCs (таблица 2, рис. 3.2). Аналогично с изменением N/C Ratio динамика процента разницы минимальных от максимальных значений N/C Ratio отличалась снижающимся трендом. Так, процент разницы минимальных значений N/C Ratio для Polychrom_RBCs от максимальных был на 34,84 %, $p \leq 0,01$ меньше, чем у Polychrom_EBCs (таблица 2, рис. 3.4). Процент разницы минимальных значений N/C Ratio для RBCs от максимальных был на 32,95 %, $p \leq 0,01$ меньше, чем у Polychrom_RBCs (таблица 2, рис. 3.4).

Статистически значимый прирост величины денситометрического эухроматинно-цитоплазматического индекса от полихроматофильных эритробластов к полихроматофильным эритроцитам составил 181,59 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.5), последующее снижение ДЭЦИ от полихроматофильных эритроцитов к зрелым эритроцитам составило 82,92 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.5).

Статистически достоверное снижение значения эухроматинно-цитоплазматического морфоденситометрического индекса от полихроматофильных эритробластов к полихроматофильным эритроцитам составило 129,71 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.6). Дальнейшее возрастание величины ЭЦМИ при созревании полихроматофильных эритроцитов в сформированные нормоциты составило 66,56 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.6).

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Стехиометрические и оптикометрические изменения размеров и их соотношений у клеточных и субклеточных структур цитоплазмы и ядра клеток красного ростка происходили в зависимости от развития интенсивности синтетических нагрузок гемоглобиновой функции крови в ювенальном онтогенезе птиц. Структурно-функциональные изменения цитоплазмы и фракций хроматина у созревающих клеток эритроидного ряда отражаются в их физико-химическом статусе [8–10; 21; 47] и цитохимической окраске [2; 6; 15; 18–20; 30; 33; 41] (рис. 1.1–1.6).

Пигменты в составе цитологического протокола по Паппенгейму представляют собой красители, имеющие стабильный pH (водородный показатель). Так, эозин имеет кислую реакцию среды; азури, окислы азури и метиленовый синий имеют щелочную реакцию среды. В связи с этим в зависимости от плотности упаковки, пространственной локализации и реакции среды (pH), обусловленных функциональными нагрузками, неактивный гетерохроматин и синтетически активный эухроматин имели различную оптическую плотность и дифференцированное окрашивание (рис. 1.2, 1.4, 1.6).

Так, ядерный хроматин в целом состоит из дезоксирибонуклеиновой, рибонуклеиновой кислот, гистоновых октамеров и белковой оболочки. Строма (матрикс) ядра представлена в основном белковыми структурами.

Поэтому гетерохроматин и эухроматин получали дифференцированную окраску и оптическую плотность у предшественников эритроцитов и зрелых эритроцитов птиц. При этом в ядерном хроматине отмечались *хромоцентры* – участки с наиболее интенсивной окраской и физико-химической плотностью (рис. 1.2, 1.4, 1.6).

T-test result for pairwise comparison, at *** $p \leq 0.001$ in "IBM SPSS Statistics", v. 20.
I – error bar with \pm SEM

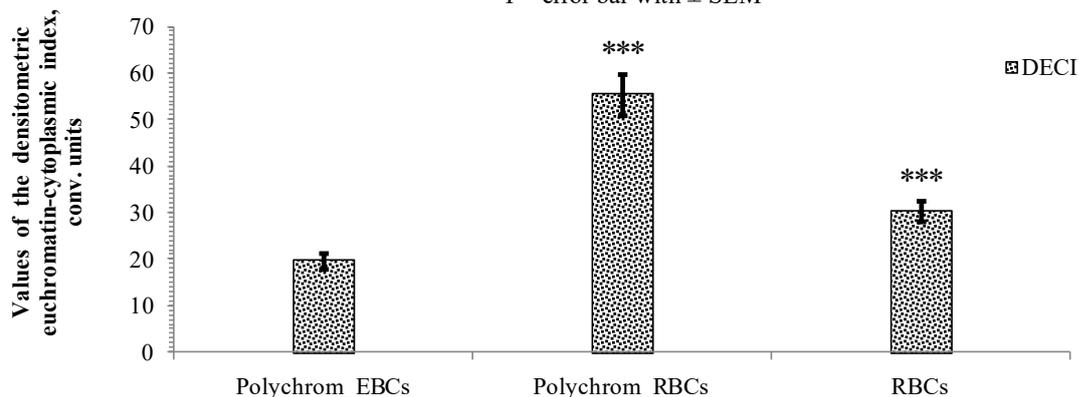


Рис. 3.5. Значения денситометрического эухроматин-цитоплазматического индекса (ДЭЦИ) (усл. ед.) полихроматофильных эритробластов (Polychrom_EBCs), полихроматофильных эритроцитов (Polychrom_RBCs) и зрелых эритроцитов (RBCs) в периферической крови бройлерных кур в раннем постэмбриональном онтогенезе. \pm SEM – стандартная ошибка средней

Fig. 3.5. Densitometric euchromatin-cytoplasmic index (DECI) (conv. units) of polychromatophilic erythroblasts (Polychrom_EBCs), polychromatophilic red blood cells (Polychrom_RBCs) and mature red blood cells (RBCs) in the peripheral blood of broiler chickens in early postembryonic ontogenesis. \pm SEM – standard error of the mean

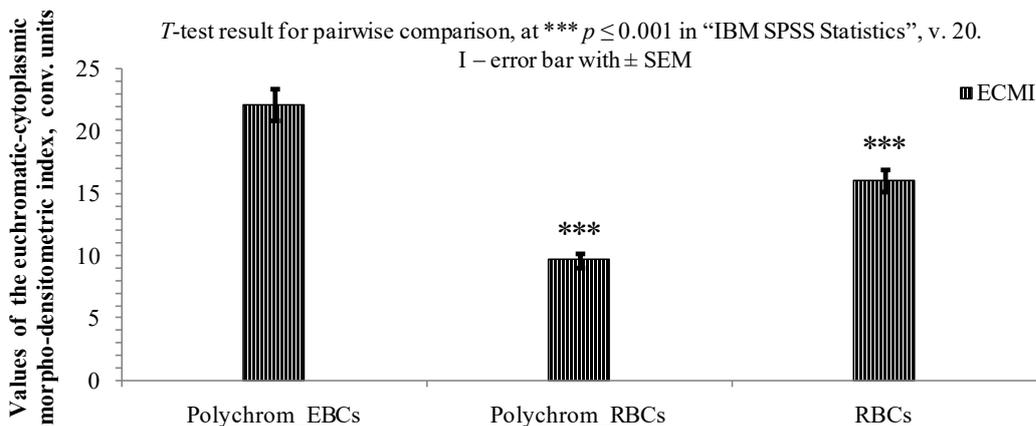


Рис. 3.6. Значения эухроматин-цитоплазматического морфоденситометрического индекса (ЭЦМИ) (усл. ед.) полихроматофильных эритробластов (Polychrom_EBCs), полихроматофильных эритроцитов (Polychrom_RBCs) и зрелых эритроцитов (RBCs) в периферической крови бройлерных кур в раннем постэмбриональном онтогенезе. \pm SEM – стандартная ошибка средней

Fig. 3.6. Euchromatic-cytoplasmic morpho-densitometric index (ECMI) (conv. units) of polychromatophilic erythroblasts (Polychrom_EBCs), polychromatophilic red blood cells (Polychrom_RBCs) and mature red blood cells (RBCs) in the peripheral blood of broiler chickens in early postembryonic ontogenesis. \pm SEM – standard error of the mean

Схожие механизмы окраски и оптической плотности реализовывались в цитоплазме эритроидных клеток в ходе их созревания. Поэтапный синтез гема, глобина, сборка и кумуляция гемоглобина в пространственно и динамично разобщенных клеточных и субклеточных структурах обуславливали различную окраску и оптическую плотность цитоплазмы у клеток эритроидного ряда – от оптически плотной базофильной цитоплазмы у полихроматофильных эритробластов (рис. 1.1) до полихроматофильной цитоплазмы с переменной оптической плотностью у полихроматофильных эритроцитов (рис. 1.3) и сравнительно оптически плотной цитоплазмы у зрелых эритроцитов птиц (рис. 1.5).

В раннем постэмбриональном онтогенезе птиц такие параметры хроматина, как величина оптической плотности, процент различия минимальных

от максимальных значений оптической плотности, отражают уровень стабильности структуры активных, конститутивных и факультативных фракций хроматина клеточного ядра в ходе эритропоэза.

Статистически значимый рост величины процента различия минимальных от максимальных значений оптической плотности эухроматина и цитоплазмы от полихроматофильных эритробластов к полихроматофильным эритроцитам был показателем уменьшения стабильности структуры эухроматина и цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов.

Учитывая установленный статистически значимый рост оптической плотности эухроматина и существенное снижение таковой у гетерохроматина, а также значимое снижение процента различия минимальных от максимальных значений оптической

ской плотности эухроматина и обратную ситуацию по гетерохроматину в ходе превращения полихроматофильных эритроцитов в зрелые эритроциты, возможно, констатировать для зрелых эритроцитов выраженную стабилизацию структуры эухроматина со значительным уменьшением стабильности структуры факультативного гетерохроматина.

Интересна тенденция сближения величин соотношения площади эухроматина к площади гетерохроматина (E/H Ratio), соотношения площади эухроматина к площади ядра (E/N Ratio) у *Polychrom_EBCs* и *RBCs* (таблица 2). В связи с этим обращает на себя внимание динамика процента различия минимальных от максимальных значений площади ядра с ростом от *Polychrom_EBCs* к *Polychrom_RBCs* и снижением у *RBCs* (таблица 2).

Данные тенденции E/H Ratio, E/N Ratio и процента различия минимальных от максимальных значений площади ядра хотя и не имеют статистически значимых различий, но подчеркивают изменчивость вовлеченности разных фракций хроматина в синтетических процессах.

Динамика процента различия минимальных от максимальных значений площади ядра акцентирует наибольшую синтетическую активность у *Polychrom_RBCs*.

Синхронное изменение у эритроидных клеток динамики N/C Ratio и процента различия минимальных от максимальных значений N/C Ratio характеризует высокий уровень взаимосвязи соотношения структуры ядра со структурой цитоплазмы.

Так как от полихроматофильных эритробластов к полихроматофильным эритроцитам и зрелым эритроцитам статистически значимо уменьшался процент различия N/C Ratio, следовательно, возрастал уровень структурно-функциональных взаимосвязей ядра и цитоплазмы у клеток эритроидного ряда – от полихроматофильных эритробластов к зрелым эритроцитам.

Индекс ДЭЦИ на денситометрическом уровне, согласно данным авторов [2; 5; 6; 15; 25; 27], связан с началом активного синтеза гемоглобина в цитоплазме полихроматофильных эритроцитов и его завершением в цитоплазме зрелых эритроцитов. Так, величина ДЭЦИ у *Polychrom_RBCs* возросла до 181,59 %, $p \leq 0,001$, для *RBCs* ДЭЦИ снижался до 82,92 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.5).

Комплексный индекс ЭЦМИ на интегральном морфоденситометрическом уровне в соответствии с литературными данными [5; 6; 15; 25–27], связан со значительным снижением свободной рибонуклеиновой кислоты (RNA) в цитоплазме полихроматофильных эритроцитов. Снижение ЭЦМИ *Polychrom_RBCs* достигало 129,71 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.6) в связи с тем, что RNA обратнo связывалась протеидами в нуклеопротеиды ядра, которые имеют щелочную реакцию среды (pH).

Таким образом, цитохимическая реакция компонентов цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов с азуром и его солями в реакции окрашивания по схеме протокола Паппенгейма приводит к переходу базофильного синего цвета цитоплазмы (высокая концентрация свободных синтетически активных форм RNA [5–7; 25]), характерного для полихроматофильных эритробластов (рис. 1.1), к голубому окрашиванию цитоплазмы, свойственному полихроматофильным эритроцитам (рис. 1.3).

Фактически окрашивание цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов в голубой цвет объясняется тем, что, во-первых, значительно снижается концентрация RNA (связывается обратно ядерными нуклеопротеидами) в цитоплазме данных клеток; во-вторых, тем, что в цитоплазме полихроматофильных эритроцитов только начинается активный синтез собственно гемоглобина из гема от митохондрий и глобина, синтезируемого на рибосомах. Поэтому цитоплазма данных эритроцитов, с одной стороны, слабо воспринимает азур и его соли (почти уже нет свободных форм RNA), с другой, начальная низкая концентрация гемоглобина определяет невысокий уровень реакции с эозином.

В зрелых эритроцитах именно эозин (по протоколу Паппенгейма) как краситель с кислой реакцией среды (pH) окрашивает концентрированный щелочной гемоглобин в цитоплазме (рис. 1.5), рост величины индекса ЭЦМИ составил 66,56 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.6).

Результаты расчета индекса ДЭЦИ (в усл. ед.) показали, что при снижении оптической плотности ядерного эухроматина полихроматофильных эритроцитов до 71,89 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.1, 3.5) в сравнении с полихроматофильными эритробластами, соответственно, повышении регуляторной активности хроматина в синтезе компонентов гемоглобина и начале сборки молекул гемоглобина от полихроматофильных эритробластов к полихроматофильным эритроцитам, а также, при снижении оптической плотности цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов до 64,94 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.1) в сравнении с полихроматофильными эритробластами в связи с падением концентрации в цитоплазме активных форм RNA величины ДЭЦИ составляли 19,67–55,39 усл. ед. (таблица 3, рис. 3.5).

При росте оптической плотности ядерного эухроматина зрелых эритроцитов до 44,32 %, $p \leq 0,001$ в сравнении с полихроматофильными эритроцитами (таблица 3, рис. 3.1), соответственно, физиологическом снижении регуляторной активности дезоксирибонуклеиновой кислоты (DNA) хроматина в синтезе компонентов гемоглобина величины ДЭЦИ составляли 55,39–30,28 усл. ед. (таблица 3, рис. 3.5).

Результаты расчета комплексного индекса ЭЦМИ (в усл. ед.) показали, что при росте площа-

ди цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов до 26,28 %, $p \leq 0,05$ в сравнении с полихроматофильными эритроцитами (таблица 2) в связи с началом активного синтеза собственно молекул гемоглобина в цитоплазме полихроматофильных эритроцитов и при снижении оптической плотности эухроматина полихроматофильных эритроцитов до 71,89 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.1), а также при снижении оптической плотности цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов до 64,94 %, $p \leq 0,001$ (таблица 3, рис. 3.1) в сравнении с полихроматофильными эритроцитами в обеспечении гебоглобин-синтетических процессов величины ЭЦМИ составляли 22,19–9,66 усл. ед. (таблица 3, рис. 3.6).

При снижении площади эухроматина до 23,63 %, $p \leq 0,01$ (таблица 2) и росте оптической плотности эухроматина до 44,32 %, $p \leq 0,001$ зрелых эритроцитов (таблица 3, рис. 3.1), в сравнении с полихроматофильными эритроцитами. Соответственно, при компактизации *DNA* функционально-активного хроматина и перехода его в неактивное состояние в связи с завершением ядерной регуляции и синтеза собственно гемоглобина в зрелых эритроцитах величины ЭЦМИ составляли 9,66–16,09 усл. ед. (таблица 3, рис. 3.6).

Индекс ДЭЦИ представляет собой произведение значений оптической плотности: физиологически активной формы ядерного хроматина (эухроматина) и функционального выражения воздействия эухроматина, то есть структурной основы клетки – цитоплазмы клеток эритроидного ряда, отражающей ведущую функцию по синтезу газообменного и буферного белка гемоглобина.

При этом индекс ЭЦМИ интегрирует морфофункциональное соотношение ядерного хроматина и клетки в целом на основе произведения оптикометрической (оптической плотности) и геометрической (площади) величин эухроматина и цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов, полихроматофильных эритроцитов и зрелых эритроцитов.

Прикладное значение индексов ДЭЦИ и ЭЦМИ заключается в том, что произведения величин оптической концентрации и пространственного распространения активного хроматина ядра и структурной основы клетки – цитоплазмы – статистически достоверно отражают характер метаболической направленности, динамики и напряженности процесса синтеза гемоглобина клетками эритроидного ряда.

В частности, индексы ДЭЦИ и ЭЦМИ выражают физиологическую характеристику этапов синтеза гемоглобина (то есть синтеза гема в митохондриях, глобина на рибосомах в цитоплазме) под регуляцией ядерного эухроматина полихроматофильных эритроцитов.

Индексы ДЭЦИ и ЭЦМИ показывают активность стадий синтеза гемоглобина в цитоплазме по-

лихроматофильных эритроцитов в ядерной регуляции и цитоплазматической кумуляции гемоглобина, отражают прекращение синтеза гемоглобина в зрелых эритроцитах цыплят-бройлеров.

Поэтому применение индексов ДЭЦИ и ЭЦМИ возможно для изучения развития полиэтиологичной анемии.

Закономерности функций предшественников зрелых эритроцитов, а именно физиолого-биохимические взаимосвязи и их цитохимические реакции в стадиях синтеза гемоглобина полихроматофильными эритроцитами и эритроцитами, а также закономерности завершения синтеза гемоглобина и его накопления в цитоплазме зрелых эритроцитов включены в основу комплексного морфоденситометрического теста определения уровня синтетической активности полихроматофильных эритроцитов и эритроцитов, в частности, для определения статуса гемоглобин-синтезируемой функции клеток эритроидного ряда птиц в раннем постэмбриональном онтогенезе.

Расчет ДЭЦИ показал, что при снижении оптической плотности эухроматина полихроматофильных эритроцитов до 71,89 %, $p \leq 0,001$ в сравнении с полихроматофильными эритроцитами, снижении оптической плотности цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов до 64,94 %, $p \leq 0,001$ в сравнении с полихроматофильными эритроцитами величины ДЭЦИ составили 19,67–55,39 усл. ед. При росте оптической плотности эухроматина зрелых эритроцитов до 44,32 %, $p \leq 0,001$ в сравнении с полихроматофильными эритроцитами величины ДЭЦИ составили 55,39–30,28 усл. ед.

Расчет ЭЦМИ показал, что при росте площади цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов до 26,28 %, $p \leq 0,05$ в сравнении с полихроматофильными эритроцитами, снижении оптической плотности эухроматина полихроматофильных эритроцитов до 71,89 %, $p \leq 0,001$, снижении оптической плотности цитоплазмы полихроматофильных эритроцитов до 64,94 %, $p \leq 0,001$ в сравнении с полихроматофильными эритроцитами величины ЭЦМИ составили 22,19–9,66 усл. ед. При снижении площади эухроматина до 23,63 %, $p \leq 0,01$ и росте оптической плотности эухроматина до 44,32 %, $p \leq 0,001$ зрелых эритроцитов в сравнении с полихроматофильными эритроцитами величины ЭЦМИ составили 9,66–16,09 усл. ед.

Исследования синтетической активности полихроматофильных эритроцитов и эритроцитов птиц на основе объединенного изучения морфологических и денситометрических параметров хроматина ядра и цитоплазмы способствует автоматизации качественного и количественного анализа физиологической зрелости, обмена веществ эритроцитов, созревающих и зрелых эритроцитов птиц.

Библиографический список

1. Григорьев С. А., Попова Е. Ю. Средство подобию: механизмы самоассоциации и компартиментализации эукариотического хроматина // Молекулярная биология. 2019. № 53 (6). С. 933–953. DOI: 10.1134/S0026898419060053.
2. Хабарова А. А., Рыжкова А. С., Баттулин Н. Р. Реорганизация хроматина в процессе эритроидной дифференцировки // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. № 23 (1). С. 95–99. DOI: 10.18699/VJ19.467.
3. Sanders T. J. et al. Extended Archaeal Histone-Based Chromatin Structure Regulates Global Gene Expression in *Thermococcus kodakarensis* // *Frontiers in Microbiology*. 2021. No. 12. Article number 681150. DOI: 10.3389/fmicb.2021.681150.
4. Ржепаковский И. В., Тимченко Л. Д., Писков С. И., Аванесян С. С., Сизоненко М. Н., Шахбанов М. Ш., Нагдалян А. А., Ребезов М. Б. Трехмерная рентгеновская микротомография сердца куриного эмбриона в раннем периоде эмбриогенеза // *Аграрная наука*. 2023. № 1 (10). С. 24–29. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-375-10-24-29.
5. Bell S. G. An introduction to hemoglobin physiology // *Neonatal Network*. 1999. No. 18 (2). Pp. 9–15. DOI: 10.1891/0730-0832.18.2.9.
6. Ponka P. et al. Erythropoiesis, Hemoglobin Synthesis, and Erythroid Mitochondrial Iron Homeostasis // In: *Handbook of Porphyrin Science: with Applications to Chemistry, Physics, Materials Science, Engineering, Biology and Medicine*. Santa Barbara: World Scientific, 2013. № 27. Pp. 41–84. DOI: 10.1142/9789814407755_0011.
7. Kumari A. Heme Synthesis (Chapter 8) // In: *Sweet Biochemistry: Remembering Structures, Cycles, and Pathways by Mnemonics*. London: Academic Press, Elsevier Science, 2018. Pp. 33–36. DOI: 10.1016/B978-0-12-814453-4.00008-X.
8. Ryzhkova A., Taskina A., Khabarova A., Fishman V., Battulin N. Erythrocytes 3D genome organization in vertebrates // *Scientific Reports*. 2021. No. 11 (1). Article number 4414. DOI: 10.1038/s41598-021-83903-9.
9. Низовцева Е. В., Герасимова Н. С., Студитский В. М. Влияние ацетилирования гистона H4 на дистанционные взаимодействия в хроматине // *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология*. 2019. № 74 (4). С. 308–312. DOI: 10.3103/S0096392519040114.
10. Takahata S., Murakami Y. Opposing Roles of FACT for Euchromatin and Heterochromatin in Yeast // *Biomolecules*. 2023. No. 13. Article number 377. DOI: 10.3390/biom13020377.
11. Gasparotto M., Lee Y.-S., Palazzi A., Vacca M., Filippini F. Nuclear and Cytoplasmic Players in Mitochondria-Related CNS Disorders: Chromatin Modifications and Subcellular Trafficking // *Biomolecules*. 2022. No. 12 (5). Article number 625. DOI: 10.3390/biom12050625.
12. Красикова А. В., Куликова Т. В. Распределение маркеров гетерохроматина в хромосомах типа ламповых щеток у птиц // *Генетика*. 2017. № 53 (9). С. 1077–1085. DOI: 10.7868/S0016675817090077.
13. Zhang Z., Zhang R., Xiao K., Sun X. G4Beacon: An In Vivo G4 Prediction Method Using Chromatin and Sequence Information // *Biomolecules*. 2023. No. 13 (2). Article number 292. <https://doi.org/10.3390/biom13020292>.
14. Gasser S. M. Visualizing Chromatin Dynamics in Interphase Nuclei. *Science*. 2002. No. 296 (5572). Pp. 1412–1416. DOI: 10.1126/science.1067703.
15. Yeo J. H., Lam Y. W., Fraser S. T. Cellular dynamics of mammalian red blood cell production in the erythroblastic island niche // *Biophysical Reviews*. 2019. No. 11 (6). Pp. 873–894. DOI: 10.1007/s12551-019-00579-2.
16. Мантейфель В. М., Кару Т. Й. Снижение компактизации конденсированного хроматина в лимфоцитах человека под влиянием низкоинтенсивного излучения He-Ne лазера // *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2009. № (6). С. 654–661. DOI: 10.1134/S1062359009060028.
17. Антонова Е. И. [и др.] Особенности реорганизации хроматина ядер и показателей клеточного цикла гепатоцитов печени рыб после воздействия высокой внешней температуры [Электронный ресурс] // *Современные проблемы науки и образования*. 2012. No. 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=7469> (дата обращения: 05.09.2022).
18. Lehmann R. R., Nienhaus R. H., Dénes R. M., Steinbach T. Changes of euchromatin/heterochromatin ratios in cell nuclei of the aortic adventitia in diabetic rats // *Artery*. 1987. No. 14 (2). Pp. 66–75.
19. De la Iglesia Inigo S., Moreno-Carralero M.-I., Lemes-Castellano A., Molero-Labarta T., Méndez M., Morán-Jiménez M.-J. A case of congenital dyserythropoietic anemia type IV // *Clinical Case Reports*. 2017. No. 5 (3). Pp. 248–252. DOI: 10.1002/ccr3.825.
20. Kimura F. et al. Image quantification technology of the heterochromatin and euchromatin region for differential diagnosis in the lobular endocervical glandular hyperplasia // *Diagnostic Cytopathology*. 2019. No. 47 (6). DOI: 10.1002/dc.24155.
21. Schreier S., Budchart P., Borwornpinyo S., Arpornwirat W., Triampo W. Circulating erythroblast abnormality associated with systemic pathologies may indicate bone marrow damage // *Journal of Circulating Biomarkers*. 2021. No. 10. Pp. 14–19. DOI: 10.33393/jcb.2021.2220.

22. Гаспарян С. А., Попова О. С., Василенко И. А., Хрипунова А. А., Метелин В. Б. Оценка фенотипа интерфазных ядер лимфоцитов методом количественного фазового имиджинга (QPI) у пациенток с эндометриодными кистами яичников // Альманах клинической медицины. 2017. № 45 (2). С. 109–117. DOI: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-109-117.
23. Козовый Р. В., Перцович В. М., Ковальчук Л. Е., Багрий М. М. Анализ морфоденситометрические показатели состояния генома лимфоцитов периферической крови долгожителей Прикарпатья // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013. № 11 (2). С. 29–32.
24. Wickramasinghe S. N., Pippard M. J. Studies of erythroblast function in congenital dyserythropoietic anaemia, type I: evidence of impaired DNA, RNA, and protein synthesis and unbalanced globin chain synthesis in ultrastructurally abnormal cells // Journal of Clinical Pathology. 1986. No. 39 (8). Pp. 881–890. DOI: 10.1136/jcp.39.8.881.
25. Doty R. T., Phelps S. R., Shadle C., Sanchez-Bonilla M., Keel S. B., Abkowitz J. L. Coordinate expression of heme and globin is essential for effective erythropoiesis // The Journal of Clinical Investigation. 2015. No. 125 (12). Pp. 4681–4691. DOI: 10.1172/JCI83054.
26. Липунова Е. А., Скоркина М. Ю. Система красной крови: Сравнительная физиология. Белгород: Издательство Белгородского государственного университета, 2004. 216 с.
27. Гаврилов О. К. [и др.] Нормальное кроветворение и его регуляция / Под ред. Н. А. Федорова. Москва: Медицина, 1976. 543 с.
28. Rosse C., Trotter J.A. A Cytochemical and Radioautographic Analysis of Erythropoiesis at the Ultrastructural Level // American Journal of Anatomy. 1974. No. 141 (1). Pp. 41–72. DOI: 10.1002/aja.1001410104.
29. Yap K. N., Zhang Y. Revisiting the question of nucleated versus enucleated erythrocytes in birds and mammals // American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology. 2021. No. 321. Pp. 547–557. DOI: 10.1152/ajpregu.00276.2020.
30. Kolesnik E. A., Derkho M. A., Strizhikov V. K., Strizhikova S. V., Gizatullina F. G., Ponomaryova T. A. Differential morphophysiological characteristics of erythrocyte precursors and mature erythroid cells in early postnatal ontogenesis of birds // International Journal of Biology and Biomedical Engineering. 2020. No. 14. Pp. 101–108. DOI: 10.46300/91011.2020.14.15.
31. Колесник Е. А., Дерхо М. А. Характеристика проблематики морфофизиологии клеток крови неонатального онтогенеза кур. Сообщение I. Особенности постэмбрионального кроветворения, различия в подходах и проблематика морфофункционального анализа крови птиц (обзор) // АПК России. 2019. № 26 (4). С. 637–643. DOI: 10.5281/zenodo.4385556.
32. Колесник Е. А., Дерхо М. А. Характеристика проблематики морфофизиологии клеток крови неонатального онтогенеза кур. Сообщение II. Характеристика дифференциальных морфофизиологических маркеров форменных элементов крови птиц // АПК России. 2019. № 26 (4). С. 644–652. DOI: 10.5281/zenodo.4385940.
33. Rothmann C., Cohen A. M., Malik Z. Chromatin Condensation in Erythropoiesis Resolved by Multipixel Spectral Imaging: Differentiation Versus Apoptosis // The Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 1997. No. 45 (8). Pp. 1097–1108. DOI: 10.1177/002215549704500807.
34. Heidarian A., Yousefi E., Somma J. Digital Image Analysis of Nuclear Morphometry in Thyroid Fine Needle Biopsies // Journal of the American Society of Cytopathology. 2017. No. 6 (5). P. S76. DOI: 10.1016/j.jasc.2017.06.189.
35. Hidalgo D. T., Diaz Rojas P. A., Batista M. T., Anta A. S. La densidad óptica nuclear como indicador diagnóstico en el carcinoma papilar de tiroides [e-resource] // Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2020. No. 39 (3). URL: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002020000300013&lng=en&nrn=iso&tlng=es (date of reference: 14.09.2022).
36. Danukalo M. V., Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats' solitary-vagal complex // Journal of Education, Health and Sport. 2019. No. 9 (10). Pp. 132–142. DOI: 10.5281/zenodo.3497436.
37. Shalamay U., Voronych-Semchenko N., Kovalchuk L., Bagriy M. Peculiarities of Morphodensitometric Indices of Epitheliocytes of the Oral Cavity Mucous Membrane in Children with Latent Iron Deficiency and Mild Iodine Deficiency // Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2020. No. 8. Pp. 18–23. DOI: 10.17265/2328-2150/2020.01.004.
38. Потапова С. Г. [и др.] Результаты компьютерной эритроцитометрии при макроцитарной анемии // Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы II Московской региональной научно-практической конференции (с международным участием). Москва, 2009. С. 69–71.
39. Мильто И. В., Шевцова Н. М., Иванова В. В., Серебрякова О. Н., Тахауов Р. М., Суходоло И. В. Гемопозитические клетки костного мозга крыс после внутривенного введения модифицированных хитозаном наночастиц магнетита // Цитология. 2020. № 62 (6). С. 418–427. DOI: 10.31857/S0041377120060061.

40. Глушен С. В., Иванова М. А., Гордиенко Н. С. Фрактальная площадь клеточного ядра в цитометрии опухолей щитовидной железы // Медицинский журнал. 2005. № 4 (14). С. 39–40.
41. Минашкина Т. А. Морфологическая характеристика эритроцитов при экспериментальном гипервитаминозе А // Морфология. 2011. № 139 (2). С. 41–44.
42. Ломановская Т. А., Боронихина Т. В., Яцковский А. Н. Изменения морфологии эритроцитов при передозировке ретинола пальмитата // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). 2020. № 4 (1). С. 46–51. DOI: 10.17116/operhirurg2020401146.
43. Wang Q., Wang J., Zhou M., Li Q., Wen Y., Chu J. A 3D attention networks for classification of white blood cells from microscopy hyperspectral images // Optics and Laser Technology. 2021. No. 139. Article number 106931. DOI: 10.1016/j.optlastec.2021.106931.
44. Каде М. А., Евлевский А. А., Галенко-Ярошевский П. А. Морфометрическая характеристика нейронов спинного мозга и спинальных ганглиев при субарахноидальном введении бупивакаина, мексидола и их сочетания // Кубанский научный медицинский вестник. 2009. № 8 (113). С. 44–48.
45. Могильная Г. М., Дурлештер В. М., Могильная В. Л. Сравнительная характеристика ядер эпителиоцитов пищевода Барретта в зоне «полей эффекта» при различных формах метаплазии // Кубанский научный медицинский вестник. 2013. № 1 (136). С. 125–127.
46. Hübner B. et al. Remodeling of nuclear landscapes during human myelopoietic cell differentiation maintains co-aligned active and inactive nuclear compartments // Epigenetics & Chromatin. 2015. No. 8 (47). DOI: 10.1186/s13072-015-0038-0.
47. Imai R. et al. Density imaging of heterochromatin in live cells using orientation-independent-DIC microscopy // Molecular Biology of the Cell. 2017. No. 28 (23). Pp. 3349–3359. DOI: 10.1091/mbc.E17-06-0359.
48. Kaminskyi V. Morphodensitometric features of peripheral blood lymphocytes in patients with primary glomerulonephritis // Nephrology Dialysis Transplantation. 2020. Vol. 35. Iss. Supplement_3. DOI: 10.1093/ndt/gfaa142.P0454.
49. Луценко М. Т. Динамика оптической плотности гемоглобина в эритроцитах периферической крови больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2010. № 35. С. 29–30.
50. Ветровой О. В., Тюлькова Е. И., Стратилев В. А., Баранова К. А., Самойлов М. О. Особенности метилирования ДНК и гистона H3 в мозге крыс в ответ на тяжелую гипобарическую гипоксию и гипоксическое посткондиционирование // Цитология. 2019. № 61 (10). С. 837–844. DOI: 10.1134/S0041377119080078.
51. Тюлькова Е. И., Ватаева Л. А., Стратилев В. А., Барышева В. С., Ветровой О. В. Особенности метилирования ДНК и гистона H3 в гиппокампе и неокортексе крыс, переживших патологические воздействия в пренатальном периоде развития // Нейрохимия. 2020. № 37 (1). С. 64–74. DOI: 10.31857/S1027813320010197.
52. Белик И. А. Влияние высокой дозы тартразина на изменение ультрамикроскопических показателей селезенки и тимуса половозрелых крыс-самцов // Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. 2020. № 18 (4). С. 6–12.
53. Owen J. C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review // Journal of Field Ornithology. 2011. No. 82 (4). Pp. 339–354. DOI: 10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x.
54. Mulisch M. Romeis Mikroskopische Technik. 19. Auflage / Edited by M. Mulisch, U. Welsch. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum, 2015. 611 p. DOI: 10.1007/978-3-642-55190-1.
55. Markaki Y. Light Microscopy. Methods and protocols. Series: Methods in molecular biology / Edited by Y. Markaki, H. Harz. New York: Humana Press – Springer Protocols, 2017. 285 p. DOI: 10.1007/978-1-4939-6810-7.
56. Кириллова И. А., Кириллов Д. В. Репродуктивная биология *Platanthera bifolia* (L.) Rich. (Orchidaceae) на северной границе ареала (Республика Коми) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2017. № 38. С. 68–88. DOI: 10.17223/19988591/38/4.
57. Abushmmala F., Alhanjouri M. Colour Based Segmentation of Red Blood Cells using K-means and Image Morphological Operations // International Journal of Advanced and Innovative Research. 2013. No. 2 (11). Pp. 344–350.
58. Zhang C. et al. White Blood Cell Segmentation by Color-Space-Based K-Means Clustering // Sensors. 2014. No. 14. Pp. 16128–16147. DOI: 10.3390/s140916128.
59. Bailo O., Ham D.-S., Min Shin Y. Red blood cell image generation for data augmentation using Conditional Generative Adversarial Networks // arXiv:1901.06219v2 [cs.CV]. 2019. DOI: 10.48550/arXiv.1901.06219.
60. Дьяченко А. А., Рябухо В. П. Цветовые модели представления полихроматических интерференционных изображений тонких слоистых объектов в оптической микроскопии // Компьютерная оптика. 2019. № 43 (6). С. 956–967. DOI: 10.18287/2412-6179-2019-43-6-956-967.

61. Соколова И. Б., Полинцев Д. Г. Эффективность применения мезенхимных стволовых клеток для улучшения микроциркуляции в коре головного мозга спонтанно гипертензивных крыс // Цитология. 2017. № 59 (4). С. 279–284.
62. Жукоцкий А. В., Строгалов А. С., Коган Э. М., Николаева Е. А., Анисимов М. П., Якубова Н. И. О проблеме объективизации цитологической диагностики с помощью оптоэлектронных систем (морфоденситометрический метод) // Интеллектуальные системы. 1998. № 3 (3-4). С. 233–250.
63. Chiarini-Garcia H. Light Microscopy. Methods and protocols. Series: Methods in molecular biology / Edited by H. Chiarini-Garcia, R. C. N. Melo. New York: Humana Press – Springer Protocols, 2011. 244 p. DOI: 10.1007/978-1-60761-950-5.

Об авторах:

Евгений Анатольевич Колесник¹, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии, этологии и биохимии животных, ORCID 0000-0002-2326-651X, AuthorID 791884; +7 952 528-33-29, evgeniy251082@mail.ru

Марина Аркадьевна Дерхо², доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой естественно-научных дисциплин, ORCID 0000-0003-3818-0556, AuthorID 310613; +7 908 047-10-30, derkho2010@yandex.ru

Максим Борисович Ребезов^{3,4}, доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник³, профессор кафедры биотехнологии и пищевых продуктов⁴, ORCID 0000-0003-0857-5143, AuthorID 419764; +7 999 900-23-65, rebezov@ya.ru

¹ Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва, Россия

² Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия

³ Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

⁴ Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

References

1. Grigor'ev S. A., Popova E. Yu. Srodstvo podobiy: mekhanizmy samoassotsiatsii i kompartmentalizatsii eukarioticheskogo khromatina [Affinity of similarities: mechanisms of self-association and compartmentalization of eukaryotic chromatin] // Molecular biology. 2019. No. 53 (6). Pp. 933–953. DOI: 10.1134/S0026898419060053. (In Russian.)
2. Khabarova A. A., Ryzhkova A. S., Battulin N. R. Reorganizatsiya khromatina v protsesse eritroidnoy differentsirovki [Reorganization of chromatin in the process of erythroid differentiation] // Vavilov Journal of Genetics and Selection. 2019. No. 23 (1). Pp. 95–99. DOI: 10.18699/VJ19.467. (In Russian.)
3. Sanders T. J. et al. Extended Archaeal Histone-Based Chromatin Structure Regulates Global Gene Expression in *Thermococcus kodakarensis* // Frontiers in Microbiology. 2021. No. 12. Article number 681150. DOI: 10.3389/fmicb.2021.681150.
4. Rzhepakovskiy I. V., Timchenko L. D., Piskov S. I., Avanesyan S. S., Sizonenko M. N., Shakhbanov M. Sh., Nagdalyan A. A., Rebezov M. B. Trekhmernaya rentgenovskaya mikrotomografiya serdtsa kurinogo embriona v rannem periode embriogeneza [Three-dimensional X-ray microtomography of the heart of a chicken embryo in the early period of embryogenesis] // Agrarian Science. 2023. No. 1 (10). Pp. 24–29. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-375-10-24-29. (In Russian.)
5. Bell S. G. An introduction to hemoglobin physiology // Neonatal Network. 1999. No. 18 (2). Pp. 9–15. DOI: 10.1891/0730-0832.18.2.9.
6. Ponka P. et al. Erythropoiesis, Hemoglobin Synthesis, and Erythroid Mitochondrial Iron Homeostasis // In: Handbook of Porphyrin Science: with Applications to Chemistry, Physics, Materials Science, Engineering, Biology and Medicine. Santa Barbara: World Scientific, 2013. № 27. Pp. 41–84. DOI: 10.1142/9789814407755_0011.
7. Kumari A. Heme Synthesis (Chapter 8) // In: Sweet Biochemistry: Remembering Structures, Cycles, and Pathways by Mnemonics. London: Academic Press, Elsevier Science, 2018. Pp. 33–36. DOI: 10.1016/B978-0-12-814453-4.00008-X.
8. Ryzhkova A., Taskina A., Khabarova A., Fishman V., Battulin N. Erythrocytes 3D genome organization in vertebrates // Scientific Reports. 2021. No. 11 (1). Article number 4414. DOI: 10.1038/s41598-021-83903-9.
9. Nizovtseva E. V., Gerasimova N. S., Studitskiy V. M. Vliyanie atsetilirovaniya gistona N4 na distantsionnye vzaimodeystviya v khromatine [The influence of histone H4 acetylation on long-distance interactions in chromatin] // Herald of Moscow University. Series 16. Biology. 2019. No. 74 (4). Pp. 308–312. DOI: 10.3103/S0096392519040114. (In Russian.)

10. Takahata S., Murakami Y. Opposing Roles of FACT for Euchromatin and Heterochromatin in Yeast // *Biomolecules*. 2023. No. 13. Article number 377. DOI: 10.3390/biom13020377.
11. Gasparotto M., Lee Y.-S., Palazzi A., Vacca M., Filippini F. Nuclear and Cytoplasmic Players in Mitochondria-Related CNS Disorders: Chromatin Modifications and Subcellular Trafficking // *Biomolecules*. 2022. No. 12 (5). Article number 625. DOI: 10.3390/biom12050625.
12. Krasikova A. V., Kulikova T. V. Raspredelenie markerov geterokhromatina v khromosomakh tipa lampovyykh shchetok u ptits [Distribution of heterochromatin markers in lampbrush chromosomes in birds] // *Genetics*. 2017. No. 53 (9). Pp. 1077–1085. DOI: 10.7868/S0016675817090077. (In Russian.)
13. Zhang Z., Zhang R., Xiao K., Sun X. G4Beacon: An In Vivo G4 Prediction Method Using Chromatin and Sequence Information // *Biomolecules*. 2023. No. 13 (2). Article number 292. <https://doi.org/10.3390/biom13020292>.
14. Gasser S. M. Visualizing Chromatin Dynamics in Interphase Nuclei. *Science*. 2002. No. 296 (5572). Pp. 1412–1416. DOI: 10.1126/science.1067703.
15. Yeo J. H., Lam Y. W., Fraser S. T. Cellular dynamics of mammalian red blood cell production in the erythroblastic island niche // *Biophysical Reviews*. 2019. No. 11 (6). Pp. 873–894. DOI: 10.1007/s12551-019-00579-2.
16. Manteyfel' V. M., Karu T. Y. Snizhenie kompaktizatsii kondensirovannogo khromatina v limfotsitakh cheloveka pod vliyaniem nizkointensivnogo izlucheniya He-Ne lazera [Reduced compaction of condensed chromatin in human lymphocytes under the influence of low-intensity radiation from a He-Ne laser] // *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Series Biological*. 2009. No. 6. Pp. 654–661. DOI: 10.1134/S1062359009060028. (In Russian.)
17. Antonova E. I. et al. Osobennosti reorganizatsii khromatina yader i pokazateley kletochnoy tsikla gepatotsitov pecheni ryb posle vozdeystviya vysokoy vneshney temperatury [Features of nuclear chromatin reorganization and cell cycle indicators of fish liver hepatocytes after exposure to high external temperature] [e-resource] // *Modern Problems of Science and Education. Surgery*. 2012. No. 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=7469> (date of reference: 05.09.2022). (In Russian.)
18. Lehmann R. R., Nienhaus R. H., Dénes R. M., Steinbach T. Changes of euchromatin/heterochromatin ratios in cell nuclei of the aortic adventitia in diabetic rats // *Artery*. 1987. No. 14 (2). Pp. 66–75.
19. De la Iglesia Inigo S., Moreno-Carralero M.-I., Lemes-Castellano A., Molero-Labarta T., Méndez M., Morán-Jiménez M.-J. A case of congenital dyserythropoietic anemia type IV // *Clinical Case Reports*. 2017. No. 5 (3). Pp. 248–252. DOI: 10.1002/ccr3.825.
20. Kimura F. et al. Image quantification technology of the heterochromatin and euchromatin region for differential diagnosis in the lobular endocervical glandular hyperplasia // *Diagnostic Cytopathology*. 2019. No. 47 (6). DOI: 10.1002/dc.24155.
21. Schreier S., Budchart P., Borwornpinyo S., Arpornwirat W., Triampo W. Circulating erythroblast abnormality associated with systemic pathologies may indicate bone marrow damage // *Journal of Circulating Biomarkers*. 2021. No. 10. Pp. 14–19. DOI: 10.33393/jcb.2021.2220.
22. Gasparyan S. A., Popova O. S., Vasilenko I. A., Khripunova A. A., Metelin V. B. Otsenka fenotipa interfaznykh yader limfotsitov metodom kolichestvennogo fazovogo imidzhinga (QPI) u patsientok s endometrioidnymi kistami yaichnikov [Evaluation of the phenotype of interphase nuclei of lymphocytes using the quantitative phase imaging (QPI) method in patients with endometrioid ovarian cysts] // *Almanac of Clinical Medicine*. 2017. No. 45 (2). Pp. 109–117. DOI: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-109-117. (In Russian.)
23. Kozovyy R. V., Pertsovich V. M., Koval'chuk L. E., Bagriy M. M. Analiz morfodensitometricheskie pokazateley sostoyaniya genoma limfotsitov periferieskoy krovi dolgozhiteley Prikarpat'ya [Analysis of morphodensitometric indicators of the state of the genome of peripheral blood lymphocytes in long-livers of the Carpathian region] // *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2013. No. 11 (2). Pp. 29–32. (In Russian.)
24. Wickramasinghe S. N., Pippard M. J. Studies of erythroblast function in congenital dyserythropoietic anaemia, type I: evidence of impaired DNA, RNA, and protein synthesis and unbalanced globin chain synthesis in ultrastructurally abnormal cells // *Journal of Clinical Pathology*. 1986. No. 39 (8). Pp. 881–890. DOI: 10.1136/jcp.39.8.881.
25. Doty R. T., Phelps S. R., Shadle C., Sanchez-Bonilla M., Keel S. B., Abkowitz J. L. Coordinate expression of heme and globin is essential for effective erythropoiesis // *The Journal of Clinical Investigation*. 2015. No. 125 (12). Pp. 4681–4691. DOI: 10.1172/JCI83054.
26. Lipunova E. A., Skorkina M. Yu. Sistema krasnoy krovi: Sravnitel'naya fiziologiya [Red blood system: Comparative physiology]. Belgorod: Izdatel'stvo Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta 2004. 216 p. (In Russian.)
27. Gavrilov O. K. et al. Normal'noe krovetvorenie i ego regulyatsiya [Normal hematopoiesis and its regulation] / Ed. by N. A. Fedorova. Moscow: Meditsina, 1976. 543 p. (In Russian.)

28. Rosse C., Trotter J.A. A Cytochemical and Radioautographic Analysis of Erythropoiesis at the Ultrastructural Level // *American Journal of Anatomy*. 1974. No. 141 (1). Pp. 41–72. DOI: 10.1002/aja.1001410104.
29. Yap K. N., Zhang Y. Revisiting the question of nucleated versus enucleated erythrocytes in birds and mammals // *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2021. No. 321. Pp. 547–557. DOI: 10.1152/ajpregu.00276.2020.
30. Kolesnik E. A., Derkho M. A., Strizhikov V. K., Strizhikova S. V., Gizatullina F. G., Ponomaryova T. A. Differential morphophysiological characteristics of erythrocyte precursors and mature erythroid cells in early postnatal ontogenesis of birds // *International Journal of Biology and Biomedical Engineering*. 2020. No. 14. Pp. 101–108. DOI: 10.46300/91011.2020.14.15.
31. Kolesnik E. A., Derkho M. A. Kharakteristika problematiki morfofiziologii kletok krovi neonatal'nogo ontogeneza kur. Soobshchenie I. Osobennosti postembrional'nogo krovetvoreniya, razlichiya v podkhodakh i problematika morfofunktional'nogo analiza krovi ptits (obzor) [Characteristics of the problems of morphophysiology of blood cells of neonatal ontogenesis of chickens. Message I. Features of postembryonic hematopoiesis, differences in approaches and problems of morphofunctional analysis of bird blood (review)] // *Agro-Industrial Complex of Russia*. 2019. No. 26 (4). Pp. 637–643. DOI: 10.5281/zenodo.4385556. (In Russian.)
32. Kolesnik E. A., Derkho M. A. Kharakteristika problematiki morfofiziologii kletok krovi neonatal'nogo ontogeneza kur. Soobshchenie II. Kharakteristika differentsial'nykh morfofiziologicheskikh markerov formennykh elementov krovi ptits [Characteristics of the problems of morphophysiology of blood cells of neonatal ontogenesis of chickens. Message II. Characteristics of differential morphophysiological markers of blood cells in birds] // *Agro-Industrial Complex of Russia*. 2019. No. 26 (4). Pp. 644–652. DOI: 10.5281/zenodo.4385940. (In Russian.)
33. Rothmann C., Cohen A. M., Malik Z. Chromatin Condensation in Erythropoiesis Resolved by Multipixel Spectral Imaging: Differentiation Versus Apoptosis // *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1997. No. 45 (8). Pp. 1097–1108. DOI: 10.1177/002215549704500807.
34. Heidarian A., Yousefi E., Somma J. Digital Image Analysis of Nuclear Morphometry in Thyroid Fine Needle Biopsies // *Journal of the American Society of Cytopathology*. 2017. No. 6 (5). P. S76. DOI: 10.1016/j.jasc.2017.06.189.
35. Hidalgo D. T., Diaz Rojas P. A., Batista M. T., Anta A. S. La densidad óptica nuclear como indicador diagnóstico en el carcinoma papilar de tiroides [e-resource] // *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2020. No. 39 (3). URL: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002020000300013&lng=en&nrn=iso&tlng=es (date of reference: 14.09.2022).
36. Danukalo M. V., Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats' solitary-vagal complex // *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. No. 9 (10). Pp. 132–142. DOI: 10.5281/zenodo.3497436.
37. Shalamay U., Voronych-Semchenko N., Kovalchuk L., Bagriy M. Peculiarities of Morphodensitometric Indices of Epitheliocytes of the Oral Cavity Mucous Membrane in Children with Latent Iron Deficiency and Mild Iodine Deficiency // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2020. No. 8. Pp. 18–23. DOI: 10.17265/2328-2150/2020.01.004.
38. Potapova S. G. et al. Rezul'taty komp'yuternoy eritrotsitometrii pri makrotsitarnoy anemii [Results of computer erythrocytometry for macrocytic anemia] // *Tsitomorfometriya v meditsine i biologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty: materialy II Moskovskoy regional'noy nauchno-prakticheskoy konferentsii (c mezhdunarodnym uchastiem)*. Moscow, 2009. Pp. 69–71. (In Russian.)
39. Mil'to I. V., Shevtsova N. M., Ivanova V. V., Serebryakova O. N., Takhauov R. M., Sukhodolo I. V. Gemopoeticheskie kletki kostnogo mozga krysa posle vnutrivennogo vvedeniya modifitsirovannykh khitozanom nanochastits magnetite [Hematopoietic cells of rat bone marrow after intravenous administration of chitosan-modified magnetite nanoparticles] // *Cytology*. 2020. No. 62 (6). Pp. 418–427. DOI: 10.31857/S0041377120060061. (In Russian.)
40. Glushen S. V., Ivanova M. A., Gordienko N. S. Fraktal'naya ploshchad' kletchnogo yadra v tsitometrii opukholey shchitovidnoy zhelezy [Fractal area of the cell nucleus in cytometry of thyroid tumors] // *Meditsinskiy zhurnal*. 2005. No. 4 (14). Pp. 39–40. (In Russian.)
41. Minashkina T. A. Morfologicheskaya kharakteristika eritrotsitov pri eksperimental'nom gipervitaminoze A [Morphological characteristics of erythrocytes in experimental hypervitaminosis A] // *Morphology*. 2011. No. 139 (2). Pp. 41–44. (In Russian.)
42. Lomanovskaya T. A., Boronikhina T. V., Yatskovskiy A. N. Izmeneniya morfologii eritrotsitov pri peredozirovke retinola pal'mitata [Changes in the morphology of erythrocytes with an overdose of retinol palmitate] // *Russian Journal of Operative Surgery and Clinical Anatomy*. 2020. No. 4 (1). Pp. 46–51. DOI: 10.17116/operhirurg2020401146. (In Russian.)
43. Wang Q., Wang J., Zhou M., Li Q., Wen Y., Chu J. A 3D attention networks for classification of white blood cells from microscopy hyperspectral images // *Optics and Laser Technology*. 2021. No. 139. Article number 106931. DOI: 10.1016/j.optlastec.2021.106931.

44. Kade M. A., Evglevskiy A. A., Galenko-Yaroshevskiy P. A. Morfometricheskaya kharakteristika neyrov spinnoy mozga i spinal'nykh gangliov pri subarakhnoidal'nom vvedenii bupivakaina, meksidola i ikh sochetaniya [Morphometric characteristics of neurons of the spinal cord and spinal ganglia during subarachnoid administration of bupivacaine, Mexidol and their combinations] // *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2009. No. 8 (113). Pp. 44–48. (In Russian.)
45. Mogil'naya G. M., Durlshter V. M., Mogil'naya V. L. Sravnitel'naya kharakteristika yader epiteliotsitov pishchevoda Barretta v zone "poley efekta" pri razlichnykh formakh metaplazii [Comparative characteristics of the nuclei of epithelial cells of Barrett's esophagus in the zone of "effect fields" in various forms of metaplasia] // *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2013. No. 1 (136). Pp. 125–127. (In Russian.)
46. Hübner B. et al. Remodeling of nuclear landscapes during human myelopoietic cell differentiation maintains co-aligned active and inactive nuclear compartments // *Epigenetics & Chromatin*. 2015. No. 8 (47). DOI: 10.1186/s13072-015-0038-0.
47. Imai R. et al. Density imaging of heterochromatin in live cells using orientation-independent-DIC microscopy // *Molecular Biology of the Cell*. 2017. No. 28 (23). Pp. 3349–3359. DOI: 10.1091/mbc.E17-06-0359.
48. Kaminskyi V. Morphodensitometric features of peripheral blood lymphocytes in patients with primary glomerulonephritis // *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2020. Vol. 35. Iss. Supplement_3. DOI: 10.1093/ndt/gfaa142.P0454.
49. Lutsenko M. T. Dinamika opticheskoy plotnosti gemoglobina v eritrotsitakh perifericheskoy krovi bol'nykh bronkhial'noy astmoy [Dynamics of the optical density of hemoglobin in the erythrocytes of peripheral blood of patients with bronchial asthma] // *Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*. 2010. No. 35. Pp. 29–30. (In Russian.)
50. Vetrovoy O. V., Tyul'kova E. I., Stratilov V. A., Baranova K. A., Samoylov M. O. Osobennosti metilirovaniya DNK i gistona N3 v mozge kryis v otvet na tyazheluyu gipobaricheskuyu gipoksiyu i gipoksicheskoe postkonditsionirovanie [Features of DNA methylation and histone H3 in the brain of rats in response to severe hypobaric hypoxia and hypoxic postconditioning] // *Cytology*. 2019. No. 61 (10). Pp. 837–844. DOI: 10.1134/S0041377119080078. (In Russian.)
51. Tyul'kova E. I., Vataeva L. A., Stratilov V. A., Barysheva V. S., Vetrovoy O. V. Osobennosti metilirovaniya DNK i gistona N3 v gippokampe i neokortekse kryis, perezhyvshikh patologicheskie vozdeystviya v prenatal'nom periode razvitiya [Features of DNA methylation and histone H3 in the hippocampus and neocortex of rats that survived pathological influences in the prenatal period of development] // *Neyrokhiimiya*. 2020. No. 37 (1). Pp. 64–74. DOI: 10.31857/S1027813320010197. (In Russian.)
52. Belik I. A. Vliyaniye vysokoy dozy tartrazina na izmeneniye ul'tramikroskopicheskikh pokazateley selezenki i timusa polovozrelykh kryis-samtsov [Effect of a high dose of tartrazine on changes in ultramicroscopic parameters of the spleen and thymus of mature male rats] // *Morfologicheskii al'manakh imeni V. G. Koveshnikova*. 2020. No. 18 (4). Pp. 6–12. (In Russian.)
53. Owen J. C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review // *Journal of Field Ornithology*. 2011. No. 82 (4). Pp. 339–354. DOI: 10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x.
54. Mulisch M. *Romeis Mikroskopische Technik*. 19. Auflage / Edited by M. Mulisch, U. Welsch. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum, 2015. 611 p. DOI: 10.1007/978-3-642-55190-1.
55. Markaki Y. *Light Microscopy. Methods and protocols*. Series: Methods in molecular biology / Edited by Y. Markaki, H. Harz. New York: Humana Press – Springer Protocols, 2017. 285 p. DOI: 10.1007/978-1-4939-6810-7.
56. Kirillova I. A., Kirillov D. V. Reproktivnaya biologiya *Platanthera bifolia* (L.) Rich. (Orchidaceae) na severnoy granitse areala (Respublika Komi) [Reproductive biology of *Platanthera bifolia* (L.) Rich. (Orchidaceae) on the northern border of the range (Komi Republic)] // *Tomsk State University Journal of Biology*. 2017. No. 38. Pp. 68–88. DOI: 10.17223/19988591/38/4. (In Russian.)
57. Abushmala F., Alhanjouri M. Colour Based Segmentation of Red Blood Cells using K-means and Image Morphological Operations // *International Journal of Advanced and Innovative Research*. 2013. No. 2 (11). Pp. 344–350.
58. Zhang C. et al. White Blood Cell Segmentation by Color-Space-Based K-Means Clustering // *Sensors*. 2014. No. 14. Pp. 16128–16147. DOI: 10.3390/s140916128.
59. Bailo O., Ham D.-S., Min Shin Y. Red blood cell image generation for data augmentation using Conditional Generative Adversarial Networks // *arXiv:1901.06219v2 [cs.CV]*. 2019. DOI: 10.48550/arXiv.1901.06219.
60. D'yachenko A. A., Ryabukho V. P. Tsvetovyye modeli predstavleniya polikhromaticheskikh interferentsionnykh izobrazheniy tonkikh sloistykh ob'ektov v opticheskoy mikroskopii [Color models for representing polychromatic interference images of thin layered objects in optical microscopy] // *Computer Optics*. 2019. No. 43 (6). Pp. 956–967. DOI: 10.18287/2412-6179-2019-43-6-956-967. (In Russian.)

61. Sokolova I. B., Polyntsev D. G. Effektivnost' primeneniya mezenkhimnykh stvolovykh kletok dlya uluchsheniya mikrotsirkulyatsii v kore golovnogo mozga spontanno gipertenzivnykh kryss [Efficiency of using mesenchymal stem cells to improve microcirculation in the cerebral cortex of spontaneously hypertensive rats] // *Cytology*. 2017. No. 59 (4). Pp. 279–284. (In Russian.)
62. Zhukotskiy A. V., Strogalov A. S., Kogan E. M., Nikolaeva E. A., Anisimov M. P., Yakubova N. I. O probleme ob'ektivizatsii tsitologicheskoy diagnostiki s pomoshch'yu optoelektronnykh sistem (morfodensitometricheskoy metod) [About the problem of objectification of cytological diagnostics using optoelectronic systems (morphodensitometric method)] // *Intelligent systems*. 1998. No. 3 (3-4). Pp. 233–250. (In Russian.)
63. Chiarini-Garcia H. Light Microscopy. Methods and protocols. Series: Methods in molecular biology / Edited by H. Chiarini-Garcia, R. C. N. Melo. New York: Humana Press – Springer Protocols, 2011. 244 p. DOI: 10.1007/978-1-60761-950-5.

Autors' information:

Evgeniy A. Kolesnik¹, doctor of biological sciences, professor of the department of physiology, ethology and biochemistry of animals, ORCID 0000-0002-2326-651X, AuthorID 791884; +7 952 528-33-29, evgeniy251082@mail.ru

Marina A. Derkho², doctor of biological sciences, professor, head of the department of natural sciences, ORCID 0000-0003-3818-0556, AuthorID 310613; +7 908 047-10-30, derkho2010@yandex.ru

Maksim B. Rebezov^{3,4}, doctor of agricultural sciences, candidate of veterinary sciences, professor, chief researcher³, professor of the department of biotechnology and food products⁴, ORCID 0000-0003-0857-5143, AuthorID 419764; +7 999 900-23-65, rebezov@ya.ru

¹Russian State Agrarian University – Moscow State Agricultural Academy named after K. A. Timiryazev, Moscow, Russia

²South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia

³V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia