

Министерство образования и науки Российской Федерации

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

Неинвазивная диагностика сердечного ритма куриного эмбриона

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента 4 курса 435 группы

направления 12.03.04 «Биотехнические системы и технологии»

физического факультета

Аникеева Игоря Алексеевича

Научный руководитель

д. ф.-м. н., профессор

22.06.17

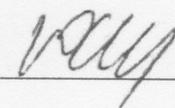


Д.Э. Постнов

Зав. кафедрой

д. ф.-м. н., профессор

22.06.17



В.В. Тучин

Саратов 2017

Введение

Задача неинвазивной диагностики сердечного ритма куриного эмбриона является актуальной ввиду того, что максимально исключается воздействие внешних факторов на частоту сердечных сокращений и появляется возможность моделировать различные ситуации и исследовать действие подконтрольных внешних воздействий на частоту сердечных сокращений куриного эмбриона. Также неинвазивные способы диагностики сердечного ритма очень удобны при разведении редких пород птиц, так как не несут в себе риск нанесения вреда развивающемуся эмбриону.

Целью выпускной квалификационной работы является исследование возможных способов неинвазивной диагностики сердечного ритма куриного эмбриона.

Задачами, которые должны выполняться в процессе выполнения выпускной квалификационной работы являются анализ литературы и научных работ по теме, выбор метода диагностики, подбор аппаратуры, проведение эксперимента и анализ полученных результатов.

Работа состоит из введения, четырёх глав (1.Строение куриного яйца с эмбрионом, 2.Развитие сердечно-сосудистой системы эмбриона и формирование сердечного ритма, 3.Способы неинвазивной диагностики сердечного ритма куриного эмбриона, 4.Экспериментальная часть), заключения, списка использованных источников.

Основное содержание работы

В первой главе описано строение куриного яйца с эмбрионом.

Яйцо представляет собой сложную систему, содержащую все необходимые элементы для развития и роста в нём живого организма, это своего рода совершенный механизм, предназначенный для рождения новой жизни. Яйца птиц одинаковы по строению и различаются лишь размерами и химическим составом. Основными элементами яйца являются: оболочка или скорлупа с внешней скорлуповой оболочкой, воздушная камера (пуга), белок, желток с зародышевым диском.

Во второй главе рассмотрено Развитие сердечно-сосудистой системы эмбриона и формирование сердечного ритма.

Начало процесса развития эмбриона происходит уже тогда, когда яйцо ещё находится в яйцевом и продолжается в течение 24-27 часов при температуре тела курицы 40,5-41°C.

Ранние признаки формирования крови и кровеносных сосудов проявляются в области источника питания куриного эмбриона. Кровяные островки появляются в желточном мешке к концу первого дня инкубации.

Участок, образующий сердце, метаболически дифференцируется уже к 18—19 часу инкубации. У 19-22-часового куриного эмбриона парные сердцеобразующие участки представляют собой отдельные гроздьез мезодермальных клеток, которые к 26 часам образуют зачатки эндокарда — трубки толщиной в одну клетку.

У 29-30-часового эмбриона сердце имеет форму трубки.

Средняя часть сердца к 33 час. инкубации значительно расширяется и частично сдвигается вправо, а к 38 час. настолько отклонена вправо, что выходит за пределы боковой линии эмбриона.

Сердце 30-33-часового эмбриона начинает судорожно подергиваться.

В период между 30 и 55 час. инкубации сердце куриного эмбриона растет быстрее, чем та часть тела, в котором оно находится. В связи с тем, что головной и хвостовой концы сердечной трубки закреплены сосудами, неприкрепленная средняя желудочковая часть сердца делает сначала U-образный изгиб, а затем скручивается петлей.

В течение 4-го дня в предсердии образуется бороздка, делящая предсердие на правое и левое. Одновременно появляется и продольная бороздка на желудочке. Четырехкамерное сердце появляется позже, но начинается этот процесс уже на 4-й день инкубации, когда между предсердиями начинает расти перегородка. Межжелудочковая перегородка, представляющая собой губчатую массу клеток у верхушки желудочка, возникает на 4-й и достигает предсердного канала на дорсальной стороне на 5-

й день инкубации. Отверстие между правым и левым желудочками постепенно уменьшается в размере и к 8-му дню развития куриного эмбриона они разделены полностью.

На 6-8-й день развития эмбриональное кровообращение усложняется в связи с изменением строения сердца и основных сосудов.

В развитии сердечной деятельности у куриного эмбриона можно установить следующие стадии:

1) Стадия пульсации эндотелиальной трубки. Она продолжается со 2-го до 8-го дня, когда в эмбрионе в целом и в сердце в частности еще не окончательно сформированы нервно-мышечные элементы. На этой стадии пульсация сердца зависит в основном от физических (температура и давление жидкости в эндотелиальной трубке) и химических (ионно-солевых) условий среды. Раздражение сердца в начале этой стадии вызывает быструю его гибель. Ритм пульса неравномерный.

2) Стадия мышечно-гуморальной, в том числе гормональной, регуляции сердечной деятельности. она продолжается 8-го дня до конца инкубации. Дифференцированная реакция предсердий и желудочков на местное раздражение их электрическим током наблюдалась также с 8-го дня. С 9-11-го дня сердечный ритм становится более равномерным.

Ритм пульсации сердца куриных эмбрионов имеет большие индивидуальные колебания, что и отражается в наблюдаемых разными авторами данных о количестве сокращений сердца в минуту.

В третьей главе приведены способы неинвазивной диагностики сердечного ритма куриного эмбриона.

Для неинвазивной диагностики сердечного ритма куриного эмбриона было предпринято много различных методов регистрации частоты сердечных сокращений, таких, как снятие электрокардиограммы с яйца, методы баллистокардиографии и акустокардиографии, наблюдение *in vivo* при помощи магнитно-резонансной томографии. Также возможно использование цифрового монитора для яиц, в котором для диагностики используется

регистрация интенсивности инфракрасного света, проходящего через яйцо, и методов, основанных на регистрации спекл-картин.

При записи электрокардиограммы с использованием усилителя удаётся получить грубую кардиограмму эмбриона уже на ранней стадии развития, по которой можно судить о частоте сердечных сокращений. Когда сигналы электрокардиограммы изменяются из-за движений эмбриона, усиление усилителя и ширина полосы пропускания фильтра изменяются для улучшения отношения сигнал-шум или увеличения амплитуды QRS-волн для подсчета частоты сердечных сокращений. Однако, амплитуда сигналов QRS слишком мала, чтобы определить частоту сердечных сокращений куриных эмбрионов моложе 5 дней инкубации.

Существуют методы измерения частоты сердечных сокращений путём записи баллистокардиограммы. Когда сердце эмбриона сжимается и выбрасывает кровь в аорту, отдача и воздействие крови качает тело эмбриона, погруженного во внеэмбриональные жидкости. Движения эмбриона распространяются на яичную скорлупу, производя мелкие баллистические движения яйца. Запись кардиогенных баллистических движений можно производить при помощи лазерного спеклметра или лазерного измерителя смещения.

Сигнал акустокардиограммы детектирует изменение акустического давления через яичную скорлупу, которое можно зарегистрировать во второй половине периода инкубации, было установлено, что оно синхронно с сердечными сокращениями эмбриона. Акустокардиограмма регистрируется при помощи герметичного конденсаторного микрофона, который должен крепиться на яйцо с начала второй половины периода инкубации.

Принцип работы цифрового монитора для яиц основан на измерении количества инфракрасного света, поглощенного эмбриональной кровью при прохождении через яйцо. Цифровой монитор для яиц состоит из корпуса и измерительной камеры. Яйцо тупым концом помещается на резиновое кольцо над центрированным световым датчиком. Инфракрасный источник света

расположен с одной стороны камеры. Когда камера закрыта, инфракрасный свет направляется на яйцо и проходит через его содержимое. Во время каждого импульса в эмбрионе инфракрасный свет поглощается эмбриональной кровью в различной степени. Чистое количество инфракрасного света, проходящего через яйцо, регистрируется датчиком. Во второй половине инкубационного периода эмбрион становится слишком плотным для того, чтобы пропускать инфракрасное излучение. В этот момент свет, проходящий через хориоаллантаоидную мембрану, поглощается и отражается содержащимися в нем сосудами. Количество отраженного света затем измеряется датчиком.

Наряду с вышеописанными способами была основана система обнаружения движений яиц, связанных с сердечными сокращениями эмбриона, путем измерения флуктуации интенсивности спекл-эффекта, который происходит вблизи яйца при лазерном освещении.

Для изучения *in vivo* эмбрионального развития в целом и развития сердечно-сосудистой системы со временем в частности, возможно использование магнитно-резонансной томографии. Магнитно-резонансная томография открывает широкие возможности для исследования основных периодов развития куриного эмбриона, так как позволяет получить большое количество информации, вплоть до получения объёмной трёхмерной компьютерной модели в реальном времени и измерения температуры. В том числе, с её помощью можно диагностировать сердечный ритм эмбриона.

В четвертой главе описан метод исследования и экспериментальная установка, процесс проведения эксперимента, процесс обработки полученных в результате эксперимента данных и сделан вывод о результатах проделанной работы.

В процессе выполнения данной выпускной квалификационной работы была произведена попытка зафиксировать сердцебиение куриного эмбриона путём регистрации баллистических колебаний яйца, которые возникают в процессе сокращения сердца эмбриона.

Экспериментальная установка состоит из лазера, который жестко закреплён на основании, при необходимости его положение можно изменять. К этому же основанию прикреплена гибкая стрела из пластика, которая может совершать колебания в вертикальной плоскости. На стреле находится подвеска, в которую во время проведения эксперимента помещается яйцо. На конце стрелы закреплена выпуклая отражающая поверхность, которая направляет падающий на неё лазерный луч на удаленную плоскость, выполняющую роль экрана. На экране, помимо основного лазерного пятна, наблюдаются спеклы, появление которых объясняется неидеальной отражательной способностью отражающей поверхности. Колебания спеклов, отражающие колебания стрелы, были записаны с помощью камеры, подключенной к компьютеру. Было решено записывать именно спеклы, так как центральное лазерное пятно было слишком ярким, что могло помешать при обработке результатов. Колебания спеклов записывались с помощью камеры, подключенной к компьютеру.

При проведении каждого эксперимента с яйцом, в котором находился эмбрион, с помощью камеры было записано 1000 кадров с частотой 15 кадров в секунду. Для экспериментов с сырым яйцом без эмбриона было записано по 500 кадров с частотой 15 кадров в секунду. Полученные изображения обрабатывались при помощи GNU Octave.

Первая запись была сделана для яйца с эмбрионом, подвешенного на расстоянии 25см. от края стрелы. График полученных и обработанных результатов представлен на рисунке 1. По оси абсцисс откладывается номер изображения, по оси ординат средняя интенсивность пикселей в целых числах для соответствующего изображения. Небольшие колебания отражают биение сердца эмбриона, большие скачки являются следствием движений эмбриона внутри яйца. Наклоны графика обусловлены изменениями внешнего освещения в помещении, в котором проводился эксперимент.

Частоту небольших колебаний на графике ν , Гц. можно вычислить по формуле:

$$\nu = \frac{n^* \frac{x_{\text{общ.}}}{x_{\text{в с.}}}}{\frac{x_{\text{общ.}}}{x_{\text{в с.}}}} \quad (1)$$

где ν – частота колебаний Гц.;

n – число пиков в выбранном промежутке на графике, шт.;

$x_{\text{общ.}}$ – общее число изображений, шт.;

x – число изображений в выбранном промежутке на графике, шт.;

$x_{\text{в с.}}$ – число снимаемых в секунду кадров, кадр./с.

Или, можно вычислить частоту колебаний в минуту $орт$ кол./мин.:

$$орт = \frac{n^* \frac{x_{\text{общ.}}}{x_{\text{в с.}}}}{\frac{x_{\text{общ.}}}{x_{\text{в с.}}}} * 60 \quad (2)$$

где $орт$ – число колебаний в минуту.

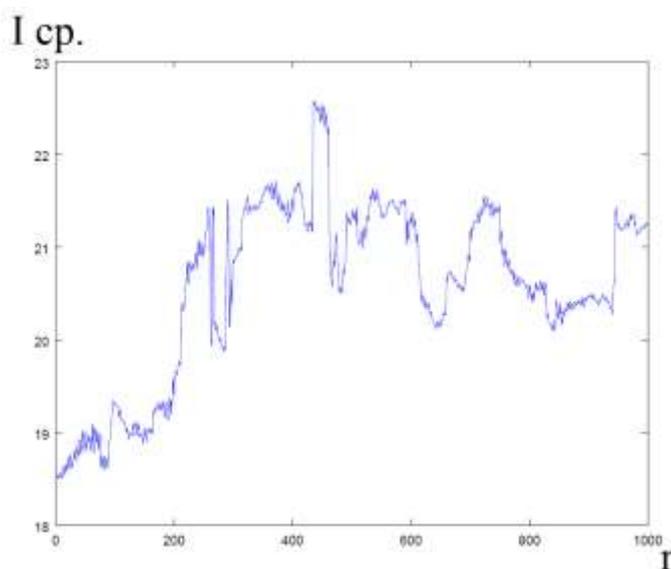


Рисунок 1 – График, отражающий колебания спеклов. Яйцо с эмбрионом находится на расстоянии 25см. от конца стрелы.

Вторая запись была сделана для яйца с эмбрионом, подвешенного на расстоянии 19см. от края стрелы. График полученных и обработанных результатов представлен на рисунке 2. Можно заметить, что амплитуда колебаний интенсивности между картинками возросла. Это может быть вызвано резонансом между собственными колебаниями установки и колебаниями яйца с эмбрионом. Для второй записи $\nu = 2,65$ Гц., а $орт = 159.09$ кол./мин.

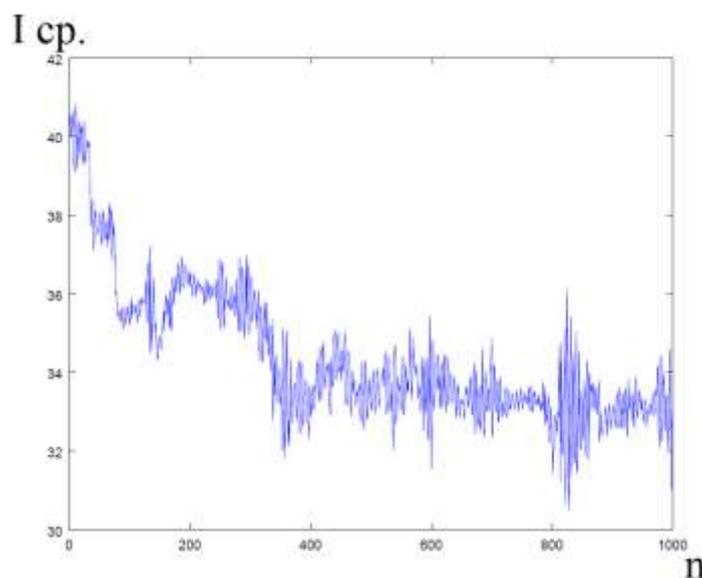


Рисунок 2 – График, отражающий колебания спеклов. Яйцо с эмбрионом находится на расстоянии 19см. от конца стрелы.

Третья запись была сделана для яйца с эмбрионом, подвешенного на расстоянии 12см. от края стрелы. График полученных и обработанных результатов представлен на рисунке 3. Можно заметить, что амплитуда небольших колебаний интенсивности между картинками уменьшилась.

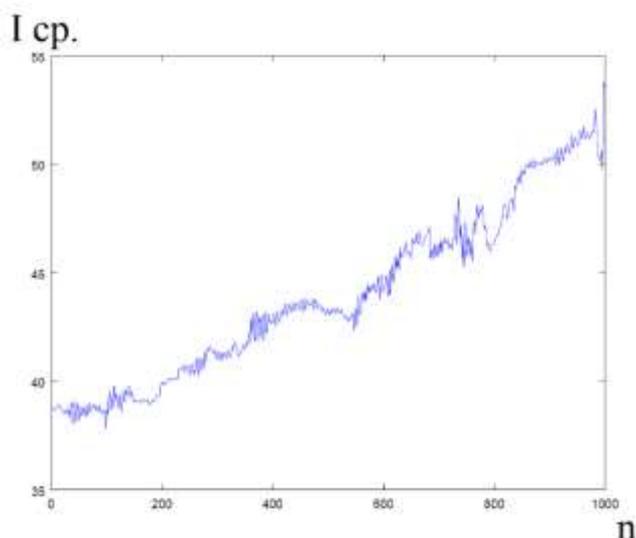


Рисунок 3 – График, отражающий колебания спеклов. Яйцо с эмбрионом находится на расстоянии 12см. от конца стрелы.

Четвертая запись была сделана для сырого яйца без эмбриона, подвешенного на расстоянии 25 см. от края стрелы. График полученных и обработанных результатов представлен на рисунке 4. Примерно 50 первых

кадров запись велась при отсутствии внешних воздействий на установку. Затем, несколько раз было произведено физическое воздействие на стрелу с подвешенным яйцом и спровоцированы свободные колебания системы. Запись с яйцом без эмбриона также была необходима для того, чтобы исключить тот факт, что небольшие колебания спеклов, возможно, были вызваны внешними факторами.

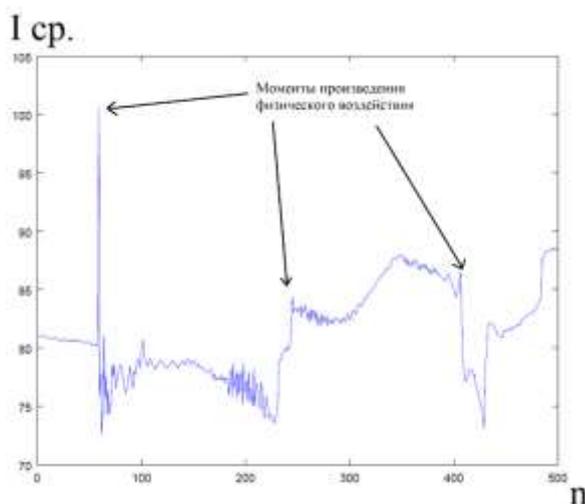


Рисунок 4 – График, отражающий колебания спеклов. Сырое яйцо находится на расстоянии 25 см. от конца стрелы.

Пятая запись также была сделана для сырого яйца без эмбриона, но подвешенного на расстоянии 19 см. от края стрелы. График полученных и обработанных результатов представлен на рисунке 5.

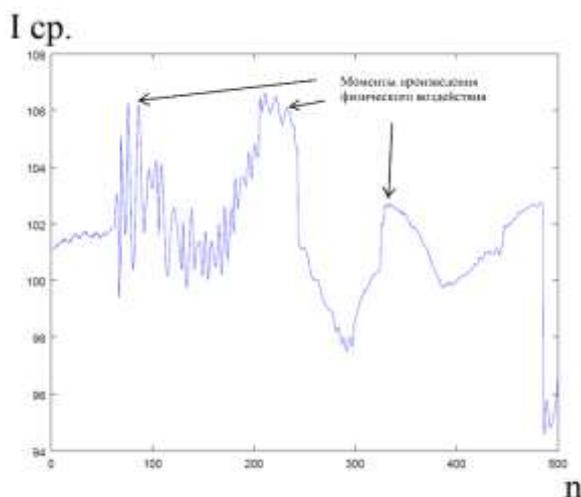


Рисунок 13 – График, отражающий колебания спеклов. Сырое яйцо находится на расстоянии 19 см. от конца стрелы.

В результате проведения эксперимента были получены графики зависимости средней интенсивности пикселей изображения в зависимости от номера изображения. Было произведено 3 записи для яйца с эмбрионом и 2 записи для яйца без эмбриона. После обработки полученных результатов было выявлено, что наиболее близкой к резонансной частота колебаний получилась в процессе 2 записи. от конца стрелы. Такой вывод сделан на основании того, что на графике, который изображен на рисунке 2 наблюдается возрастание амплитуды колебаний. Это означает, что частота сердечных сокращений эмбриона примерно равна 159 ударам в минуту. Такое низкое значение можно объяснить охлаждением яйца при нахождении его в комнате с низкой для нормального развития температурой, поэтому частота сердечных сокращений становится меньше, чем если бы яйцо находилось в инкубаторе.

Заключение

Целью данной выпускной квалификационной работы являлась диагностика сердечного ритма куриного эмбриона неинвазивным методом.

В процессе выполнения выпускной квалификационной работы были выполнены следующие задачи:

1. проанализирована литература и научные работы по теме неинвазивной диагностики сердечного ритма эмбрионов птиц;
2. изучено и описано строение куриного яйца с эмбрионом;
3. изучено и описано развитие сердечно-сосудистой системы куриного эмбриона и формирование его сердечного ритма;
4. выбран наиболее удобный для реализации неинвазивный метод регистрации сердечного ритма куриного эмбриона;
5. собрана экспериментальная установка и проведён эксперимент;
6. изучены основы программирования в GNU Octave;
7. полученные в результате эксперимента изображения обработаны на компьютере с использованием GNU Octave;
8. построены графики, отражающие зависимость значения средней интенсивности изображения в зависимости от номера изображения.

Исходя из полученных в результате эксперимента результатов можно сделать вывод, что частота сердечных сокращений исследуемого эмбриона составила 159 ударов в минуту, что является ниже средней частоты сердечных сокращений куриных эмбрионов на сроке развития 14 дней. Это объясняется тем, что куриный эмбрион крайне чувствителен к окружающей температуре и при охлаждении частота его сердечных сокращений снижается.

Полученные в результате эксперимента результаты показывают, что выбранный метод диагностики чувствителен к внешним воздействиям на процесс проведения эксперимента. Казалось бы, даже такие небольшие внешние воздействия, как кратковременное изменение окружающей яйцо температуры или небольшое изменение яркости освещения, оказывают сильное влияние на получаемые результаты.