

Новые методические подходы к разработке метода неинвазивной динамической регистрации функционального состояния сердца и электрических параметров развивающегося куриного эмбриона

Д.Н. Худавердян, С. Г. Налбандян, К.А. Аветисян, К.П. Марутян

ЕрГМУ им. М. Гераци, кафедра нормальной физиологии, "ООО" СЭМ-ТЭКС

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: неинвазивная динамическая регистрация, развивающийся эмбрион, онтогенез

В ранее приведенных нами исследованиях [2,4, 7] были изучены показатели сократительной и электрической активности сердца куриного эмбриона в процессе онтогенеза. Анализ полученных результатов позволил нам выдвинуть рабочую гипотезу о возможности разработки метода динамического неинвазивного мониторинга развивающегося эмбриона посредством регистрации характеристик емкости, индуктивности, проводимости, активного и реактивного сопротивлений, постоянных и переменных потенциалов через неповрежденную скорлупу. Выявление достоверных изменений по отмеченным параметрам позволило бы запланировать исследования по выявлению их взаимосвязи с динамикой развития эмбриона и его функциональных систем, с учетом почасовой хроно-

логии его развития и выявить первичные механизмы биологических ответов на те или иные воздействия окружающей среды.

Материал и методы

Для решения поставленной задачи нами был разработан специализированный многофункциональный измерительный комплекс, состоящий из системы специализированного инкубационного бокса (ССИБ) многофункционального измерительного аппаратного комплекса и компьютерного анализатора получаемой информации (рис.1).

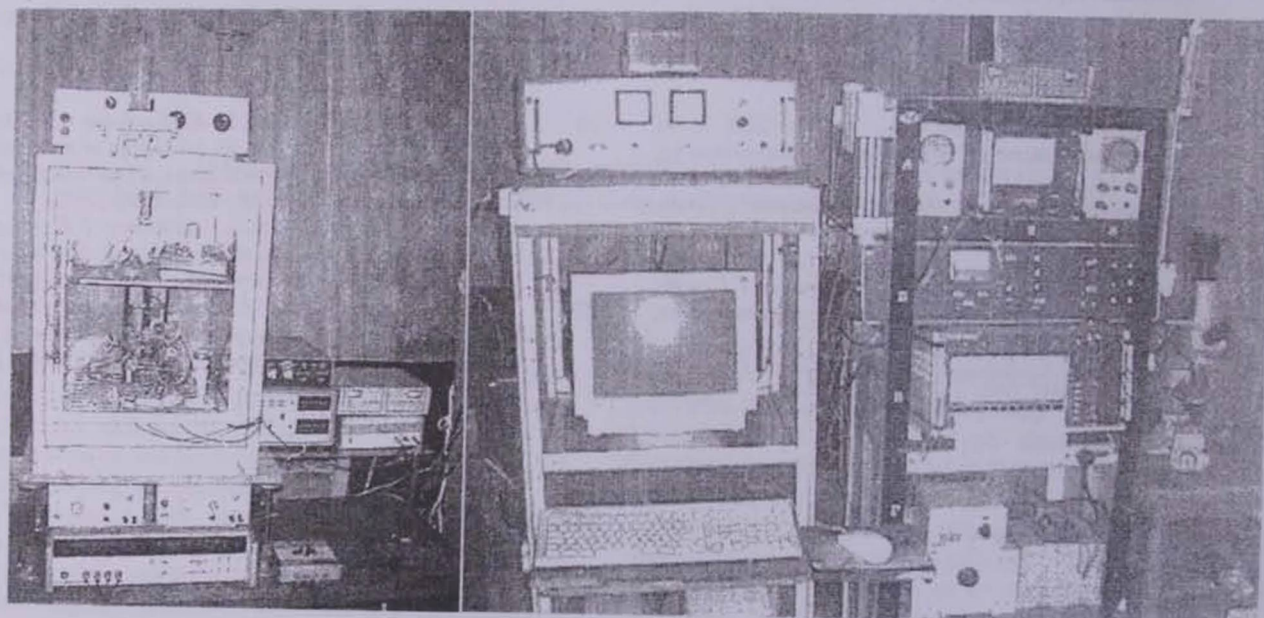


Рис.1. Общий вид многофункционального исследовательского комплекса

ССИБ был разработан нами с учетом требований, предъявляемых к инкубаторам промышленного выпуска [1]. Многофункциональный аппаратный комплекс состоит как профессиональным из аппаратуры собственного изготовления [5], так и промышленного выпуска, включая:

- 6-канальный запоминающий осциллограф модели WM - 42 (Венгрия);
- полиграф фирмы Микромед (Венгрия);
- 6-канальный самописец 6CA R-61 Recorder (Венгрия);
- устройство физиоблока 01 и 02 (собственного изготовления [5]).

В отдельную стойку выделяется компьютерный анализатор, собранный на базе ПК Pentium III, сопряженный с 14-канальным АЦП для хранения и анализа полученной информации с применением разработанного нами программного продукта.

Необходимо отметить конструктивные особенности разработанной фиксационной платформы, представляющей собой систему, состоящую из специально сконструированной механической стойки, на которой установлены два электрода полусного (тупой и острый полюс исследуемого яйца) отведения, подключаемые через коммутатор электродных отведений ко входам измерительных приборов (рис. 2). Платформа также снабжена специальными манипуляторами для

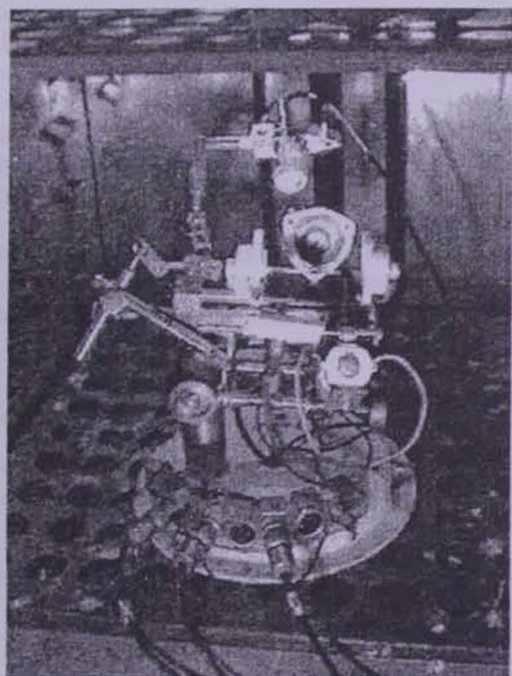


Рис.2. Общий вид фиксационной платформы для исследований эмбрионов птиц и рептилий при различных воздействиях

установки различных излучателей и приемных датчиков.

Для регистрации исследуемых характеристик использовался прецизионный мультиметр марки В7-38 и L-R-C цифровой измеритель марки Е7-12/01.

В период предварительных испытаний системы наше внимание привлек широкий разброс уровня активного сопротивления свежеснесенных куриных яиц (от 100 до 1600 кОм). Данный факт явился причиной условного разделения исследуемой выборки яиц на 2 группы. В I группу выборки ($n=8$) из 15 яиц были условно отнесены объекты с исходным уровнем сопротивления от 200 до 700 кОм, во II группу ($n=7$) входили объекты с исходным сопротивлением от 700 до 1700 кОм.

Измерения проводились установлением исследуемого объекта на отмеченную выше платформу посредством прижатия тупого и острого конца к полюсным электродам вне среды инкубации. Выходы электродов подключались ко входам прецизионного мультиметра В7-38 с параллельным выходом на АЦП.

После получения данных контрольного уровня активного сопротивления производились измерения постоянных и переменных потенциалов посредством мультиметра В7-38. Необходимо отметить, что с учетом формирования полярных молекул в развивающейся биологической субстанции проводилась также смена полюсов регистрации.

После контрольных замеров платформа с установленным объектом помещалась в среду инкубации. Ежедневная регистрация осуществлялась с периодом 24 часа в течение 12 суток с учетом времени первичной закладки исследуемой группы яиц (15 ед.) в среду инкубации.

Отдельно были проведены исследования характеристик емкости, индуктивности, проводимости и тангенса угла потерь на отдельной группе яиц ($n=11$) посредством подключения полюсных электродов к прецизионному L-R-C измерителю марки Е7-12/01. Полученные данные обработаны методом вариационного анализа с оценкой достоверности по Стьюденту-Фишеру.

Результаты и обсуждение

Статистическая обработка полученных данных представлена в табл.1, откуда следует, что характеристики активного сопротивления, постоянных и переменных потенциалов (как до, так и после смены полюсов регистрации) для обеих выборок имеют достоверные изменения в различные дни эмбрионального развития.

Посуточная регистрация характеристик активного сопротивления, постоянного и переменного потенциалов со сменой полюсов регистрации в двух группах исследуемых яиц

Регистрируемый параметр	Дни инкубации											
	1(К)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
R ($\kappa\Omega$) $\pm$ 1 гр	315.8	1750	784	382	464	249	1020	681	653*	654	861.7*	331
R ($\kappa\Omega$) $\mp$ 1 гр	512.3	1481	791	484	360	312	1010	4426	606	653	439	258
R ($\kappa\Omega$) $\pm$ 2 гр	1165	5025	3348	2280	795	885	8700*	973	1303	840	286.7*	4868
R ($\kappa\Omega$) $\mp$ 2 гр	742.3	1665	1763	555	427	732	4925*	1712	1048	630	238.5*	1018
Упост (мВ) $\pm$ 1 гр	30.4	32.2	7.071*	16.31*	24.3	27.2	20	17.8	10*	20.7	5.833*	12.93*
Упост (мВ) $\mp$ 1 гр	30.43	36.5	11*	17.86*	26.4	28.4	18*	21.57*	26	20.33*	8.167*	11.3
Упост (мВ) $\pm$ 2 гр	26.75	12.1	5.4*	16.5	31.8	30.1	6.57	9.25	9.75	18.2	7	8.8
Упост (мВ) $\mp$ 2 гр	33.75	21.4	20.8	25.3	36.5	11.25*	7.775*	7.3*	36	14	9.25*	28.8
Уперем (мВ) $\pm$ 1 гр	6.2	28.44*	45.3	19.8	17.7	4.73	25.34	22.5	6.34	33.3	12.7	24.4
Уперем (мВ) $\mp$ 1 гр	18.44	289	426	495	17.1*	9.23	65	34.6	2.111*	25.37*	72.8	0.54*
Уперем (мВ) $\pm$ 2 гр	30.65	33.6	68.9	129	29.4	9.25	66.5	12.2	63.8	31.8	44	65
Уперем (мВ) $\mp$ 2 гр	13.38	12.7	1.1	1.85	38.2	7.38	6.4	19.1	1.1	1.81	40.2	4.05

*статистически достоверные данные, $p < 0,005$

$\pm$ – измерительный электрод на остром конце яйца

$\mp$ – измерительный электрод на тупом конце яйца

В табл. 2 представлены данные посуточной регистрации индуктивности, емкости, реактивного сопротивления, проводимости и тангенса угла потерь исследуемой выборки оплодотворенных куриных яиц с 1-го по 8-й день инкубации.

Необходимо отметить, что в данной серии экспериментов мы ограничились лишь 8 сутками регистрации без смены полюсов снятия информации, поскольку

целью исследований было выявление закономерности регистрации отмеченных параметров и, соответственно, применимости разработанного методического комплекса по их регистрации.

Как видно из представленной таблицы, отмеченные характеристики также имеют статистически достоверные изменения в определенные дни инкубации.

Таблица 2

Посуточная регистрация характеристик индуктивности, реактивного сопротивления, емкости, проводимости и тангенса угла потерь исследуемой выборки оплодотворенных куриных яиц с первого по восьмой день инкубации

Регистрируемый параметр	1(К)	2	3	4	5	6	7	8
Индуктивность L (мГ)	0.549	0.819	0.673	0.704	0.786	1.2*	0.564	0.214*
Реактивное сопротивление X ($\kappa\Omega$)	1.346	2.966	1.981	2.837*	3.863*	5.673*	0.564	0.214*
Емкость C (нФ)	45.03	30.32*	32.26*	27.06*	23.48	13.89*	29.44*	83.24*
Проводимость G (мС)	11400	58600	9300	8700	9900	7100*	1600*	47000*
Тангенс угла потерь D	4210	5470	4630	6210*	6670	6800*	8890*	6590*

* статистически достоверные данные, $p < 0,005$

Как видно из представленных выше данных, почти все выбранные нами электрические параметры в определенные дни инкубации имеют статистически достоверные изменения. В настоящей работе мы не задавались целью поиска взаимосвязей получаемых характеристик с внутренней структурой развивающегося куриного эмбриона с учетом хронологии его развития, несмотря на то, что подобные исследования нами проводятся.

Отличительной особенностью предложенной модели является возможность проведения многопараметрового анализа широкого спектра физических факторов как искусственного, так и природного происхождения.

Характеристики, получаемые с помощью данной модели, выявление их взаимосвязи с развивающейся биологической структурой как на клеточном, так и молекулярном уровнях с учетом хронологии развития эмбриона позволят четко дифференцировать ответы отдельных структур на внешние воздействия с последующим их влиянием на дальнейший рост объекта исследования после вылупления.

Анализ данных литературы не выявил аналога или прототипа работ по комплексному изучению отмеченных параметров.

Поступила 17.03.03

Թռչնի զարգացող սաղմի էլեկտրական չափանիշների մշակման եւ սրտի ֆունկցիոնալ վիճակի ոչ ինվազիվ դինամիկ գրանցման նոր մեթոդական մոտեցումները

Դ.Ն.Խուդավերդյան, Ս.Գ.Նալբանդյան, Կ.Ա.Ավետիսյան, Կ.Պ.Մարություն

Ներկայացվում է նոր փորձարարական մոդել, որը նախատեսված է հետազոտելու սողունների և թռչունների օնտոգենեզի սաղմնային փուլի վրա արտաքին միջավայրի տարբեր գործոնների (էլեկտրա-, գեոմագնիսական, ակուստիկ և այլն) ազդեցությունները:

Այդ նպատակով մշակվել է մասնագիտացված բազմաֆունկցիոնալ չափիչ կոմպլեքս, բաղկացած 3 հիմնական մասերից՝ մասնագիտացված ինկուբացիոն խցիկի համակարգից, բազմաֆունկցիոնալ չափիչ կոմպլեքսից և ինֆորմացիայի համակարգչային մշակման սարքից: Այս կոմպլեքսի միջոցով կատարվել են հետազոտվող օբյեկտի ստուգիչ չափումներ, որից հետո օբյեկտը տեղադրվել է ինկուբացիոն միջավայր, որտեղ իրականացվել է ունակության, ինդուկտիվության, հաղորդականության և կորուստների անկյան

տանգենսի բնութագրերի ամենօրյա գրանցում ձվերի չառանձին խմբի վրա 12 օրվա ընթացքում 24 ժամ պարբերությամբ, հաշվի առնելով ինկուբացիոն միջավայրի ձվերի հետազոտվող խմբի (15 հատ) առաջնային գետեղման ժամանակը: Ստացված տվյալների վարիացիոն անալիզը և հավաստիության գնահատումը կատարվել են Սթյուդենթ-Ֆիշերի մեթոդով:

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ համարյա բոլոր բնութագրերը էլեկտրական չափանիշները ինկուբացիայի որոշակի օրերին ունեն վիճակագրորեն հավաստի փոփոխություններ, ինչպես նաև առաջարկված մոդելի առանձնահատկությունն է հանդիսացել սողունների և թռչունների սաղմի զարգացման գործընթացի վրա տարբեր ազդեցությունների բազմաչափանիշային վերլուծության իրականացումը:

New methodological approaches to non-invasive dynamic registration of the functional state of the heart and electrical parameters of a developing hen embryo

D. N. Khudaverdyan, S. G. Nalbandyan, K. A. Avetisyan, K. P. Marutyan

A new experimental model for revealing the effect of different environmental factors (electro-, geomagnetic, acoustic, e.t.c.) on the ontogenetic development process of embryos of birds and reptiles is represented.

To handle the task a specialized multifunctional meter-

ing complex consisting of three main parts was designed including a system of the specialized incubation camera, a multifunctional metering apparatus system, and a computer-based analyser of the data obtained. By means of this complex there were performed reference measurements

of the researched object, after which it was placed in the incubation environment, where capacity, inductivity, conductivity and dissipation factor (the loss angle tangent) characteristics were daily registered on a separate group of eggs during 12 days with the period of 24 hours, considering the investigated eggs group's (15 items) time of primary laying in the incubatory environment. The data obtained were processed by means of variance analysis method with confidence level estimation by Student-Fisher.

The obtained results showed that almost all chosen electrical parameters had statistically authentic changes in certain days of incubation, and the opportunity to conduct a polyvalent analysis of different effects on the ontogenetic development process of the embryos of birds and reptiles appeared to be the distinctive feature of the suggested model.

Литература

1. Буртов Ю. З., Голдин Ю. С., Кривоношин И. П. В кн.: Инкубация яиц. М., 1990, с. 80.
2. Налбандян С. Г., Аветисян К. А. В сб.: Мат. VI съезда Армянского физиологического общества, Ереван, 2001, с. 162.
3. Налбандян С. Г., Казарян А. В. Термостатируемая ячейка для исследования сократительной функции сердца эмбрионов птиц и рептилий. Рац. предложение N38 от 29.12.1987.
4. Налбандян С. Г., Казарян А. В. Исследование сократительной функции сердца эмбрионов птиц и рептилий ранних сроков развития и устройство по его осуществлению. Авторское свидетельство 1597173 от 8.06.1990.
5. Налбандян С. Г., Казарян А. В., Асратян Л. Х. Многофункциональный измерительный комплекс. Рац. предложение от 15.01.1987. Удостоверение N82.
6. Фусинин В. И., Журавлев И. В., Айдинян Т. Г. В кн.: Эмбриональное развитие птицы. М., 1990, с. 152.
7. Khudaverdyan D. N., Nalbandyan S. G. The novelty in the investigations of electric and miogenic activity formation in the heart of birds' and reptiles' embryos. XXXIII International Congress of Physiological Sciences. St. Petersburg, 1997, 11, p. 060.