

УДК 636.028:591.3:616-073.756.8

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2023-375-10-24-29

**И.В. Ржепаковский<sup>1</sup>**  
**Л.Д. Тимченко<sup>1</sup>**  
**С.И. Писков<sup>1</sup>**  
**С.С. Аванесян<sup>1</sup>**  
**М.Н. Сизоненко<sup>1</sup>**  
**М.Ш. Шахбанов<sup>1</sup>**  
**А.А. Нагдальян<sup>1</sup> ✉**  
**М.Б. Ребезов<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

<sup>2</sup> Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>3</sup> Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

✉ anagdalian@ncfu.ru

Поступила в редакцию:  
23.06.2023

Одобрена после рецензирования:  
15.09.2023

Принята к публикации:  
29.09.2023

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2023-375-10-24-29

**Igor V. Rzhepakovsky<sup>1</sup>**  
**Lyudmila D. Timchenko<sup>1</sup>**  
**Sergey I. Piskov<sup>1</sup>**  
**Svetlana S. Avanesyan<sup>1</sup>**  
**Marina N. Sizonenko<sup>1</sup>**  
**Magomed Sh. Shakhbanov<sup>1</sup>**  
**Andrey A. Nagdalian<sup>1</sup> ✉**  
**Maksim B. Rebezov<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

<sup>2</sup> V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia

✉ anagdalian@ncfu.ru

Received by the editorial office:  
23.06.2023

Accepted in revised:  
15.09.2023

Accepted for publication:  
28.09.2023

## Трехмерная рентгеновская микротомография сердца куриного эмбриона в раннем периоде эмбриогенеза

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Модель куриного эмбриона идеально подходит для изучения развития сердца, являющегося первым функционирующим органом в эмбриогенезе. Особое внимание привлекает зародышевый период, когда эмбриональное сердце одновременно и функционирует, и формируется, а небольшие отклонения в этом процессе могут привести к аномалиям развития. Текущее отсутствие результатов точных измерений отдельных структур сердца куриного эмбриона требует проведения качественной визуализации, сложность проведения которой определяется динамическими изменениями в морфологии сердца, маленькими размерами и сложными пространственными деталями органа. Незаменимыми инструментами в этом аспекте выступают методы трехмерной визуализации, среди которых особые преимущества имеет рентгеновская микротомография.

**Методы.** Сканирование эмбрионов (4–8-е сутки, эмбриональные стадии — HH22–HH34) проводилось с использованием рентгеновского микротомографа высокого разрешения Skyscan 1176. В качестве контраста использовался 1%-ный раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты. Постобработка, реконструирование, визуализация 3D-изображений, морфометрия и оценка рентгеноплотности осуществлялись с помощью программных пакетов DataViewer (1.5.6.2), CTvox (3.3.0r1403), CT-analyser (1.18.4.0).

**Результаты.** Полученные результаты складываются из трех компонентов: 1) общая трехмерная рентгеновская микротомографическая визуализация куриных зародышей на ранних стадиях эмбриогенеза с обозначением внутренних органов, позволяющая определить правильность расположения сердца; 2) микротомография сердца с обозначением основных структур; 3) морфометрические параметры зародыша, сердца и их рентгенплотность в единицах шкалы Хаунсфилда (HU).

Использованный методический подход показал высокую эффективность. При увеличении линейных размеров куриного зародыша и внутренних органов, в том числе сердца сохраняется высокий уровень как общей рентгенконтрастности так и диффракционной. На всех изученных стадиях зародышевого периода эмбриогенеза (4–8-е сутки; HH22–HH34) выявлены основные визуальные и количественные характеристики морфогенеза сердца.

**Ключевые слова:** куриный эмбрион, сердце, зародышевый период эмбриогенеза, рентгеновская микротомография, трехмерная визуализация

**Для цитирования:** Ржепаковский И.В. и др. Трехмерная рентгеновская микротомография сердца куриного эмбриона в раннем периоде эмбриогенеза. *Аграрная наука*. 2023; 375(10): 24–29. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-375-10-24-29>

© Ржепаковский И.В., Тимченко Л.Д., Писков С.И., Аванесян С.С., Сизоненко М.Н., Шахбанов М.Ш., Нагдальян А.А., Ребезов М.Б.

## Three-dimensional X-ray microtomography of the heart of a chick embryo in the early period of embryogenesis

### ABSTRACT

**Relevance.** The chicken embryo model is ideal for studying the development of the heart, which is the first functioning organ in embryogenesis. Particular attention is drawn to the embryonic period, when the embryonic heart is both functioning and forming, and small deviations in this process can lead to developmental anomalies. The current lack of results of accurate measurements of the morphology of the heart of a chicken embryo requires high-quality visualization, the complexity of which is determined by dynamic changes in the morphology of the heart, small size and complex spatial details of the organ. Three-dimensional imaging methods are indispensable tools in this aspect, among which X-ray microtomography has special advantages

**Methods.** Embryo scanning (4–8 days, embryonic stages HH22–HH34) was performed using a high-resolution X-ray microtomograph Skyscan 1176. A 1% solution of phosphoric-tungstic acid was used as a contrast. Post-processing, reconstruction, visualization of 3D-images, morphometry and X-ray density assessment were carried out using software packages DataViewer (1.5.6.2), CTvox (3.3.0r1403), CT-analyser (1.18.4.0).

**Results.** The results obtained consist of three components: 1) general three-dimensional X-ray microtomographic visualization of chicken embryos in the early stages of embryogenesis with the designation of internal organs, allowing to determine the correct location of the heart; 2) microtomography of the heart with the designation of the main structures; 3) morphometric parameters of the embryo, heart and their X-ray density in units of the Hounsfield scale (HU).

The methodological approach used has shown high efficiency. With an increase in the linear size of the chicken embryo and internal organs, including the heart, a high level of both general X-ray contrast and diffraction remains. At all the studied stages of the embryonic period of embryogenesis (4–8 days; HH22–HH34), the main visual and quantitative characteristics of cardiac morphogenesis were revealed.

**Key words:** chicken embryo, heart, embryonic period of embryogenesis, X-ray microtomography, 3D-visualization

**For citation:** Rzhepakovsky I.V. et al. Three-dimensional X-ray microtomography of the heart of a chick embryo in the early period of embryogenesis. *Agrarian science*. 2023; 375(10): 24–29 (In Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-375-10-24-29>

© Rzhepakovsky I.V., Timchenko L.D., Piskov S.I., Avanesyan S.S., Sizonenko M.N., Shakhbanov M.Sh., Nagdalian A.A., Rebezov M.B.

## Введение/Introduction

Современное птицеводство предоставило целый ряд важных решений в области здравоохранения и науки о жизни (в частности, за счет использования куриного эмбриона) [1–3]. Этот модельный организм идеально подходит для изучения раннего развития сердца, являющегося первым функционирующим органом, формирующимся в эмбриогенезе. Главным преимуществом куриного эмбриона в этом плане выступает внеутробное развитие в яйце, что обеспечивает легкий доступ для исследований сердца на всех стадиях эмбриогенеза [4]. Четырехкамерное сердце цыпленка, несмотря на некоторые отличия в формировании перегородок и ремоделировании дуги аорты, анатомически больше приближено к сердцу человека в сравнении с другими модельными системами, не относящимися к млекопитающим, в связи с чем куриный эмбрион как модель продолжает вызывать научный интерес и вносить существенный вклад в изучение морфологии развивающегося сердца [5, 6].

Особое внимание привлекает ранний период эмбриогенеза. На этом этапе развития сердце претерпевает сложный морфогенетический процесс, который представляет собой координацию многих событий, где небольшие отклонения могут привести к аномалиям развития и врожденным порокам сердца [7]. Эмбриональное сердце одновременно и функционирует, и формируется. Происходящие изменения в его морфологии весьма быстрые, что в совокупности с маленькими размерами и сложными пространственными деталями органа определяют главную проблему сложности их визуализации [8].

Текущее отсутствие доступных данных точных изменений отдельных структур сердца куриного эмбриона требует проведения качественной визуализации. Исследователи применяют и совершенствуют различные технические подходы с целью получения изображений развивающегося сердца с высоким разрешением [9]. Незаменимыми инструментами в этом аспекте выступают методы трехмерной визуализации, среди которых особый интерес вызывает метод рентгеновской микрофотографии (микроКТ). Это неразрушающий метод визуализации, преимуществами которого выступают скорость исследования, высокое разрешение, количественная оценка размера и морфологии тканей, возможность полнообъемной визуализации [10].

Авторы предлагают разработку методических принципов, а также создание набора пространственных и количественных микроКТ данных для оценки морфогенеза сердца куриного эмбриона раннего периода эмбриогенеза, где в цифровом виде представлены точные формы и топография структур, которые можно использовать для выявления тонких изменений в морфологии органа.

**Цель работы** — визуализационный и количественный анализ морфогенеза сердца куриного эмбриона на раннем этапе развития методом рентгеновской микроКТ.

## Материалы и методы исследований /

### Materials and methods

Исследования проведены на базе межведомственной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии медико-биологического факультета Северо-Кавказского федерального университета (г. Ставрополь, Россия).

Для научно-исследовательской работы использовались оплодотворенные куриные яйца «Хайсекс Браун»,

приобретенные в ООО «Агрокормсервис плюс» (станция Гиагинская, Республика Адыгея, Россия).

Яйца инкубировались до срока 4–8 суток (от HH22 до HH34) [11] при температуре 37,5 °C и 50% относительной влажности в цифровом инкубаторе Rcom Maru Deluxe Max 380 (AUTOELEX CO., LTD, Корея). На каждые сутки инкубации (согласно рекомендациям по гуманной эвтаназии) [12, 13] зародыши умерщвлялись путем воздействия CO<sub>2</sub> (70%) продолжительностью 20 минут.

Исследование было проведено в соответствии с Хельсинской декларацией и одобрено этическим комитетом Северо-Кавказского федерального университета (протокол от 3 августа 2023 года № 003).

Извлеченные зародыши фиксировали в 10%-ном забуференном растворе формалина 72 часа. Фиксированных в формалине зародышей промывали под проточной водой в течение 12 часов, обезжизняли в сменных порциях этанола 30%-ного (2 часа), 50%-ного (2 часа), 70%-ного (12 часов), помещали в 1%-ный раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты (ФВК) 1:20 (объем зародыша к объему раствора) и выдерживали при 40 °C в течение 24 часов (методика по результатам ранее проведенных исследований).

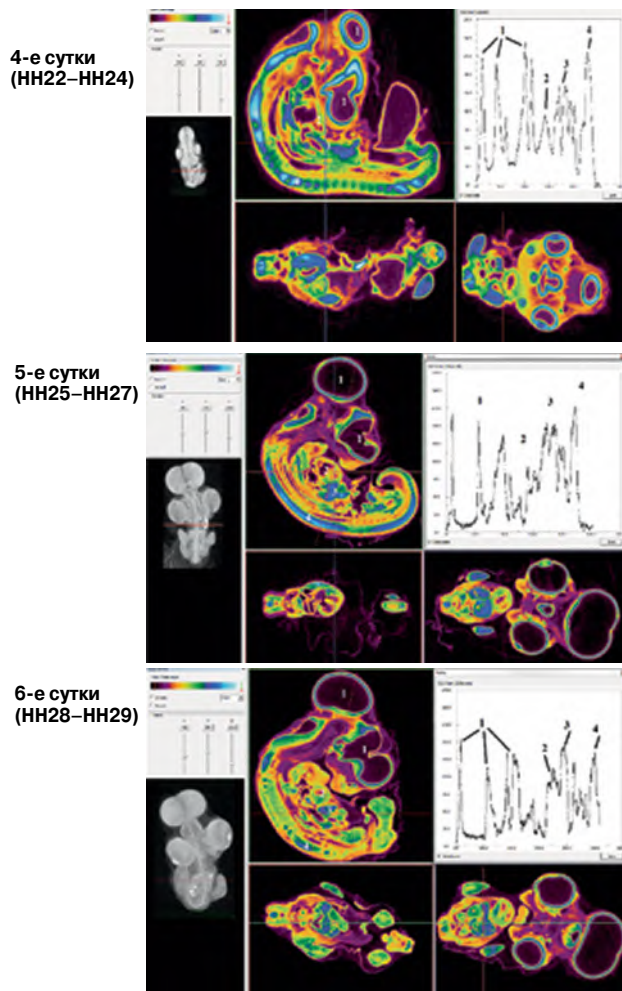
Пробирки с образцами зародышей в 70%-ном растворе этилового спирта были перенесены в микромограф Skyscan 1176 (Bruker, Бельгия) и закреплены на месте пенопластовыми направляющими. Сканирование выполняли путем поворота 11-мегапиксельной камеры (4000 × 2672 пикселей) на 180° (0,3°/шаг), усреднение трех изображений на шаг, в результате чего получали (8,87 мкм) изометрическое пространственное разрешение. Сгруппированные изображения (стеки изображений) были обработаны и реконструированы в наборы 3D-данных с использованием NRecon (версия 1.7.4.2, Bruker, Бельгия). Процесс занял около двух часов для каждой пробирки с образцом. Постобработка, выравнивание, ориентация в пространстве (x, y, z), отображение профилей рентгеноконтрастности и выделение отдельных областей реконструированных материалов проводились в программе DataViewer (1.5.6.2, Bruker, Бельгия). Визуализация 3D-изображений проводилась в программе CTvox (3.3.0r1403, Bruker, Бельгия). Морфометрия и оценка рентгеноплотности в единицах шкалы Хаунсфилда (HU) осуществлялись с помощью программного обеспечения CT-analyser (1.18.4.0, Bruker, Бельгия) по разработанным авторами методикам для различных тканей [14, 15].

Количественные данные обрабатывались с помощью программного пакета Biostat 4.03 (Россия) и представлялись в виде среднего арифметического ± стандартная ошибка среднего арифметического ( $M \pm m$ ). Применялся однофакторный дисперсионный анализ. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и обсуждение / Results and discussion

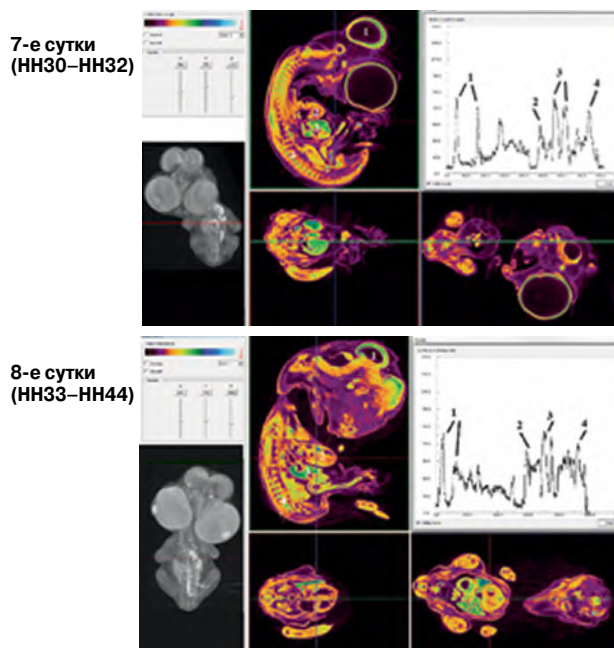
Полученные результаты складывались из следующих компонентов:

- 1) общая 3D-картина микроКТ куриных зародышей на ранних стадиях эмбриогенеза с обозначением внутренних органов, позволяющая определить правильность расположения сердца (рис. 1);
- 2) микроКТ сердца с обозначением основных структур (рис. 2);
- 3) морфометрические параметры зародыша, сердца и их рентгеноплотность в единицах шкалы Хаунсфилда (HU) (табл. 1).



**Рис. 1.** Типичные изображения различных проекций куриных зародышей (4–8-е сутки, эмбриональные стадии — HH22–HH34), контрастно окрашенные 1%-ной ФВК. На изображениях куриных эмбрионов отмечены следующие органы: мозг — 1, сердце — 2, печень — 3, склеротом (позвоночник и нервный канал) — 4. Визуализация и отображение профилей рентгеноконтрастности различных структур — в программе DataViewer. Шкала распределения плотности в зависимости от цвета — в верхнем левом углу каждого изображения

**Fig. 1.** Typical images of various projections of chicken embryos (day 4–8, embryonic stages HH22–HH34), contrast-colored with 1% FVC. The following organs are marked on the images of chicken embryos: brain — 1, heart — 2, liver — 3, sclerotome (spine and nerve channel) — 4. Visualization and display of X-ray contrast profiles of various structures — in the DataViewer program. The density distribution scale depending on the color is in the upper left corner of each image



**Рис. 2.** Типичные изображения различных проекций области сердца куриных зародышей (4–8-е сутки, эмбриональные стадии — HH22–HH34), контрастно окрашенные 1%-ной ФВК. На изображениях отмечены следующие структуры сердца: Ж — желудочек (лат. *ventriculus*), ПЖ — правый желудочек (лат. *ventriculus dexter*), ЛЖ — левый желудочек (лат. *ventriculus sinister cordis*), ПП — правое предсердие (лат. *atrium dextrum*), ЛП — левое предсердие (лат. *atrium sinistrum*), ДА — дуга аорты (лат. *arcus aortae*), А — аорта (лат. *aorta*), ВС — венозный синус (лат. *sinus venosus*), ВП — венозный проток (лат. *ductus venosus*), НПВ — нижняя полая вена (лат. *vena cava inferior*), Л — легкие (лат. *pulmones*), Печ. — печень (греч. *hepar*), Жел. — желудок (греч. *gaster*). Визуализация структур — в программе DataViewer. Масштабная линейка — 1 мм

**Fig. 2.** Typical images of various projections of the heart region of chicken embryos (day 4–8, embryonic stages — HH22–HH34), contrast-colored with 1% FVC. The following structures of the heart are marked in the images: W — ventricle (Latin *ventriculus*), RV — right ventricle (Latin *ventriculus dexter*), LV — left ventricle (Latin *ventriculus sinister cordis*), PP — right atrium (Latin *atrium dextrum*), LP — left atrium (Latin *atrium sinistrum*), YES — aortic arch (Latin *arcus aortae*), A — aorta (Latin *aorta*), VS — venous sinus (Latin *sinus venosus*), VP — venous duct (Latin *ductus venosus*), NPV — inferior vena cava (Latin *vena cava inferior*), L — lungs (Latin *pulmones*), Liver — liver (Greek. *hepar*), Yellow — stomach (Greek. *gaster*). Visualization of structures — in the DataViewer program. Scale ruler — 1 mm

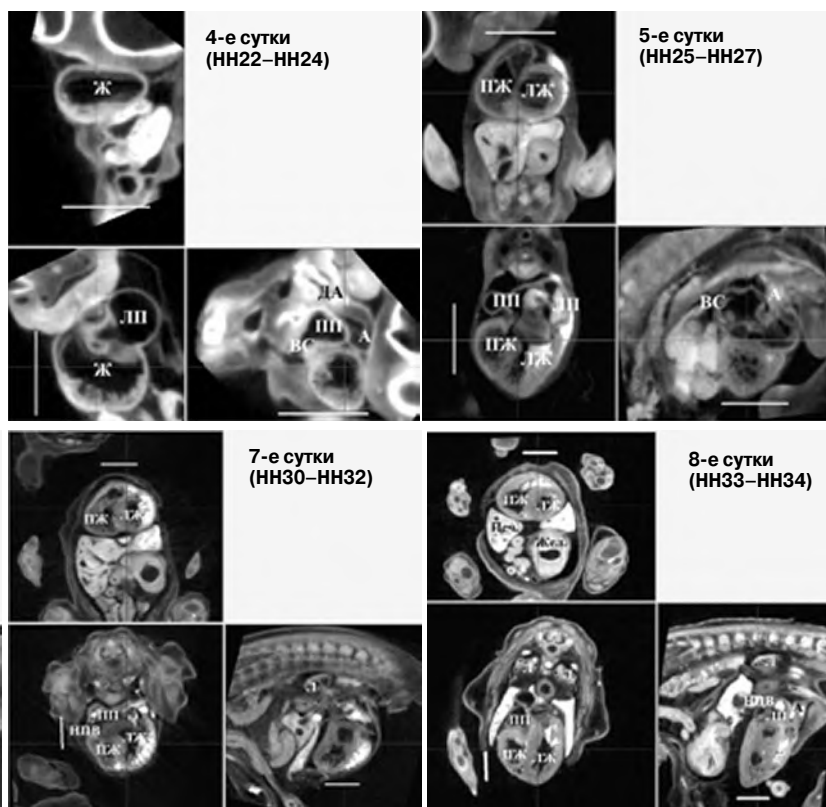




Таблица 1. Морфометрические данные и рентгеноплотность куриных зародышей (4–8-е сутки, эмбриональные стадии — HH22–HH34), контрастно окрашенных 1%-ной ФВК,  $n = 5$ ,  $M \pm m$

Table 1. Morphometric data and X-ray density of chicken embryos (day 4–8, embryonic stages — HH22–HH34), contrast-stained with 1% FVC,  $n = 5$ ,  $M \pm m$

| Параметры                       | 4-е сутки<br>(HH22–HH24)  | 5-е сутки<br>(HH25–HH29)   | 6-е сутки<br>(HH28–HH29)   | 7-е сутки<br>(HH30–HH32)  | 8-е сутки<br>(HH33–HH35)   |
|---------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Длина зародыша, мм              | 4,0 ± 0,3 <sup>a</sup>    | 8,9 ± 0,24 <sup>b</sup>    | 10,1 ± 0,5 <sup>b</sup>    | 14,3 ± 0,5 <sup>c</sup>   | 17,1 ± 0,5 <sup>d</sup>    |
| Объем зародыша, мм <sup>3</sup> | 17,5 ± 1,6 <sup>a</sup>   | 102,0 ± 5,1 <sup>b</sup>   | 135,1 ± 8,0 <sup>c</sup>   | 355,6 ± 20,2 <sup>d</sup> | 540,3 ± 35,0 <sup>e</sup>  |
| Объем сердца, мм <sup>3</sup>   | 0,7 ± 0,03 <sup>a</sup>   | 2,3 ± 0,1 <sup>b</sup>     | 2,9 ± 0,2 <sup>b</sup>     | 6,6 ± 0,5 <sup>c</sup>    | 10,5 ± 0,9 <sup>d</sup>    |
| Рентгеноплотность зародыша, HU  | 3100,9 ± 111 <sup>a</sup> | 2065,5 ± 116 <sup>bc</sup> | 2443,7 ± 125 <sup>c</sup>  | 1500,2 ± 84 <sup>d</sup>  | 1807,9 ± 120 <sup>bd</sup> |
| Рентгеноплотность сердца, HU    | 4720,2 ± 226 <sup>a</sup> | 5510,7 ± 160 <sup>b</sup>  | 5201,1 ± 225 <sup>ab</sup> | 3219,8 ± 164 <sup>c</sup> | 3461,9 ± 174 <sup>c</sup>  |

Примечание: значения в одной строке, не имеющие одинаковых буквенных индексов, статистически различны между собой ( $p < 0,05$ ).

На изучаемых с применением микроКТ эмбриональных стадиях зародышевого этапа эмбриогенеза HH22–HH34 все основные органы и структуры куриного зародыша хорошо визуализировались и соответствовали нормативным показателям [11, 16]. Обозначенные разными цветами различия в рентгеноплотности между органами и структурами зародышей связаны с неравномерным распределением соединительнотканых элементов, что характерно для рентгеноконтрастирования ФВК. Пики профилей рентгеноконтрастности, проходящих через основные органы, высокие, базовая линия, характеризующая окружающий фон, ниже 30, что свидетельствует о правильно подробных методиках контрастирования, параметрах сканирования и реконструирования. Общая диффконтрастность на высоком уровне в связи с низким уровнем деформации и сохранением пространств и полостей как между органами, так и внутри органов. Особый интерес в соответствии с задачей исследования касался визуализации сердца. Локализация сердца на всех исследуемых стадиях эмбрионального развития соответствовала норме. Сердце располагается в грудобрюшной полости, верхушка сердца — между долями печени справа и желудком слева, основание сердца обращено вверх назад и направо, формируясь из предсердий и входящих и исходящих сосудов (рис. 1).

На 4–8-е сутки (HH22–HH34) хорошо визуализировались основные части сердца и окружающие сосуды зародыша. Полученные результаты совпали с данными других исследователей, таких как [17–24], использовавших различные методики исследований (рис. 2).

На 4-е сутки эмбриогенеза (HH22–HH24) между левым и правым предсердием визуализировалась межпредсердная перегородка, не изолирующая два условных предсердия, образующих единую предсердную камеру.

Желудочек сердца не имеет даже зачатка перегородки, верхушка сердца сглажена, округлой формы. Между желудочком и единой предсердной камерой хорошо видны атриовентрикулярные эндокардиальные подушки. Справа хорошо виден венозный проток двух соединившихся желточно-брыжеечных вен, проходящий через зачаток печени и впадающий в венозный синус, частично формирующий левое предсердие.

На 5-е и 6-е сутки инкубации (HH25–HH29) начали формироваться и хорошо видны, но не до конца сформированы межпредсердная и межжелудочковая перегородки, однако на их основе уже хорошо можно разделить и визуализировать левое и правое предсердия и левый и правый желудочки сердца. Сердце приобретает конусовидную форму с выраженной верхушкой.

На 7-е и 8-е сутки инкубации (HH30–HH34) левый и правый желудочки сердца полностью разделены. Левый накачивает кровь в аорту через аортную дугу, а правый — в легочную артерию в спинную аорту, где происходит смешивание крови из обоих желудочков. Межпредсердная перегородка хорошо сформирована, но останется не полной до вылупления. Хорошо видно, как нижняя полая вена входит в правое предсердие.

Кроме общего описания, авторами были проведены морфометрические исследования и получены результаты (табл. 1).

Рост зародыша довольно равномерно изменялся при анализе изучаемых эмбриональных стадий. Так, за 4–8-е сутки длина зародыша увеличилась более чем в 4 раза, а объем — более чем в 30 раз (при  $p < 0,05$ ), объем сердца при этом увеличился всего в 15 раз (при  $p < 0,05$ ). Соотношение объема тела зародыша и объема сердца на 4-е сутки инкубации — 4%, на 5-е и 6-е сутки объем сердца составлял выше 2%, на 7-е и 8-е сутки — ниже 2%.

Замедление роста линейных размеров было зарегистрировано с 5-х на 6-е сутки инкубации, где увеличение длины зародыша составило лишь 13,5%. В этом промежутке незначительно увеличился объем зародыша (на 33,1 мм<sup>3</sup>) и объем сердца (всего на 0,6 мм<sup>3</sup>). Значительное увеличение размеров, повлиявшее на общий уровень контрастности зародыша (и в частности, сердца), регистрировалось с 6-х на 7-е сутки инкубации, при этом объем зародыша увеличился на 163%, сердца — на 128%, рентгеноплотность тканей зародыша уменьшилась на 61,4%, сердца — на 62% (при  $p < 0,05$ ). Увеличение линейных размеров куриного зародыша с 7-х на 8-е сутки инкубации практически не повлияло на рентгеноплотность тканей, что свидетельствует о достаточной проницаемости ФВК при нагреве до 40 °C для таких размеров зародыша (при  $p > 0,05$ ).

Полученные морфометрические данные соответствуют результатам других исследователей [22].

### Выводы/Conclusion

Доказана эффективность нового методического подхода и получены микроКТ данные о трехмерной организации сердца куриного эмбриона в динамике зародышевого периода развития (4–8-е сутки, HH22–HH34), которые могут помочь выявить тонкие изменения в морфологии органа. Зарегистрированные характеристики куриного эмбриона расширяют его потенциал как биологической модели и позволяют раскрыть возможности микроКТ для оценки аномалий развития и врожденных пороков сердца в раннем периоде эмбриогенеза интересны как для птицеводства, так и для тератологии и фармакологии.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в работу.

Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors made an equal contribution to the work.

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

The authors declare no conflict of interest.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00282. <https://rscf.ru/project/23-24-00282/>

## FUNDING

The study was funded by a grant from the Russian Science Foundation No. 23-24-00282. <https://rscf.ru/en/project/23-24-00282/>

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Garcia P., Wang Y., Viallet J., Macek Jilkova Z. The Chicken Embryo Model: A Novel and Relevant Model for Immune-Based Studies. *Frontiers in Immunology*. 2021; 12: 791081. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.791081>
- Chen L. *et al.* Dynamic 3D-morphology of chick embryos and allantois depicted nondestructively by 3.0T clinical magnetic resonance imaging. *Poultry Science*. 2023; 102(9): 102902. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102902>
- Vimalraj S., Renugaa S., Dhanasekaran A. Chick embryo chorioallantoic membrane: a biomaterial testing platform for tissue engineering applications. *Process Biochemistry*. 2023; 124: 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.11.007>
- Wittig J.G., Münsterberg A. The Early Stages of Heart Development: Insights from Chicken Embryos. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2016; 3(2): 12. <https://doi.org/10.3390/jcdd3020012>
- Vilches-Moure J.G. Embryonic chicken (*Gallus gallus domesticus*) as a model of cardiac biology and development. *Comparative Medicine*. 2019; 69(3): 184–203. <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-18-000061>
- Lansford R., Rugonyi S. Follow Me! A Tale of Avian Heart Development with Comparisons to Mammal Heart Development. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2020; 7(1): 8. <https://doi.org/10.3390/jcdd7010008>
- Ma Y. *et al.* OCT based four-dimensional cardiac imaging of a living chick embryo using an impedance signal as a gating for post-acquisition synchronization. *Biomedical Optics Express*. 2022; 13(12): 6595–6609. <https://doi.org/10.1364/BOE.476254>
- Raiola M., Sendra M., Torres M. Imaging Approaches and the Quantitative Analysis of Heart Development. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2023; 10(4): 145. <https://doi.org/10.3390/jcdd10040145>
- Sukumaran V., Mutlu O., Murtaza M., Alhalbouni R., Dubansky B., Yalcin H.C. Experimental assessment of cardiovascular physiology in the chick embryo. *Developmental Dynamics*. 2023. <https://doi.org/10.1002/dvdy.589>
- Metscher B.D. MicroCT for developmental biology: A versatile tool for high-contrast 3D-imaging at histological resolutions. *Developmental Dynamics*. 2009; 238(3): 632–640. <https://doi.org/10.1002/dvdy.21857>
- Hamburger V., Hamilton H.L. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Developmental Dynamics*. 1992; 195(4): 231–272. <https://doi.org/10.1002/aja.1001950404>
- Bjørnstad S., Austdal L.P.E., Roald B., Glover J.C., Paulsen R.E. Cracking the Egg: Potential of the Developing Chicken as a Model System for Nonclinical Safety Studies of Pharmaceuticals. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2015; 355(3): 386–396. <https://doi.org/10.1124/jpet.115.227025>
- AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. *American Veterinary Medical Association*. 2020; 121. ISBN 978-1-882691-09-8
- Rzhepakovsky I. *et al.* Anti-arthritis effect of chicken embryo tissue hydrolyzate against adjuvant arthritis in rats (X-ray microtomographic and histopathological analysis). *Food Science & Nutrition*. 2021; 9(10): 5648–5669. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2529>
- Nagdalian A.A. *et al.* Analysis of the content of mechanically separated poultry meat in sausage using computing microtomography. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021; 100: 103918. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103918>
- Рогозина М.Н. Развитие зародыша домашней курицы в его соотношении с желтком и оболочками яйца (с таблицами последовательных стадий развития). М.: Издательство Академии наук СССР. 1961; 167.
- Петренко В.М. Морфогенез задней полой вены в эмбриогенезе домашней курицы. I. Закладка. *Успехи современного естествознания*. 2014; (5-2): 90–93. <https://elibrary.ru/sdzgvy>
- Петренко В.М. Морфогенез задней полой вены в эмбриогенезе домашней курицы. II. Формирование ствола. *Успехи современного естествознания*. 2014; (9-1): 55–58. <https://elibrary.ru/sjlpsx>

## REFERENCES

- Garcia P., Wang Y., Viallet J., Macek Jilkova Z. The Chicken Embryo Model: A Novel and Relevant Model for Immune-Based Studies. *Frontiers in Immunology*. 2021; 12: 791081. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.791081>
- Chen L. *et al.* Dynamic 3D-morphology of chick embryos and allantois depicted nondestructively by 3.0T clinical magnetic resonance imaging. *Poultry Science*. 2023; 102(9): 102902. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102902>
- Vimalraj S., Renugaa S., Dhanasekaran A. Chick embryo chorioallantoic membrane: a biomaterial testing platform for tissue engineering applications. *Process Biochemistry*. 2023; 124: 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.11.007>
- Wittig J.G., Münsterberg A. The Early Stages of Heart Development: Insights from Chicken Embryos. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2016; 3(2): 12. <https://doi.org/10.3390/jcdd3020012>
- Vilches-Moure J.G. Embryonic chicken (*Gallus gallus domesticus*) as a model of cardiac biology and development. *Comparative Medicine*. 2019; 69(3): 184–203. <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-18-000061>
- Lansford R., Rugonyi S. Follow Me! A Tale of Avian Heart Development with Comparisons to Mammal Heart Development. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2020; 7(1): 8. <https://doi.org/10.3390/jcdd7010008>
- Ma Y. *et al.* OCT based four-dimensional cardiac imaging of a living chick embryo using an impedance signal as a gating for post-acquisition synchronization. *Biomedical Optics Express*. 2022; 13(12): 6595–6609. <https://doi.org/10.1364/BOE.476254>
- Raiola M., Sendra M., Torres M. Imaging Approaches and the Quantitative Analysis of Heart Development. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2023; 10(4): 145. <https://doi.org/10.3390/jcdd10040145>
- Sukumaran V., Mutlu O., Murtaza M., Alhalbouni R., Dubansky B., Yalcin H.C. Experimental assessment of cardiovascular physiology in the chick embryo. *Developmental Dynamics*. 2023. <https://doi.org/10.1002/dvdy.589>
- Metscher B.D. MicroCT for developmental biology: A versatile tool for high-contrast 3D-imaging at histological resolutions. *Developmental Dynamics*. 2009; 238(3): 632–640. <https://doi.org/10.1002/dvdy.21857>
- Hamburger V., Hamilton H.L. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Developmental Dynamics*. 1992; 195(4): 231–272. <https://doi.org/10.1002/aja.1001950404>
- Bjørnstad S., Austdal L.P.E., Roald B., Glover J.C., Paulsen R.E. Cracking the Egg: Potential of the Developing Chicken as a Model System for Nonclinical Safety Studies of Pharmaceuticals. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2015; 355(3): 386–396. <https://doi.org/10.1124/jpet.115.227025>
- AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. *American Veterinary Medical Association*. 2020; 121. ISBN 978-1-882691-09-8
- Rzhepakovsky I. *et al.* Anti-arthritis effect of chicken embryo tissue hydrolyzate against adjuvant arthritis in rats (X-ray microtomographic and histopathological analysis). *Food Science & Nutrition*. 2021; 9(10): 5648–5669. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2529>
- Nagdalian A.A. *et al.* Analysis of the content of mechanically separated poultry meat in sausage using computing microtomography. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021; 100: 103918. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103918>
- Ragozina M.N. The development of the domestic chicken embryo in its relation to the yolk and shells of the egg (with tables of successive stages of development). Moscow: Academy of Sciences of the USSR publ. 1961; 167 (In Russian).
- Petrenko V.M. Morphogenesis of posterior vena cava in embryogenesis of domestic fowl. I. The anlage. *Advances in current natural sciences*. 2014; (5-2): 90–93 (In Russian). <https://elibrary.ru/sdzgvy>
- Petrenko V.M. Morphogenesis of posterior vena cava in embryogenesis of domestic fowl. II. Formation of the stem. *Advances in current natural sciences*. 2014; (9-1): 55–58 (In Russian). <https://elibrary.ru/sjlpsx>

19. Zhang X., Yelbuz T.M., Cofer G.P., Choma M.A., Kirby M.L., Johnson G.A. Improved preparation of chick embryonic samples for magnetic resonance microscopy. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2003; 49(6): 1192–1195. <https://doi.org/10.1002/mrm.10460>
20. Kim J.S., Min J., Recknagel A.K., Riccio M., Butcher J.T. Quantitative Three-Dimensional Analysis of Embryonic Chick Morphogenesis Via Microcomputed Tomography. *The Anatomical Record*. 2010; 294(1): 1–10. <https://doi.org/10.1002/ar.21276>
21. Martinsen B.J. Reference guide to the stages of chick heart embryology. *Developmental Dynamics*. 2005; 233(4): 1217–1237. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20468>
22. Ruffins S.W. et al. Digital Three-Dimensional Atlas of Quail Development Using High-Resolution MRI. *The Scientific World Journal*. 2007; 7: 259090. <https://doi.org/10.1100/tsw.2007.125>
23. Tan G.X.Y., Jamil M., Tee N.G.Z., Zhong L., Yap C.H. 3D-reconstruction of Chick Embryo Vascular Geometries Using Non-invasive High-Frequency Ultrasound for Computational Fluid Dynamics Studies. *Annals of Biomedical Engineering*. 2015; 43(11): 2780–2793. <https://doi.org/10.1007/s10439-015-1339-y>
24. Wang Y. et al. Aortic Arch Morphogenesis and Flow Modeling in the Chick Embryo. *Annals of Biomedical Engineering*. 2009; 37(6): 1069–1081. <https://doi.org/10.1007/s10439-009-9682-5>

## ОБ АВТОРАХ

- Игорь Владимирович Ржепаковский<sup>1</sup>**, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, Медико-биологический факультет [irzhepakovskii@ncfu.ru](mailto:irzhepakovskii@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-2632-8923>
- Людмила Дмитриевна Тимченко<sup>1</sup>**, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник, Медико-биологический факультет [ltimchenko@ncfu.ru](mailto:ltimchenko@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0003-2011-880X>
- Сергей Иванович Писков<sup>1</sup>**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Медико-биологический факультет [spiskov@ncfu.ru](mailto:spiskov@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-5558-5486>
- Светлана Суменовна Аванесян<sup>1</sup>**, научный сотрудник, Медико-биологический факультет [savanesian@ncfu.ru](mailto:savanesian@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0003-3536-1247>
- Марина Николаевна Сизоненко<sup>1</sup>**, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Медико-биологический факультет [msizonenko@ncfu.ru](mailto:msizonenko@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-1009-7112>
- Магомед Шамилович Шахбанов<sup>1</sup>**, ассистент кафедры зоологии и паразитологии, Медико-биологический факультет [mshakhbanov@ncfu.ru](mailto:mshakhbanov@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0003-2580-7233>
- Андрей Ашотович Нагдalian<sup>1</sup>**, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, НИЛ пищевой и промышленной биотехнологии, факультет пищевой инженерии и биотехнологий [anagdalian@ncfu.ru](mailto:anagdalian@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-6782-2821>
- Максим Борисович Ребезов<sup>2, 3</sup>**,  
• доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник<sup>2</sup>;  
• доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор кафедры биотехнологии и пищевых продуктов<sup>3</sup> [rebezov@ya.ru](mailto:rebezov@ya.ru) <https://orcid.org/0000-0003-0857-5143>

<sup>1</sup>Северо-Кавказский федеральный университет, ул. Пушкина, 1, Ставрополь, 355017, Россия

<sup>2</sup>Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской академии наук, ул. Талалихина, 26, Москва, 109316, Россия

<sup>3</sup>Уральский государственный аграрный университет, ул. Карла Либкнехта, 42, Екатеринбург, 620075, Россия

19. Zhang X., Yelbuz T.M., Cofer G.P., Choma M.A., Kirby M.L., Johnson G.A. Improved preparation of chick embryonic samples for magnetic resonance microscopy. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2003; 49(6): 1192–1195. <https://doi.org/10.1002/mrm.10460>
20. Kim J.S., Min J., Recknagel A.K., Riccio M., Butcher J.T. Quantitative Three-Dimensional Analysis of Embryonic Chick Morphogenesis Via Microcomputed Tomography. *The Anatomical Record*. 2010; 294(1): 1–10. <https://doi.org/10.1002/ar.21276>
21. Martinsen B.J. Reference guide to the stages of chick heart embryology. *Developmental Dynamics*. 2005; 233(4): 1217–1237. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20468>
22. Ruffins S.W. et al. Digital Three-Dimensional Atlas of Quail Development Using High-Resolution MRI. *The Scientific World Journal*. 2007; 7: 259090. <https://doi.org/10.1100/tsw.2007.125>
23. Tan G.X.Y., Jamil M., Tee N.G.Z., Zhong L., Yap C.H. 3D-reconstruction of Chick Embryo Vascular Geometries Using Non-invasive High-Frequency Ultrasound for Computational Fluid Dynamics Studies. *Annals of Biomedical Engineering*. 2015; 43(11): 2780–2793. <https://doi.org/10.1007/s10439-015-1339-y>
24. Wang Y. et al. Aortic Arch Morphogenesis and Flow Modeling in the Chick Embryo. *Annals of Biomedical Engineering*. 2009; 37(6): 1069–1081. <https://doi.org/10.1007/s10439-009-9682-5>

## ABOUT THE AUTHORS

- Igor Vladimirovich Rzhepakovsky<sup>1</sup>**, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher, Faculty of Medicine and Biology [irzhepakovskii@ncfu.ru](mailto:irzhepakovskii@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-2632-8923>
- Lyudmila Dmitrievna Timchenko<sup>1</sup>**, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Scientific Officer, Faculty of Medicine and Biology [ltimchenko@ncfu.ru](mailto:ltimchenko@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0003-2011-880X>
- Sergey Ivanovich Piskov<sup>1</sup>**, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Faculty of Medicine and Biology [spiskov@ncfu.ru](mailto:spiskov@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-5558-5486>
- Svetlana Surenovna Avanesyan<sup>1</sup>**, Research Associate, Faculty of Medicine and Biology [savanesian@ncfu.ru](mailto:savanesian@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0003-3536-1247>
- Marina Nikolaevna Sizonenko<sup>1</sup>**, Candidate of Biological Sciences, Research Associate, Faculty of Medicine and Biology [msizonenko@ncfu.ru](mailto:msizonenko@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-1009-7112>
- Magomed Shamilovich Shakhbanov<sup>1</sup>**, Assistant of the Department of Zoology and Parasitology, Faculty of Medicine and Biology [mshakhbanov@ncfu.ru](mailto:mshakhbanov@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0003-2580-7233>
- Andrey Ashotovich Nagdalian<sup>1</sup>**, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Food and Industrial Biotechnology, Faculty of Food Engineering and Biotechnology [anagdalian@ncfu.ru](mailto:anagdalian@ncfu.ru) <https://orcid.org/0000-0002-6782-2821>
- Maksim Borisovich Rebezov<sup>2, 3</sup>**,  
• Doctor of Agricultural Sciences, Candidate of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher<sup>2</sup>;  
• Doctor of Agricultural Sciences, Candidate of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Food Products<sup>3</sup> [rebezov@ya.ru](mailto:rebezov@ya.ru) <https://orcid.org/0000-0003-0857-5143>

<sup>1</sup>North-Caucasus Federal University, 1 Pushkin Str., Stavropol, 355017, Russia

<sup>2</sup>V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences, 26 Talalikhin Str., Moscow, 109316, Russia

<sup>3</sup>Ural State Agrarian University, 42 Karl Liebknecht Str., Yekaterinburg, 620075, Russia