

На правах рукописи



ЗЫКОВА ЛИДИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ И СРЕДСТВ  
УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАРДИОГРАФИИ  
МАЛЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ  
*IN VIVO***

Специальность 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики»

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Москва – 2025 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Научно-технологическом центре уникального приборостроения Российской академии наук (ФГБУН НТЦ УП РАН).

**Научный руководитель:**

Доктор технических наук, доцент,  
старший научный сотрудник НТЦ УП РАН

Титов Сергей Александрович

**Официальные оппоненты:**

Доктор физико-математических наук,  
ведущий научный сотрудник НОЦ  
«Фундаментальная и прикладная фотоника.  
Нанопотоника», ФГАОУ ВО «БФУ им. И.  
Канта»

Братченко Иван Алексеевич

Кандидат технических наук, доцент, директор  
научно-образовательной лаборатории  
«Техническое зрение», ФГАОУ ВО «НИУ  
ИТМО» (Университет ИТМО)

Волынский Максим Александрович

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
«Национальный исследовательский университет «МИЭТ».

Защита диссертации состоится «11» февраля 2026 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета 24.1.029.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН) по адресу: 198095, а/я 140, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке ИАП РАН по тому же адресу и на сайте в сети Интернет по ссылке: <https://iairas.ru/>.

Отзывы на диссертацию и автореферат направлять по адресу: 198095, а/я 140, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А, ИАП РАН, диссертационный совет.

Автореферат разослан

«\_\_» \_\_\_\_\_ 202 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор физико-математических наук



А.Л. Буяница

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

В последние десятилетия биология развития стала одним из передовых направлений современной науки, которое дало уникальные по своей значимости результаты. К числу объектов биологии развития относятся несколько десятков видов животных, в том числе лабораторные мыши, эмбрионы цыплят, рыбы. В последнее время начали активно пропагандировать использование низших позвоночных, а именно рыб, на ранних стадиях развития, в качестве модельного объекта не только в биологии развития, но и в области медицины, экологии, фармацевтики, и др. [1–3]. Одним из наиболее популярных модельных организмов стала рыба *Danio rerio* (данио-рерио), организм которой удовлетворяет многим критериям биологической модельной системы для изучения процессов развития. Например, ввиду своих маленьких размеров, этот вид рыбок может выращиваться в небольшой лаборатории в большом количестве. Они доступны для полного генетического анализа, необходимого для обнаружения наследственных связей между поколениями, на них можно исследовать влияние различных лекарств и патогенных факторов на развитие как в течении жизни, так и в ряду поколений [3]. Для различных научных исследований рыба *Danio rerio* удобна тем, что у нее быстрый процесс эмбрионального развития и короткий репродуктивный цикл. У низших позвоночных характерный размер эмбриона составляет 1–3 мм. Уже к 24 часам после оплодотворения яйцеклетка превращается в эмбрион, который, по большей части, сформирован. К этому времени происходит формирование зародышевого диска, деление бластомеров, образование бластулы, формирование и распространение клеточной массы, развитие органов, нервной системы, сердца и системы кровообращения [4].

Важной особенностью рыб *Danio rerio* является их оптическая прозрачность на ранних стадиях развития в сравнение с ограниченной доступностью органов у других модельных объектов. Оптический доступ к внутренней структуре дает возможность изучать сердечно-сосудистую систему низших позвоночных, что в настоящее время вызывает значительный интерес [5; 6].

Особый интерес представляют кардиологические исследования живых организмов, для проведения которых разработаны многочисленные передовые методы, прежде всего оптические, на основе конфокальной микроскопии, оптической когерентной томографии, флуоресцентной микроскопии и других методов. **Оптические методы** позволяют получать информацию об объекте, не прибегая к физическому контакту с ним, и наблюдать протекающие процессы в организме в режиме реального времени. Такие методы применяются для наблюдения за строением объекта, его ростом, делением клеток, развитием сердца и кровотоком. Визуализация с помощью света имеет некоторые ограничения в наблюдении за органами, расположенными внутри образца из-за низкой контрастности структурных элементов на стадии зародыша и рассеяния света на оптических неоднородностях. Большинство методов оптической микроскопии основаны на использовании излучения высокой интенсивности и на окрашивании объекта, что оказывает разрушительное воздействие на живой организм и представляет серьезную проблему при длительном исследовании.

Хотя оптические методы надежны и проверены, для изучения малых живых организмов перспективными являются и другие методы, в частности **акустическая микроскопия**. Методы, основанные на использовании ультразвука, представляют собой высокоэффективные неинвазивные инструменты, позволяющие наблюдать за процессами развития организмов *in vivo* с минимальным воздействием на них. Эти методы не только обеспечивают получение достоверных результатов, но и способствуют сохранению исследуемого объекта без повреждений для долгосрочного наблюдения за его дальнейшим развитием. Преимущество акустической микроскопии заключается в получении ультразвуковых изображений с высоким разрешением не только в фокальной плоскости, но и вдоль направленного пучка, что приводит к возможности визуализации трехмерной структуры объекта. Это позволяет анализировать пространственное распределение упруго-вязкостных свойств и обеспечивает высокий контраст для объектов, которые могут быть непрозрачными или плохо видимыми в оптическом диапазоне.

Ультразвуковые исследования сердечно-сосудистой системы малых низших позвоночных являются важным, развивающимся диагностическим инструментом на сегодняшний день. Для визуализации организмов с размерами сердца от 1 мм до 10 см используются стандартные ультразвуковые приборы, которые коммерчески доступны. Частота работы таких устройств достигает 10 МГц, они отличаются быстроедействием, однако имеют недостаточно высокое пространственное разрешение, особенно при измерении кровотока. Это позволяет проводить исследования, к примеру, на взрослых особях рыб, но затрудняет визуализацию объектов малых размеров. Поэтому в данной работе для рыб на более ранних стадиях предлагается методика исследования с использованием сканирующего акустического микроскопа (САМ), работающего в диапазоне частот от 20 до 200 МГц. Этот подход позволяет визуализировать сердце рыб и анализировать изменения в сердечно-сосудистой системе на ранних стадиях развития с размерами сердца 100–200 мкм. По сравнению с коммерчески доступными ультразвуковыми сканерами, САМ обеспечивает регистрацию эхо-сигналов при фиксированном положении датчика с достаточным пространственным разрешением порядка 10 мкм и высокой частотой повторения зондирующих импульсов от 10 до 20 кГц.

В акустическом микроскопе используется фокусирующий датчик высокого разрешения, который записывает ультразвуковой сигнал в некоторой фиксированной точке. Несмотря на возможность получения данных с высокой частотой дискретизации по времени, такая акустическая система не позволяет одновременно регистрировать сигналы в различных точках объекта. Это приводит к потере временных соотношений между процессами, происходящими в разных областях сердца, без знания которых невозможно исследовать динамические параметры сердечной деятельности. В связи с этим, предложен метод, основанный на синхронизации данных, полученных в различных точках объекта, с использованием сигнала, содержащего информацию о частоте и фазе сердечных сокращений. В качестве источника таких сигналов можно было бы использовать электрокардиограмму, однако для изучения малых организмов ее запись либо невозможна, либо являются травмирующей. Поэтому для проведения исследований и визуализации повторяющихся процессов в биологических объектах на ранних стадиях

предлагается использовать модуляцию интенсивности в оптических изображениях как альтернативный источник сигналов.

Таким образом, возникает необходимость в разработке метода, который позволит восстановить временные соотношения между фазами сердечной деятельности и ультразвуковыми данными, регистрируемыми в различных областях сердца. Кроме того, требуется создание комбинированного экспериментального стенда, который объединит ультразвуковые и оптические методы для проведения комплексного исследования динамики сердца малых организмов, таких как *Danio rerio*.

### **Цель и задачи диссертационной работы**

Цель диссертационной работы заключается в разработке методов и аппаратно-программных средств ультразвукового исследования деятельности сердца малых организмов *in vivo* с возможностью параллельной визуализации в оптическом диапазоне.

Для достижения этой цели в работе решались следующие **задачи**:

1. Разработать концепцию определения параметров сердечной деятельности малых организмов *in vivo* с использованием акустической и оптической микроскопии.
2. Разработать экспериментальный стенд для исследования деятельности сердца на ранних стадиях развития на основе использования специализированной высокочастотной ультразвуковой системы, сочлененной с классическим оптическим микроскопом.
3. Разработать неинвазивный метод исследования сердечной деятельности малых организмов *in vivo* с использованием экспериментального стенда.
4. Разработать метод синхронной регистрации ультразвуковых и видеоданных при исследовании квазипериодических процессов в сердце малых организмов.
5. Разработать алгоритмы ультразвуковой визуализации динамики сердца, включая анализ движения сердечных камер и кровотока, с последующим определением параметров сердца.
6. Провести тестирование стенда и методов на малых организмах на ранних стадиях развития.

**Научная новизна диссертационной работы** заключается в следующем:

1. Разработан метод исследования сердечной деятельности малых биологических объектов на ранних стадиях развития *in vivo*, который, в отличие от известных методов, позволяет одновременно регистрировать ультразвуковые и оптические данные.
2. Разработан экспериментальный стенд, предназначенный для изучения сердца малых организмов *in vivo*, в котором совмещена ультразвуковая система визуализации с высоким пространственным разрешением и оптический микроскоп.
3. Разработан метод синхронизации ультразвуковых данных, записанных в разных пространственных точках, с фазами сердечного ритма, определенных по видеоданным.
4. Разработаны алгоритмы обработки ультразвуковых данных, предназначенные для визуализации сердца исследуемых объектов, размеры которого составляют 100–300 мкм.

Алгоритмы позволяют получать пространственно-временное распределение скорости кровотока, оценивать временные зависимости размеров и формы сердечных камер и стенок сердца.

#### **Практическая значимость диссертационной работы** заключается в следующем:

1. Предложенный неинвазивный метод и экспериментальный стенд позволяют получать как ультразвуковые, так и оптические данные для изучения сердца малых организмов *in vivo*, измерения физических характеристик, таких как пространственное и временное распределение скорости кровотока и стенок камер сердца.

2. Разработанные алгоритмы ультразвуковой визуализации изучаемых объектов могут быть использованы для оценки функционального состояния и динамики развития сердца организмов под воздействием внешних факторов, таких как вирусы и бактерии, а также температура, химический состав воды и др.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработанные методы и аппаратно-программные средства позволяют исследовать *in vivo* сердце низших позвоночных на ранних стадиях развития (эмбриональной и личиночной) с характерными размерами сердца 100–300 мкм путем формирования и совместного анализа высокочастотных ультразвуковых и оптических изображений.

2. Разработанный метод синхронизации ультразвуковых данных по модуляции интенсивности оптических изображений, обеспечивающий временное согласование с погрешностью  $\pm 10$  мс, позволяет осуществлять трехмерную визуализацию работающего сердца.

3. Разработанный экспериментальный стенд и алгоритмы обработки данных позволяют измерять пространственно-временное распределение вертикальной составляющей скорости кровотока в диапазоне  $\pm 25$  мм/с. Алгоритмы позволяют оценить размеры и форму сердечных камер, которые варьируются в пределах 50–100 мкм для рыбы *Danio rerio* на ранних стадиях развития.

4. Результаты визуализации структуры сердца *Danio rerio* и анализа движения его компонентов, полученные с помощью разработанных ультразвуковой методики и экспериментального стенда, дают возможность комплексного неинвазивного мониторинга состояния малых организмов.

#### **Личный вклад автора**

Вклад автора заключается в получении научных результатов на всех этапах работы, выполнении экспериментальных исследований на живых организмах, изложенных в диссертационной работе, цифровой обработке полученных оптических и ультразвуковых данных, анализе и интерпретации результатов, подготовке материалов к публикации и представлении полученных результатов на конференциях. Для создания нового

экспериментального стенда установки, автором были разработан комплект конструктивных частей документации экспериментального стенда для акустического микроскопа.

### **Достоверность и обоснованность результатов**

Достоверность полученных результатов в работе и обоснованность выводов опирается на широко используемые методы, такие как акустическая и оптическая микроскопия. Полученные экспериментальные результаты, которые основываются на используемых методах, согласуются с известными результатами и между собой.

### **Апробация работы**

Результаты работы, изложенные в работе, представлены на следующих международных конференциях: 16-ая Международная научно-техническая конференция «Оптические методы исследования потоков» ОМИП–2021 (28 июня – 02 июля, 2021, Москва); XVI международная научная конференция «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ–2021» (19 – 23 сентября, 2021, Севастополь); IV Международная научная конференция «Наука будущего – наука молодым» (17–20 ноября, 2021, Москва, Калининград); V Международная конференция «Информационные технологии и технические средства управления» (ICST–2021) (4–7 октября, 2021, Астрахань); XXXII Всероссийская школа-семинар «Волновые явления: физика и применения» имени профессора А.П. Сухорукова (6–11 июня, 2021, Можайск, Московская обл.); XXV Международная научная конференция «Волновая электроника и инфокоммуникационные системы» (30 мая – 3 июня, 2022, Санкт-Петербург); VI Международная конференция «Информационные технологии и технические средства управления» (ICST–2022) (3–7 октября, 2022, Астрахань); XXXIII Всероссийская школа-семинар «Волновые явления: физика и применения» имени профессора А.П. Сухорукова (5–10 июня, 2022, Можайск, Московская обл.); Выставка-семинар «Современные приборы для физических исследований» (21 декабря, 2022, Москва, НТЦ УП РАН); XVII Международная научно-техническая конференция «Оптические методы исследования потоков» ОМИП–2023 (26–30 июня, 2023, Москва); XXIV съезд физиологического общества им. И.П. Павлова (11–15 сентября, 2023, Санкт-Петербург); 16-ая Международная конференция «Акустооптические и радиолокационные методы измерений и обработки информации» (ARMIMP–2023) (9–12 октября, 2023, Суздаль); XXVII международная научная конференция «Волновая электроника и инфокоммуникационные системы» (3–7 июня, 2024, Санкт-Петербург); 17-ая Международная конференция «Акустооптические и радиолокационные методы измерений и обработки информации» (ARMIMP–2024) (23–26 сентября, 2024, Суздаль); XVIII Международная научно-техническая конференция «Оптические методы исследования потоков» ОМИП–2025 (30 июня – 4 июля, 2025, Москва).

### **Публикации результатов**

По материалам диссертации опубликованы 24 научные работы, включая 8 статей в изданиях, рекомендованных ВАК и/или входящих в базы цитирования Web of Science и Scopus,

получены 1 патент на полезную модель и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Результаты работы были представлены на 15 конференциях, в том числе, на международных.

### **Структура и объем работы**

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, включающих в себя обзор литературы, основных результатов экспериментальных исследований, собственных разработок, выводов, и списка цитируемой литературы. Объем диссертации составляет 146 страниц печатного текста и содержит 53 рисунка, 2 таблицы и список литературы из 123 наименований.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во **Введении** обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы цель и основные задачи работы, показана научная новизна и практическая значимость результатов, представлены выносимые на защиту научные положения, а также описывается структура диссертации.

**Глава 1** посвящена анализу различных методов исследования *in vivo* параметров сердечной деятельности и визуализации востребованных биологических моделей, таких как рыбки *Danio rerio* на ранних стадиях развития. Наиболее популярными методами, которые были описаны в данной главе, являются оптические методы. Показано, что оптические методы обеспечивают высокое пространственное разрешение, что важно для изучения оптически прозрачных объектов, таких как эмбрионы и личинки рыбы *Danio rerio*. Однако для визуализации их внутренней структуры необходимо использовать излучение высокой интенсивности, характерное для оптической микроскопии, и красители, что оказывает разрушительное воздействие на живой организм при длительном исследовании. Частота кадров, достижимая в оптических системах при безопасной интенсивности света, оказывается недостаточной для правильного изображения быстродвижущихся компонентов, таких как клетки крови. Кроме того, возникают сложности при получении оптических изображений в нескольких плоскостях в определенный момент времени без перестройки оптической системы [7; 8].

В значительной степени преодолеть указанные недостатки позволяют ультразвуковые методы. Они являются в высокой степени неинвазивными, что позволяет осуществлять длительное наблюдение за живыми организмами без нарушения их целостности. Ультразвуковые волны способны проникать в оптически непрозрачные среды, обеспечивая приемлемый контраст без окрашивания, позволяют визуализировать трехмерное распределение механических свойств, таких как упругость, плотность и вязкость объекта и исследовать внутреннюю структуру объекта на разной глубине. С помощью ультразвуковых методов можно достичь разрешение не только в фокальной плоскости, но и вдоль направленного пучка, что приводит к возможности визуализации трехмерной структуры объекта. Это достигается путем применения различных режимов ультразвуковой визуализации, которые используются для анализа структуры исследуемых образцов и динамических процессов, происходящих в сердце. Кроме того, ультразвуковой сигнал может быть записан в определенной точке с высокой

частотой повторения, достаточной для эффективного отслеживания быстропротекающих процессов в организме [9].

Ультразвуковые методы уже широко используются для изучения биологических объектов *in vivo* (рисунок 1). Для крупных организмов с характерным размером сердца около 10 см используются коммерческие многоэлементные ультразвуковые сканеры, обладающие пространственным разрешением порядка 1 мм и работающие в частотном диапазоне 2,5–5 МГц. Для изучения живых организмов, таких как взрослые рыбы *Danio rerio*, применяются устройства на основе фазированных решеток, функционирующие в диапазоне частот 2–10 МГц. Однако такие многоэлементные системы ограничены в пространственном разрешении (около 100 мкм), а наименьший размер сердца, который способны визуализировать составляет 1 мм [10], что недостаточно при анализе малых биологических объектов, у которых размеры сердца варьируются от 100 до 300 мкм.

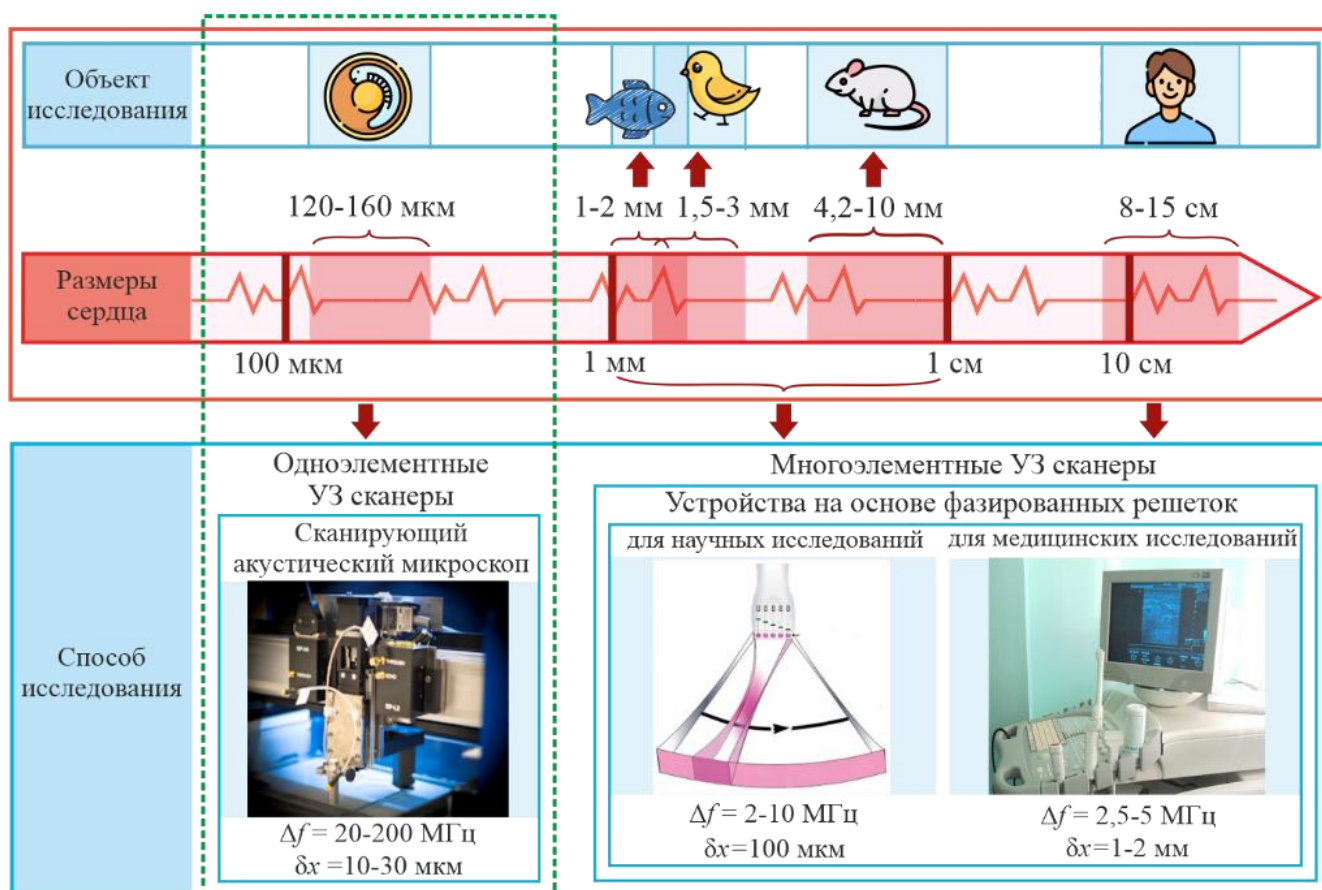


Рисунок 1 – Применение ультразвуковых устройств для разных живых организмов

Для визуализации сердца малых организмов, таких как эмбрионы и личинки рыба *Danio rerio*, требуется использовать одноэлементные ультразвуковые сканеры с более высокой частотой и пространственным разрешением. В частности, сканирующий акустический микроскоп (САМ), работающий в диапазоне частот  $\Delta f$  от 20 до 200 МГц, обеспечивает пространственное разрешение порядка 10 мкм. Благодаря высокому пространственному

разрешению, САМ позволяет быстро (при частоте повторения зондирующих импульсов на уровне до 10 кГц) регистрировать эхо-сигналы в одном положении датчика [11].

Однако в акустическом микроскопе используется одиночный фокусирующий высокочастотный преобразователь, что приводит к последовательной записи данных в разных точках с некоторым шагом, обусловленным механическим перемещением преобразователя. В связи с этим возникает проблема регистрации быстропротекающих нестационарных объектов, таких как работающее сердце. Однако для эхокардиографических исследований важно сохранять корректные временные соотношения между процессами, записанными в разных точках, учитывая периодические колебания сердечного ритма. Осуществить синхронизацию записанных ультразвуковых сигналов в разных точках к сердечному ритму можно с помощью дополнительных данных, поступающих от оптического блока. В качестве дополнительного сигнала может использоваться записанный видеоряд, представленный в виде стека оптических данных. Таким образом, возникает потребность в разработке метода восстановления временных соотношений между ультразвуковыми данными и оптическими сигналами, а также в создании экспериментального стенда, который обеспечит объединение ультразвуковых и оптических данных для проведения эхокардиографических исследований.

В **Главе 2** описан разработанный экспериментальный стенд [12], схема которого представлена на рисунке 2. Для проведения эксперимента анестезированная особь *Danio rerio* 1 помещалась в иммерсионную ячейку 2 с водой, имеющую прозрачную конструкцию. В ячейке предусмотрено отверстие для размещения объекта, что обеспечивало его иммобилизацию в ходе эксперимента. В процессе работы было установлено, что экспериментальный стенд целесообразно построить на основе инвертированного оптического микроскопа (ОМ). Он позволяет точно позиционировать объект, обеспечивает визуальный контроль за состоянием организма и его положением в процессе исследований, а также выступает в качестве источника дополнительной информации при интерпретации ультразвуковых данных. Кроме того, оптический микроскоп позволяет получать сигнал сердечного ритма на основе видео данных, сделанных цифровой камерой 3, для синхронизации с ультразвуковыми данными. Частота кадров оптического блока (до 75 кадров в секунду) обеспечивает достаточное качество изображений быстродвижущихся компонентов, таких как клетки крови.

Акустический микроскоп (АМ) предназначен для проведения неинвазивных исследований малых биологических объектов, позволяя долгосрочно наблюдать процессы развития организма *in vivo* с минимальным воздействием. В установке использовался акустический блок 4, состоящий из акустической линзы и преобразователя. Ультразвуковой преобразователь излучает импульсные сфокусированные волны и принимает рассеянные образцом эхо-сигналы. Принятые сигналы передаются в электронный узел 5, обрабатываются и сохраняются в компьютере 7. Частота дискретизации принятого эхо-импульсного сигнала составляет 500 МГц, а частота следования зондирующих импульсов достигает 5 кГц, что является достаточным для адекватного мониторинга движения клеток крови для организмов на ранних стадиях развития. Используемый преобразователь с центральной частотой  $f_0 = 75$  МГц обеспечивает пространственное разрешение, достигающее 20 мкм, что позволяет исследовать

сердце эмбрионов и личинок *Danio rerio* с размерами 100–300 мкм. Акустическая линза обеспечивает глубину резкости приблизительно 100 мкм, достаточную для наблюдения структуры сердца *Danio rerio* на ранних стадиях развития. Для регистрации пространственной структуры ультразвуковых сигналов используется механический сканер 6, который обеспечивает высокую точность позиционирования и перемещения с точностью 2 мкм.

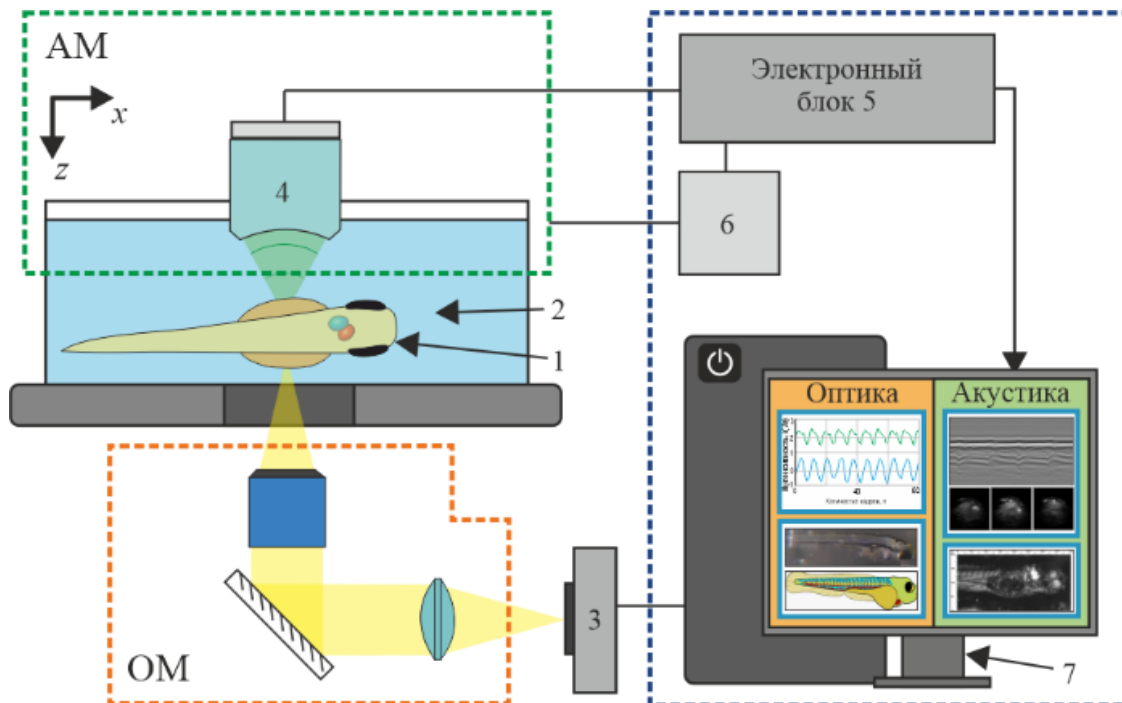


Рисунок 2 – Схема экспериментального стенда: 1 – исследуемый объект; 2 – иммерсионная ячейка с водой; 3 – цифровая камера; 4 – акустический блок; 5 – электронный блок; 6 – механический сканер; 7 – компьютер

В процессе исследования стационарного объекта осуществляется регистрация данных в форматах  $s(x, y_m, z)$  (для В-сканирования) и  $s(x, y, z_m)$  (для С-сканирования), где  $x, y$  – продольная и поперечная координаты сканирования преобразователя,  $z$  – вертикальная координата, а координаты  $y_m$  и  $z_m$  имеют фиксированное значение (рисунок 3(а) и рисунок 3(б)). Режим М-сканирования, показанный на рисунке 3(в), предназначен для регистрации движения элементов в сердце с помощью зондирующих импульсов с частотой повторения до 5 кГц и длительностью 4 секунды, что позволяет охватывать несколько циклов сердечного ритма. В этом режиме осуществляется запись ультразвуковых сигналов в зависимости от продольной координаты  $z$  и времени  $T$ , при этом запись ультразвуковых сигналов производится вдоль осей  $x$  или  $y$  преобразователя и отображается в формате  $s(x_m, y_m, z, T)$ . Сформированный объём ультразвуковых данных может составлять сотни мегабайт и передается для дальнейшей обработки в компьютер.

Для корректной работы экспериментального устройства была разработана методика совмещения акустической и оптической осей модулей, основанная на ультразвуковой и оптической визуализации объекта с маркером в виде перекрестия, контрастным как в оптическом, так и акустическом диапазонах. Разработана методика подготовки образца к

эксперименту, которая заключается в анализе иммерсионных сред, допустимых для сохранения жизни образца и комфортного наблюдения за ним в процессе регистрации данных. В качестве иммерсионной жидкости выступала природная вода при температуре 26 °С, где скорость ультразвуковой волны составляла приблизительно  $C_w \approx 1500$  м/с. Для длительного наблюдения предусмотрено использование анестезии для предотвращения неконтролируемого движения особи. В качестве анестетика применяется раствор MS-222 с концентрацией 0,168 мг/мл. Такая концентрация MS-222 эффективно обездвиживает образец без негативного влияния на его жизненные функции. Для экспериментальных исследований был спроектирован ряд иммерсионных ячеек из биосовместимых материалов, имеющих прозрачную конструкцию для оптического наблюдения снизу. В основных элементах были предусмотрены отверстия для иммобилизации организма на продолжительное время.

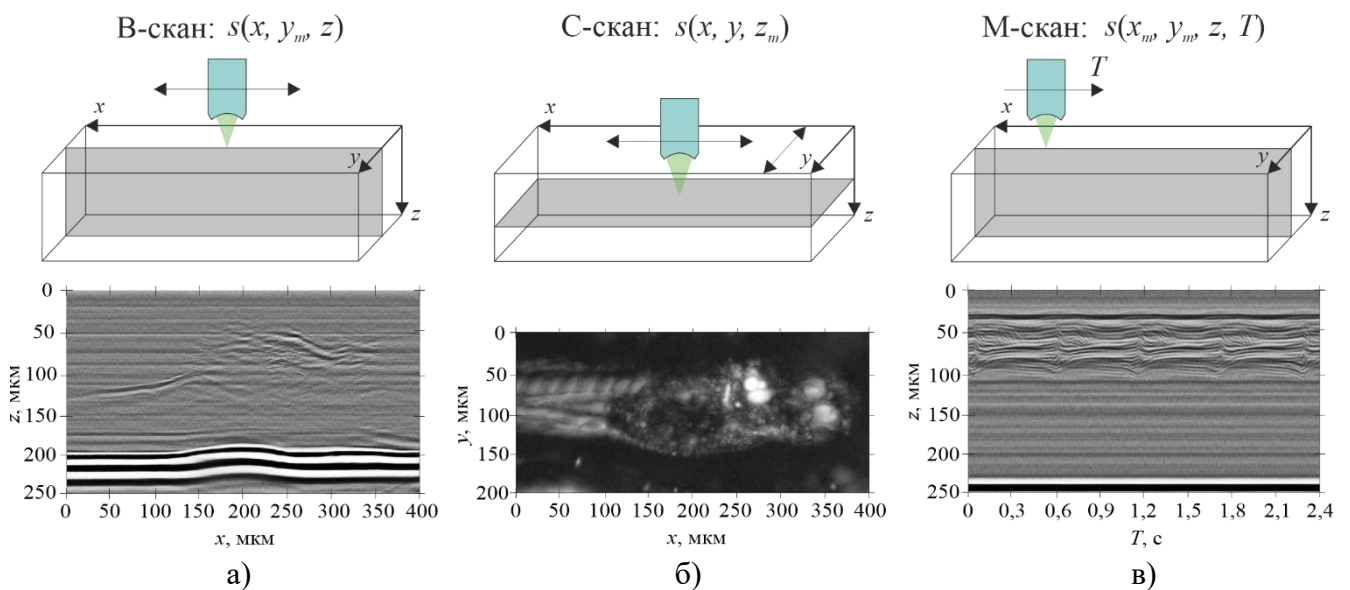


Рисунок 3 – Режимы акустической визуализации при исследовании рыб *Danio rerio*:  
В-скан  $s(x, y_m, z)$  (а); С-скан  $s(x, y, z_m)$  (б); М-скан  $s(x_m, y_m, z, T)$  (в)

Таким образом, разработанный экспериментальный стенд на основе высокочастотного акустического микроскопа и оптической системы предоставляет возможность неинвазивного исследования биологических объектов, таких как эмбрионы и личинки *Danio rerio*. Сочетание ультразвукового исследования с возможностью параллельной оптической визуализации позволяет изучать динамические процессы в сердце на ранних стадиях развития.

**Глава 3** посвящена обеспечению совместной регистрации ультразвуковых и оптических сигналов и алгоритму восстановления временных соотношений между ультразвуковыми данными и фазами сердечной деятельности, которые регистрируются в различных областях сердца. Разработанный экспериментальный стенд осуществляет визуализацию сердца, в котором происходят повторяющиеся квазипериодические изменения. Однако из-за механического сканирования он не предоставляет возможности одновременно записывать ультразвуковые данные в разных точках по всей области исследования. Поэтому был разработан

метод синхронизации данных, полученных в различных точках, с использованием сигнала, содержащего информацию о деятельности сердца.

В предложенной системе регистрируются ультразвуковые сигналы в формате  $s(z, T)$  с помощью акустического микроскопа (АМ) в различных положениях преобразователя  $x_m$  (рисунок 4(а)) с одновременной записью видео данных  $v(x, y)$  (рисунок 4(в)) с помощью оптического микроскопа (ОМ) на протяжении всего эксперимента. Разработан метод обработки записанных данных, позволяющий по оптическим сигналам (рисунок 4(г)) осуществлять синхронизацию ультразвуковых данных к фазам сердечного ритма и производить восстановление временных соотношений между сигналами, записанных в разных точках. Предложенный метод обработки включает этап определения сердечного ритма по сигналу фотоплетизмографии (ФПГ)  $I(t)$  (рисунок 4(д)) на выбранных участках. Сигнал фотоплетизмографии демонстрирует циклические изменения, соответствующие сердечным сокращениям и связан с кровенаполнением, при этом период и фаза сигнала ФПГ совпадает с периодом и фазой ритма сердца [13]. По этому сигналу определяются моменты времени, которые совпадают с определенной фазой сердечного ритма.

Для синхронизации данных М-сканы, полученные асинхронно в разных положениях  $x_m$ , усекаются по времени. В результате создается синхронизированный массив ультразвуковых М-сканов  $u(z, T)$  (рисунок 4(б)), начало каждого из которых совпадает с определенной фазой сердца, определенной по видеоданным.

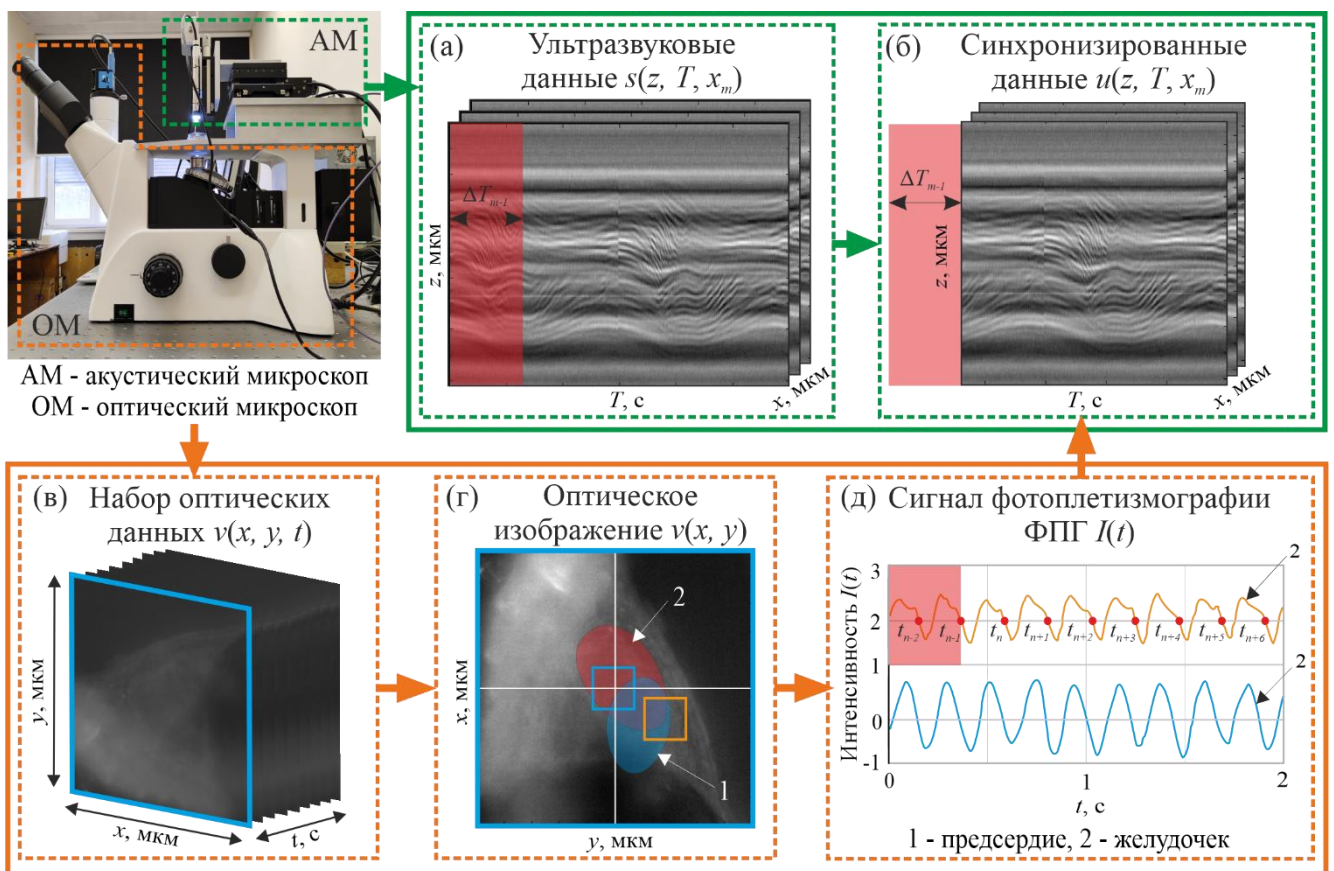


Рисунок 4 – Алгоритм обработки ультразвуковых и оптических данных

Для оценки качества синхронизации было проведено теоретическое и экспериментальное исследование погрешности синхронизации сигнала фотоплетизмографии и ультразвуковых сигналов, записанных в разных точках и в разные моменты времени. Сигналы представлялись в виде повторяющихся колебаний с небольшими вариациями периода. При теоретическом рассмотрении погрешность синхронизации зависит от отклонения сигнала сердцебиения от установленной периодичности, а также может быть вызвана аддитивным шумом в оптическом канале [14]. Эффективность данной модели была проверена на рыбах *Danio rerio* в возрасте 72 часов после оплодотворения, что позволило провести экспериментальную оценку погрешности синхронизации. Было установлено, что погрешность  $\xi_m^*$ , вызванная отклонением от среднего значения периода, накапливается к концу М-скана. Максимальное значение данной погрешности в пределах одного М-скана составило 8 мс. Была проведена оценка погрешности синхронизации  $\delta$ , обусловленная влиянием аддитивного шума в оптической измерительной системе, величина которой составила приблизительно  $\pm 10$  мс. Эта погрешность была компенсирована в результате действия разработанного алгоритма синхронизации. Исследование показало, что факторы, такие как отклонение фазы сердечного ритма и местоположение области регистрации оптического сигнала, оказывался не критичным для задач синхронизации.

В **Главе 4** продемонстрирована эффективность разработанного метода синхронизации и экспериментального стенда на примере низших позвоночных организмов. Проведенные исследования подтвердили, что установка позволяет изучать модельные объекты как на ранних стадиях развития (эмбрионов и личинок), так и на более поздней, ювенальной стадии. При визуализации низших позвоночных на ранних стадиях, таких как рыбы *Danio rerio*, обеспечивается синхронное получение оптических и ультразвуковых изображений организма, что позволяет детально исследовать как внешнее, так и внутреннее строение особи благодаря их прозрачности. Однако визуализация сердца с полупрозрачной структурой тела (осетровые рыбы) оказывается затруднительной при комбинированном исследовании. Несмотря на ограничения доступа к объекту при использовании оптической микроскопии слегка ограничен, можно выделить сигнал фотоплетизмографии в области наибольшей активности сердца. Важно отметить, что ультразвуковая визуализация остается эффективной для данных объектов, позволяя получить информацию о параметрах сердца в отдельных точках. Разработанная установка не ограничивается получением информации о сердце в одной плоскости, а обеспечивает получение трехмерных изображений сердца с высоким разрешением. Таким образом, разработанный метод синхронизации в сочетании с экспериментальным стендом обеспечивает возможность одновременного получения ультразвуковых и оптических данных, увеличивая информативность исследований.

Разработанный метод позволяет исследовать как быстрые процессы в сердце, такие как движение крови, так и более медленные явления, например, движение стенок сердечных камер. Исследуемые явления проиллюстрированы на примере синхронизированного ультразвукового М-скана  $u(z, T)$ . На рисунке 5(а) представлено изображение М-скана длительностью  $T_c = 288$  мс, полученного в некоторой точке  $x_m$  в области сердца и демонстрирующего один период сердечного цикла. Данные были получены на рыбах *Danio rerio* в возрасте 72 часа после

оплодотворения, при этом образец располагался на правом боку так, чтобы ось сканирования преобразователя приблизительно проходила через центр сердца.

Для оценки скорости кровотока использовалась высокочастотная компонента ультразвуковых М-сканов. Применение высокочастотной фильтрации позволило выделить эхосигналы, генерируемые быстро движущимися клетками крови и подавить отклики от медленных компонентов. На рисунке 5(б) представлен один из экспериментальных М-сканов после применения высокочастотного фильтра  $u_{HF}(z, T)$  [15]. В процессе обработки данных использовался фильтр с частотой среза ( $-3$  дБ)  $f_c = 50$  Гц, что соответствовало нижнему пределу вертикальной составляющей скорости кровотока, равной  $0,5$  мм/с. В свою очередь, верхний предел вертикальной составляющей скорости кровотока определялся частотой дискретизации. При значении частоты дискретизации  $5$  кГц максимальная величина вертикальной компоненты скорости составила приблизительно  $25$  мм/с.

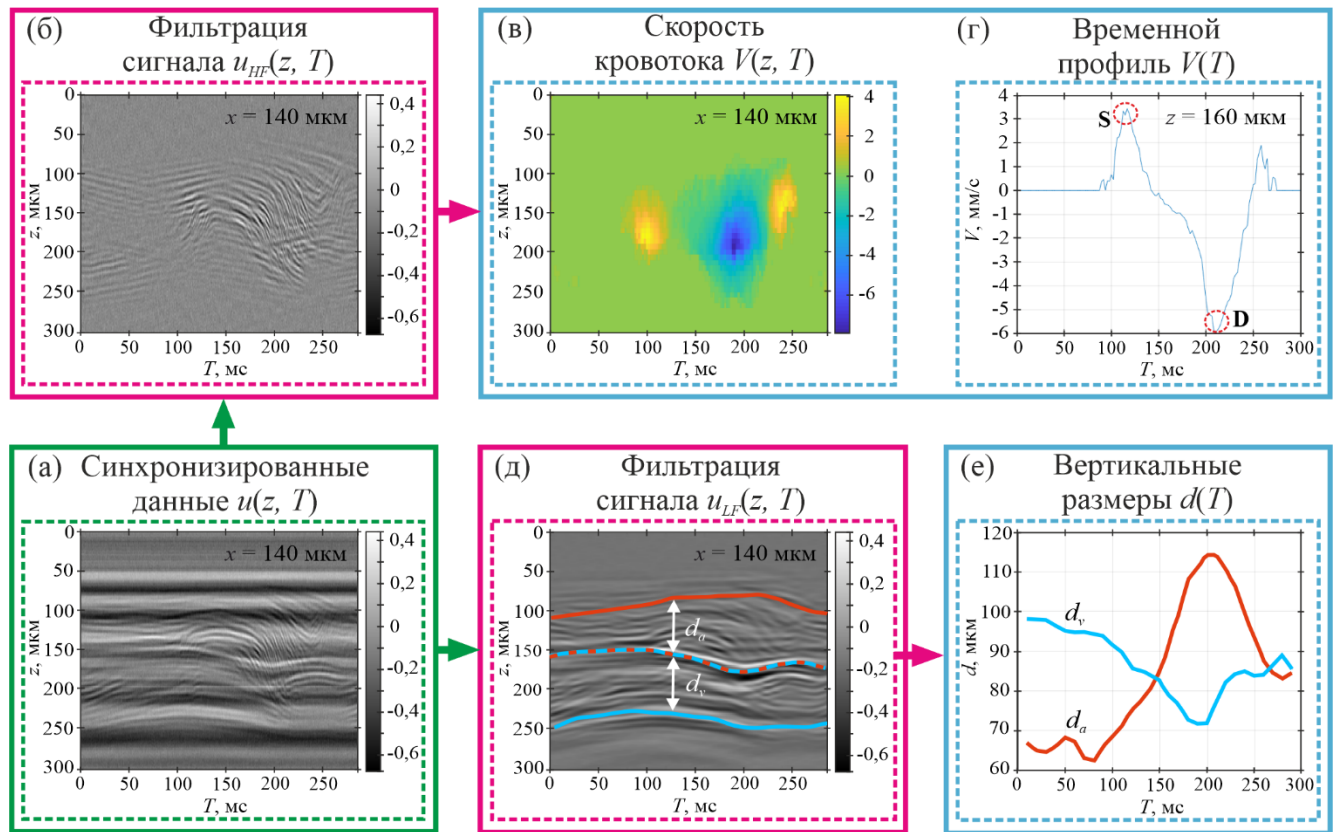


Рисунок 5 – Методы обработки ультразвуковых данных

Был разработан алгоритм обработки высокочастотной компоненты М-сканов, который позволял с помощью метода двумерной автокорреляции данных определить скорость кровотока. Метод заключался в вычислении корреляционной функции в пределах заданного окна, что позволяло определять величину смещения частиц за определённый интервал времени [16]. Размер окна был выбран как компромисс между необходимостью уловить информацию о динамике кровотока и сохранением высокого временного разрешения для регистрации быстрых изменений скорости. Показано, что данный метод позволил получить пространственно-временное распределение кровотока  $V(z, T, x_m)$  для разных положений по оси  $y$  (рисунок 5(в)).

Значения скорости на картах были представлены в виде цветовой шкалы, где желтые и синие области указывали на положительные и отрицательные значения вертикальной компоненты скорости, отражая направление движения крови вверх и вниз. Анализ полученных карт позволил различить фазы сердечного ритма, где в фазе систолы наблюдается резкий выброс крови, в то время как в фазе диастолы, сердце наполняется кровью и наблюдается обратный ток.

Экспериментальные данные показали, что характерные значения вертикальной компоненты скорости не превышают  $\pm 10$  мм/с и находятся в пределах значений скорости, измеряемой экспериментальным стендом. Полученные карты позволили построить временные профили для каждой координаты ( $x$ ,  $z$ ), которые отражают неравномерность кровотока, измеренного в течение одного сердечного цикла во время фаз систолы и диастолы (рисунок 5(г)).

Для анализа морфологии сердца и исследования динамики его стенок производилась обработка ультразвуковых М-сканов, заключающаяся в выделении низкочастотной компоненты сигнала  $u_{LF}(z, T)$  и применении метода синхронного накопления [15]. Метод синхронного накопления заключался в использовании свойства периодичности движения стенок сердца, позволил усилить повторяющиеся сигналы, которые соответствуют откликам от камер сердца, путем их суммирования, и снизить влияние нестационарных сигналов от элементов крови. Результат данной обработки М-сканов показан на рисунке 5(д).

Проведенная обработка дала возможность определить положение стенок и оценить размеры камер сердца. Измеренные размеры предсердия  $d_a$  и желудочка  $d_v$  рыб *Danio rerio* на исследуемых стадиях развития находятся в диапазоне от 60 до 120 мкм, что согласуется с опубликованными данными характерного размера сердца. Показано, что метод позволяет измерять размеры сердца вдоль оси ультразвукового пучка в зависимости от времени, что дает возможность наблюдать динамику поведения стенок в зависимости от фаз сердечного ритма (рисунок 5(е)). В частности, было установлено, что размер предсердия увеличивался из-за его наполнения кровью в фазу диастолы, в то время как размер желудочка уменьшается в течение этой фазы.

Разработанные методы ультразвуковой визуализации малых организмов могут быть применены для оценки влияния различных внешних факторов на функционирование сердца. К таким факторам относятся вирусные и бактериальные инфекции, а также температура и химический состав воды [17]. В качестве примера можно привести результаты исследований, проведенных с использованием разработанного экспериментального стенда для мониторинга изменений частоты сердечных сокращений у личинок *Danio rerio*. В ходе эксперимента, продолжавшегося 2 часа в неизменных условиях, особь находилась в растворе анестезии, что позволило провести непрерывное наблюдение. В данном эксперименте в качестве анестетика выбирался 0,02% раствор лидокаина (вместо MS-222). Было установлено, что лидокаин оказывает заметное влияние на сердечную деятельность, снижая частоту сокращений с 150–200 до 70 ударов в минуту. Кроме того, были зафиксированы изменения в профилях сердечных сокращений, причем фаза диастолы оказалась более устойчивой к воздействию анестезии, чем систола. Таким образом, показано, что применяемый на протяжении всех исследований MS-

222 оказывает менее выраженное влияние на сердечную деятельность, чем лидокаин, а метод ультразвуковой визуализации обладает достаточной чувствительностью для исследования влияния разных типов анестезии на организм.

Исследование также показало, что оводнение – скопление жидкости перикардиальной области – оказывает влияние на сердечный ритм у рыб. Это состояние может приводить не только к нарушению сердечного ритма, но и к изменению структуры ультразвукового сигнала по сравнению со здоровой особью. Для диагностики этих изменений и оценки состояния сердца было проведено ультразвуковое исследование с регистрацией М-сканов  $u(z, T)$ , которые показали снижение скорости движения крови и стенок камер, и появление противотока в тканях, что указывает на наличие сердечной патологии.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключении сформулированы следующие основные результаты диссертационной работы.

1. Предложена концепция, которая заключается в интеграции высокочастотных акустических методов и оптической микроскопии для исследования деятельности сердца малых организмов *in vivo*, таких как рыбы *Danio rerio* на ранних стадиях их развития.

2. Разработанный экспериментальный стенд позволяет исследовать сердце малых организмов, в частности эмбрионов и личинок *Danio rerio* с характерными размерами сердца 100–200 мкм. Экспериментальный стенд работает в частотном диапазоне 50–100 МГц и обеспечивает пространственное разрешение ультразвуковой визуализации порядка 20 мкм, в отличие от ультразвуковых сканеров на основе фазированных решеток, обеспечивающих пространственное разрешение на уровне сотен мкм. Акустический микроскоп позволяет регистрировать изменение в структуре сердечных тканей с временным разрешением 1 мс. Применение эхо-импульсного режима работы акустического модуля дает возможность производить ультразвуковую визуализацию сердца в плоскостях, перпендикулярных фокальной плоскости оптической системы. Двухсторонний доступ к исследуемому объекту делает возможным параллельную запись ультразвуковых данных и оптических сигналов сердечного ритма, полученных из видео. Такой подход позволяет восстановить временные соотношения ультразвуковых сигналов при визуализации структур сердца и измерить пространственно-временные параметры движения крови и сердечных тканей.

3. Разработан неинвазивный метод проведения измерений, заключающийся в обездвиживании образца с помощью анестезии и помещении ее в специализированную иммерсионную ячейку, заполненную природной водой. Такой подход позволяет сохранить целостность и жизнедеятельность организма на протяжении всего эксперимента, что важно при длительном мониторинге физиологических процессов. Разработанная иммерсионная ячейка предотвращает неконтролируемые движения особи и одновременно обеспечивает возможность ультразвуковой и оптической визуализации благодаря своей прозрачной конструкции. Иммерсионная жидкость служит для сохранения жизненных функций организма. Организмы остаются жизнеспособными после проведения исследований с помощью данной системы.

Предложенный метод совмещения акустической и оптической осей модулей позволяет оперативно находить и идентифицировать области сердца, подлежащие ультразвуковому исследованию.

4. Разработанный экспериментальный стенд обеспечивает последовательную запись М-сканов в разных точках сердца, что приводит к сложности восстановления временных соотношений между фазами сердечного цикла на основе записанных ультразвуковых данных. Для определения этих соотношений предложен метод синхронизации. Он заключается в том, что по оптическому сигналу фотоплетизмографии, записанному одновременно с ультразвуковыми данными, определяются моменты времени начала записи ультразвуковых данных. С учетом этих временных моментов формируются синхронизированные ультразвуковые данные, начало которых совпадает с моментами, определенными по сигналу фотоплетизмографии. Таким образом, удается восстановить временные соотношения между сигналами, которые были асинхронно записаны в разных точках сердца. Анализ погрешности, подтвержденный теоретически и экспериментально, показал, что предложенный метод обеспечивает погрешность синхронизации в пределах  $\pm 10$  мс, что достаточно для точного согласования временных моментов с фазами сердечной деятельности.

5. Разработаны алгоритмы обработки, позволяющие по синхронизированным данным, определить пространственно-временное распределение скорости кровотока и размеры сердечных камер в зависимости от времени. С помощью высокочастотной временной фильтрации ультразвуковых сигналов были выделены отклики от быстро движущихся элементов, таких как частицы крови. Вычисление двумерной автокорреляционной функции в локальной области высокочастотной компоненты сигнала позволяет оценить скорость кровотока в выбранной области и построить ее пространственно-временное распределение на протяжении сердечного цикла. Путем низкочастотной фильтрации выделяются отклики от движущихся стенок камер сердца, по которым вычисляются их вертикальные размеры.

6. Экспериментальные исследования показали, что для изучения сердечной деятельности рыб *Danio rerio* на ранних стадиях развития использование высокочастотного фильтра с частотой среза  $f_c = 50$  Гц позволяет построить карту движения кровотока. Полученные пространственно-временные данные отображают фазы систолы и диастолы, их пространственное положение и временные соотношения. Показано, что характерные значения скоростей кровотока у исследуемых организмов находятся в диапазоне  $\pm 25$  мм/с. Было установлено, что низкочастотная фильтрация ультразвуковых данных позволяет определить положение и вертикальные размеры предсердия и желудочка, которые варьируются от 60 до 120 мкм в зависимости от фаз сердечного цикла с периодом сокращений около 300 мс. Данный метод может быть полезен для оценки функционального состояния сердца и выявления патологий, возникающих под воздействием вредных факторов.

Работа выполнена в рамках государственного задания FFNS-2022-0008, FFNS-2023-0008 «Разработка новых методов и средств для изучения поведения вещества в условиях высоких давлений и температур», FFNS-2025-0008 «Разработка оптических методов и приборов неинвазивной визуализации и количественной оценки параметров кровотока биологических

объектов», гранта РФФИ 22-49-08012 «Новые оптические и акустические методы визуализации и исследования сердечно-сосудистой системы *Danio Regio*: от эмбриона до взрослой особи».

Подготовка исследуемых биологических объектов для выполнения экспериментов и контроль соблюдения правил проведения исследований на живых организмах были утверждены комиссиями по биоэтике Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина (протокол № 6 от 25 февраля 2022 года) и НТИЦ УП РАН (протокол № 1/25 от 24 февраля 2025 года).

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

### Статьи в журналах, входящих в перечень ВАК и/или базу Scopus, труды конференций и патенты

1. Бурлаков, А.Б. Высокочастотная сонография сердечно-сосудистой системы в раннем развитии низших позвоночных / А.Б. Бурлаков, С.А. Титов, Л.А. Зыкова // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2021. – Т. 6. – № 3. – Р. 454–460.
2. Бурлаков А.Б., Титов С.А., Зыкова Л.А. Высокочастотная сонография сердечно-сосудистой системы в раннем развитии низших позвоночных // Сборник материалов XVI международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2021». – 2021, Севастополь. – С. 108–109.
3. Зыкова, Л.А., Титов, С.А. Устройство для неинвазивного исследования сердечной деятельности низших позвоночных. Патент на полезную модель RU 236416 U1, 06.08.2025. Заявка № 2025109760 от 17.04.2025.
4. Machikhin, A.S. Combined optical and acoustic microscopy for noninvasive cardiovascular studies using zebrafish model / A.S. Machikhin, S.A. Titov, C.C. Huang, A.V. Guryleva, A.B. Burlakov, L.A. Zyкова, V.I. Bukova // IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement. – 2025. – V. 74. – P. 1–13.
5. Титов, С.А. Стенд для исследования сердечно-сосудистой системы *Danio regio* методами акустической и оптической микроскопии / С.А. Титов, А.Н. Богаченков, Л.А. Зыкова, А.В. Гурылева, А.Б. Бурлаков, А.С. Мачихин // Физические основы приборостроения. – 2023. – Т. 12. – № 2. – Р. 87–93.
6. Мачихин А.С., Зыкова Л.А., Титов С.А., Гурылева А.В., Букова В.И., Хохлов Д.Д., Бурлаков А.Б. Мультиmodalный стенд для визуализации и измерения параметров сердечно-сосудистой и мышечной систем *Danio regio* // Труды XVII Международной научно-технической конференции «Оптические методы исследования потоков» ОМИП-2023, Москва. – 2023. – С. 610–616.
7. Зыкова, Л.А., Титов С.А. Программа обработки высокочастотных эхокардиографических сигналов с целью визуализации и определения параметров сердца малых организмов. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2025617864, 31.03.2025. Заявка № 2025616218 от 20.03.2025.

8. Machikhin, A.S. Development of ultrasound echocardiography technique for imaging of the cardiovascular system of small organism in vivo / A.S. Machikhin, L.A. Zyкова, A.B. Burlakov, et al. // *Journal of Physics: Conference Series*. – 2021. – V. 2127. – № 1. – P. 012061.
9. Зыкова Л.А., Бурлаков А.Б., Титов С.А., Богаченков А.Н. Исследование сердечно-сосудистой системы эмбриона рыбы *Danio rerio* с помощью ультразвукового сканера / Л.А. Зыкова, А.Б. Бурлаков, С.А. Титов, А.Н. Богаченков // Сборник тезисов V – ой международной молодежной конференции, посвященной 90-летию со дня основания АГТУ, Астрахань. – 2021.
10. Зыкова Л.А., Титов С.А. Анализ погрешности синхронизации ультразвуковых сигналов с сердечным ритмом при сонографических исследованиях малых организмов // Сборник тезисов 16-й Международной конференции «Акустооптические и радиолокационные методы измерений и обработки информации» (ARMIMP-2023), Суздаль. – 2023. – С. 193–196.
11. Бурлаков А.Б., Титов С.А., Зыкова Л.А. Использование ультразвуковых методов для оценки работы сердца рыб разных систематических групп в раннем развитии // Сборник материалов I Всероссийской научно-практической конференции «Современные проблемы естествознания и естественно-научного образования», Калуга. – 2024. – С. 147–149.
12. Мачихин А.С., Зыкова Л.А., Бурлаков А.Б., Титов С.А., Богаченков А.Н. Исследования сердца личинок *Danio rerio* методом высокочастотной сонографии // Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург. – 2023. – С. 131–132.
13. Зыкова Л.А. Разработка методов и средств высокочастотной сонографии биологических объектов in vivo // Сборник тезисов докладов IV Международной научной конференции «Наука будущего – наука молодым», Москва. – 2021. – С. 127–128.
14. Зыкова Л.А., Бурлаков, А.Б., Титов С.А., Богаченков А.Н. Ультразвуковое исследование сердца *Danio rerio* на предличиночной стадии развития / Л.А. Зыкова, А.Б. Бурлаков, С.А. Титов, А.Н. Богаченков // Труды школы-семинара «Волны 2021», Москва. – 2021. – С. 18–19.
15. Зыкова Л.А., Титов С.А. Алгоритм обработки пространственно-временных сигналов в сонографических исследованиях низших позвоночных на ранних стадиях развития // Труды Международной научно-технической конференции «Современные технологии научного приборостроения и информационно-измерительных систем», Москва. – 2023. – С. 108–110.
16. Titov, S.A. High-frequency ultrasound echocardiography of heart activity of *Danio rerio* embryo / S.A. Titov, L.A. Zyкова, C.C. Huang, et al. // *IEEE Xplore: 2022 Wave Electronics and its Application in Information and Telecommunication Systems (WECONF)*. – 2022. – P. 1–4.
17. Титов С.А., Хуанг Ч.Ч., Зыкова Л.А., Бурлаков А.Б., Богаченков, А.Н. Высокочастотное ультразвуковое исследование деятельности сердца эмбриона *Danio rerio* // Материалы XXV Международной научной конференции «Волновая электроника и инфокоммуникационные системы», Санкт-Петербург. – 2022. – С. 131–135.
18. Titov, S.A. Estimation of blood flow velocity in the heart of *Danio rerio* embryo using correlation of ultrasonic signals / S.A. Titov, L.A. Zyкова, A.B. Burlakov et al. // *IEEE Xplore: International Conference on Information, Control, and Communication Technologies (ICCT)*. – 2022. – P. 1–4.

19. Титов С.А., Бурлаков А.Б., Зыкова Л.А. Оценка скорости кровотока в сердце эмбриона *Danio rerio* по корреляции ультразвуковых сигналов // Сборник тезисов VI Международной конференции «Информационные технологии и технические средства управления» (ICST-2022), Астрахань. – 2022.
20. Titov, S.A. Estimation of blood flow velocity in the heart of fish larvae using autocorrelation of echocardiographic signals / S.A. Titov, L.A. Zyкова // *Journal of Biomedical Photonics and Engineering*. – 2025. – V. 11. – № 2. – P. 1–7.
21. Титов С.А., Зыкова Л.А. Оценка скорости потока частиц в жидкости по эхо-импульсным сигналам ультразвукового фокусирующего преобразователя // Материалы XXVII Международной научной конференции «Волновая электроника и инфокоммуникационные системы» (WECONF), Санкт-Петербург. – Сборник статей: в 3 ч. Ч. 3. – 329 с. – 2024. – С. 137–140.
22. Титов С.А., Зыкова Л.А. Особенности измерения скорости потока частиц в жидкости фокусирующим ультразвуковым преобразователем // Сборник тезисов 17-й Международной конференции «Акустооптические и радиолокационные методы измерений и обработки информации» (ARMIMP-2024), Суздаль. – 2024. – С. 277–279.
23. Зыкова Л.А., Титов С.А., Бурлаков А.Б., Богаченков А.Н. Анализ динамики сердечных камер *Danio rerio* с помощью комбинированной системы визуализации // Сборник тезисов 17-й Международной конференции «Акустооптические и радиолокационные методы измерений и обработки информации» (ARMIMP-2024), Суздаль. – 2024. – С. 273–276.
24. Зыкова Л.А., Титов С.А., Бурлаков А.Б., Богаченков А.Н. Исследование движения стенок сердца *Danio rerio* с помощью мультимодального стенда // Материалы XXVII Международной научной конференции «Волновая электроника и инфокоммуникационные системы» (WECONF), Санкт-Петербург. – Сборник статей: в 3 ч. Ч. 3. – 329 с. – 2024. – С. 76–79.
25. Zyкова, L.A. Using a high-frequency ultrasound scanner to study the cardiovascular system of a *Danio rerio* embryo / L.A. Zyкова, A.B. Burlakov, S.A. Titov et al. // *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics*. – 2023. – V. 87. – № 4. – P. 528–531.
26. Зыкова Л.А., Бурлаков А.Б., Титов С.А., Богаченков А.Н. Оценка сердечно-сосудистой системы эмбрионов *Danio rerio* с помощью высокочастотного ультразвукового сканера // Труды школы-семинара «Волны 2022», Москва. – 2022. – С. 19–20.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Gilbert, S.F. *Developmental Biology* / S.F. Gilbert, M.J.F. Barresi. – 11 edition. – Sinauer: Associates Oxford University Press, 2016. – 500 p.
2. Santoso, F. An overview of methods for cardiac rhythm detection in zebrafish / F. Santoso, A. Farhan, A.L. Castillo et al. // *Biomedicines*. – 2020. – V. 8. – № 9. – P. 329.
3. Kimmel, C.B. Stages of embryonic development of the zebrafish. / C.B. Kimmel, W.W. Ballard, S.R. Kimmel et al. // *Development Dynamics*. – 1995. – V. 203. – № 3. – P. 253–310.

4. Barresi, M.J.F. *Developmental Biology* / M.J.F. Barresi, S.F. Gilbert. – 12 edition. – Sinauer: Associates Oxford University Press, 2020. – 888 p.
5. Yalcin, H.C. Heart function and hemodynamic analysis for zebrafish embryos / H.C. Yalcin, A. Amindari, J.T. Butcher et al. // *Development Dynamics*. – 2017. – V. 246. – № 11. – P. 868–880.
6. Giardoglou, P. On zebrafish disease models and matters of the heart / P. Giardoglou, D. Beis // *Biomedicines*. – 2019. – V.7. – № 1. – P. 15.
7. Schlaepp, A. Light sheet microscopy of fast cardiac dynamics in zebrafish embryos / A. Schlaepp, A. Graves, M. Weber et al. // *Journal of visualized experiments: JoVE*. – 2021. – V. 174.
8. Salehin, N. Assessing pressure-volume relationship in developing heart of zebrafish in vivo / N. Salehin, C. Villarreal, T. Teranikar et al. // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2021. – V. 49. – № 9. – P. 2080–2093.
9. Maev, R.Gr. *Advances in acoustic microscopy and high-resolution imaging: from principles to applications* / R.Gr. Maev. – John Wiley & Sons, 2013. – 400 p.
10. Szabo, T.L. *Diagnostic ultrasonic imaging inside out* / T.L. Szabo. – 2nd edition. – Academic Press, 2013. – 832 p.
11. Evangelisti, A. High-frequency ultrasound echocardiography to assess zebrafish cardiac function / A. Evangelisti, K. Schimmel, S. Joshi et al. // *Journal of visualized experiments: JoVE*. – 2020. – № 157. – P. 329.
12. Burlakov, A.B. Application of acoustic microscopy for visualization of structural displacement during the development of fish embryos / A.B. Burlakov, S.A. Titov, A.N. Bogachenkov // *Journal of Communications Technology and Electronics*. – 2022. – V. 67. – № 4. – P. 456–462.
13. Белов, В.С. Алгоритм определения параметров пульсовой волны на основе синхронного анализа фотоплетизмограммы и ЭКГ / В.С. Белов, А.Н. Калиниченко // *Известия СПб. ГЭТУ «ЛЭТИ»*. – 2018. – № 4. – С. 86–90.
14. Céspedes, I., Huang, Y., Ophir, J., Spratt, S. Methods for estimation of subsample time delays of digitized echo signals / I. Céspedes, Y. Huang, J. Ophir, S. Spratt // *Ultrasonic Imaging*. – 1995. – V. 17. – № 2. – P. 142–171.
15. Hill, C.R. *Physical Principles of Medical Ultrasonics*. / C.R. Hill, J.C. Bamber, G.R. Haar. – Chichester: John Wiley and Sons, 2004. – 528 p.
16. Liu, T.Y. A study of the adult zebrafish ventricular function by retrospective Doppler-gated ultrahigh-frame-rate echocardiography / T.Y. Liu, P.Y. Lee, C.C. Huang et al. // *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*. – 2013. – V. 60. – № 9. – P. 1827–1837.
17. Gauvrit, S. Modeling human cardiac arrhythmias: Insights from Zebrafish / S. Gauvrit, J. Bossaer, J. Lee, M.M. Collins // *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. – 2022. – V. 9. – № 1. – P. 13.