

## СОНОГРАФИЯ СЕРДЦА ВЬЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* НА ПРЕДЛИЧИНОЧНОЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ

© 2021 г. С. А. Титов<sup>а, \*</sup>, А. Б. Бурлаков<sup>б</sup>, А. Н. Богаченков<sup>с</sup>

<sup>а</sup> Научно-технологический центр уникального приборостроения Российской академии наук (НТЦ УП РАН), ул. Бутлерова 15, Москва, 117342 Россия

<sup>б</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы 1, Москва, 119991 Россия

<sup>с</sup> МИРЭА – Российский технологический университет, пр. Вернадского 78, Москва, 119454 Россия

\*e-mail: sergetitov@mail.ru

Поступила в редакцию 30.03.2021 г.

После доработки 03.06.2021 г.

Принята к публикации 10.06.2021 г.

Представлен метод ультразвукового исследования *in vivo* сердца низших позвоночных на ранних стадиях их развития. Для достижения достаточного пространственного разрешения в методе используется акустический микроскоп с механическим сканированием фокусирующего ультразвукового преобразователя, принятый сигнал которого регистрируется в зависимости от пространственных координат и времени. С помощью импульсного акустического микроскопа проведено исследование сердца вьюна *Misgurnus fossilis* на предличиночной стадии развития. Центральная частота и длительность огибающей регистрируемых отраженных импульсов составляли 70 МГц и 30 нс, соответственно. С помощью обработки записанного пространственно–временного сигнала визуализировано движение тканей желудочка, предсердия и клапанов в вентрикулярной области сердца, определен период сердечных биений и выделены фазы сердечного ритма. Показано, что характерные размеры желудочка и предсердия составляют 150–300 мкм. Произведено выделение откликов движущихся элементов крови и измерение скорости их движения в различных областях сердца в зависимости от времени. Найдено, что скорость кровотока достигает максимального значения 2.5 мм/с в период диастолы в вентрикулярной области сердца. В других областях пиковые значения в периоды диастолы и систолы находятся в пределах 1.5–0.8 мм/с. В соответствии с принципом энергетической доплерографии было визуализировано изменение плотности движущихся элементов крови в зависимости от времени.

**Ключевые слова:** сонография, сердце, акустический микроскоп, скорость кровотока, доплерография, вьюн, предличиночная стадия

**DOI:** 10.31857/S0320791921050105

### 1. ВВЕДЕНИЕ

За последние пару десятилетий эмбрионы низших позвоночных, в первую очередь рыб, стали популярными биологическими моделями для исследований в области медицины, фармацевтики, экологии. Особенный практический интерес вызывает использование эмбрионов рыб для кардиологических исследований вследствие наличия у них многих общих черт с сердечно-сосудистой системой человека [1, 2]. Наиболее часто для наблюдения эмбрионов рыб применяются разнообразные оптические методы [3–8]. Однако для визуализации трехмерной структуры эмбрионов, имеющих слабый оптический контраст, и наблюдения движения их элементов используется свет с высокой интенсивностью и окрашивание тканей.

Менее инвазивными представляются ультразвуковые методы, применение которых является эффективным для исследования сердечно-сосудистой системы и измерения параметров кровотока взрослых особей рыб [9–17]. Эти исследования проводились на аквариумной рыбе *Danio Rerio*, имеющей характерные размеры тела и сердца 30–50 и 1–2 мм соответственно. Большинство результатов [11, 13–17] были получены с помощью высокочастотных ультразвуковых сканеров с фазированной ультразвуковой решеткой [18]. Наиболее высокочастотная решетка MS-700 имеет полосу частот 30–70 МГц и разрешение 75 и 30 мкм в поперечном и продольных направлениях соответственно. Такое разрешение оказывается достаточным для визуализации работы сердца и из-

мерения параметров кровотока в различные фазы сердечного цикла взрослого организма.

Вместе с тем, исследование сердца рыбы на ранних стадиях развития, имеющего характерные размеры 0.1–0.2 мм, с помощью подобного прибора представляется затруднительным вследствие недостаточности высокого разрешения. В данной работе разработана методика и проведено сонографическое исследование сердца рыбы на предличиночной стадии развития с помощью акустического микроскопа.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Используемый в работе сканирующий импульсный акустический микроскоп был построен по традиционной конфокальной схеме [19–20]. Прибор был снабжен одиночным фокусирующим иммерсионным преобразователем, работающим в эхо-импульсном режиме. За счет механического перемещения преобразователя в приборе производилась регистрация рассеянного объектом пространственно-временного сигнала  $s(t, x, y)$ , где  $t$  – время,  $x, y$  – поперечные координаты преобразователя.

При исследовании организма использовался широкополосный фокусирующий ультразвуковой преобразователь с фокусным расстоянием 3.4 мм и угловой апертурой  $\theta_0 = 40^\circ$ . Центральная частота отраженных сигналов составляла приблизительно  $f_0 \approx 70$  МГц при длительности огибающей принимаемых импульсов  $\tau = 30$  нс. Поперечная разрешающая способность  $\delta x$  акустического микроскопа может быть оценена в соответствии с общепринятым критерием Рэлея [21]:

$$\delta x = \frac{0.61\lambda}{\sin \theta_0}, \quad (1)$$

где  $\lambda = 21$  мкм – длина волны ультразвука в иммерсионной среде (воде) на характерной частоте. Для выбранных параметров линзовой системы поперечная разрешающая способность  $\delta x \approx 20$  мкм. Глубина резкости  $z_f$  конфокальной системы по уровню 3 дБ может быть оценена по формуле [21]:

$$z_f = \frac{1.8\lambda}{(\sin \theta_0)^2}, \quad (2)$$

которая дает значение  $z_f \approx 91$  мкм. Продольная разрешающая способность  $\delta z$  микроскопа в широкополосном импульсном режиме определяется длительностью огибающей принимаемого сигнала  $\tau$  [22]:

$$\delta z = 0.5\tau C_W, \quad (3)$$

где  $C_W \approx 1500$  м/с – скорость ультразвука в воде. Таким образом, продольное разрешение микроскопа можно оценить приблизительно в 22 мкм.

Особенностью разработанной модификации акустического микроскопа является возможность длительно регистрировать сигналы в зависимости от “медленного” времени  $T$ , характеризующего изменения структуры живого объекта. Так, в работе [23] ультразвуковые данные в формате  $s(t, x)$  регистрировались многократно при различных значениях  $T$  на протяжении нескольких десятков минут. Такой режим работы позволял наблюдать процессы деления и движения клеток эмбриона на ранних стадиях его развития.

Для изучения сердечно-сосудистой системы организма была разработана методика регистрации ультразвуковых данных в формате  $s(t, T, x)$ . В этой методике для текущего положения ультразвукового преобразователя  $x$  записывались сигналы  $s(t, T)$  (М-сканы), причем время  $T$  отсчитывалось от начала записи каждого скана. Для формирования полного набора данных регистрация М-сканов повторялась для разных значений  $x$ . Время записи одного скана превышало несколько периодов сердцебиения, в данной работе оно составляло  $T_c = 2.5$  с, а период дискретизации по времени  $T$  был выбран равным  $\Delta T = 2$  мс. Каждый М-скан снабжался временной меткой, позволяющей на этапе преобработки данных синхронизировать их с сердечным ритмом.

Эксперименты проводились на сердце вьюна (*Misgurnus fossilis*), стадии развития которого определяли по таблицам нормального развития [24, 25]. Организм находился на предличиночной (39-ой) стадии развития, наступившей спустя приблизительно 2 суток после вылупления из икринки. Отобранный для экспериментов экземпляр помещался сначала на 5 мин в 0.5% раствор лидокаина, что приводило к его обездвиживанию. Затем он переносился в иммерсионную ячейку акустического микроскопа, в которой поддерживалась комнатная температура.

Все процедуры, выполненные в данной работе с участием живых организмов, соответствовали этическим стандартам учреждения, в котором проводились исследования, и утвержденным правовым актам Российской Федерации и международных организаций.

### УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ СЕРДЦА

С целью определения положения сердца было получено ультразвуковое изображение организма (рис. 1а). Изображение строилось путем отображения максимума амплитуды пространственно-временного сигнала  $s(t, x, y)$ , определяемого для каждого положения преобразователя  $(x, y)$  в некотором временном окне. Объект располагался на спине, брюшная область была обращена вверх по направлению к ультразвуковому преобразова-

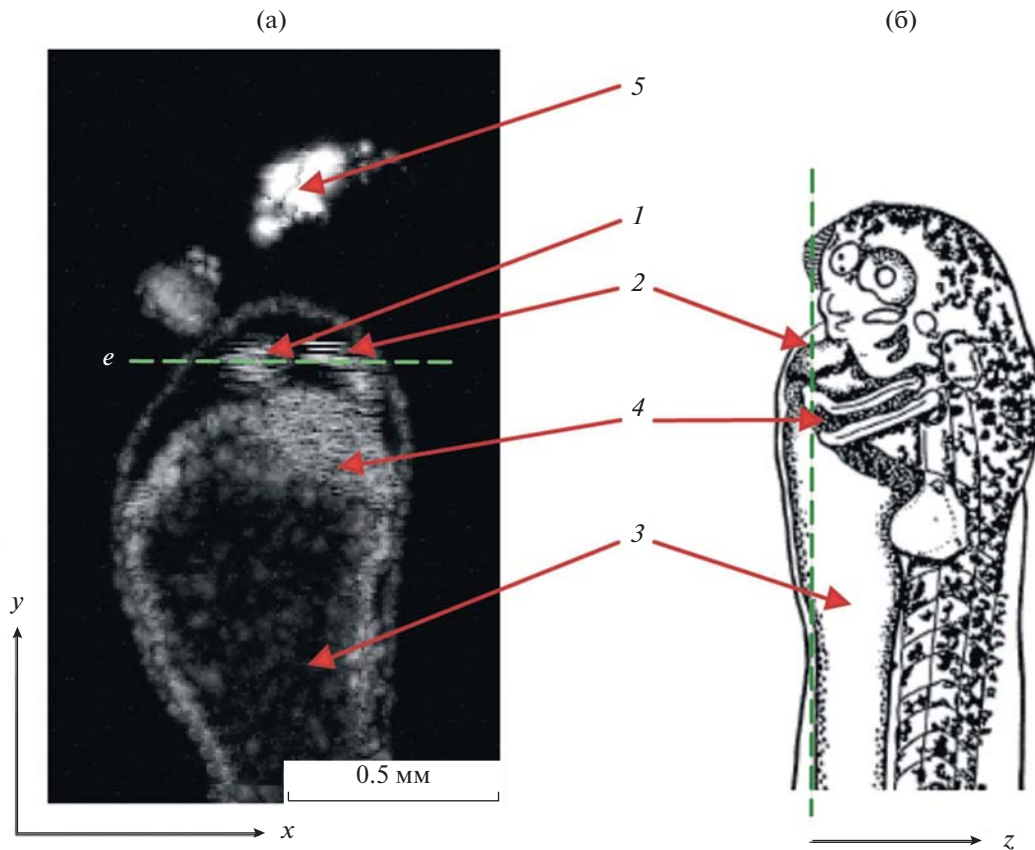


Рис. 1. (а) — Ультразвуковое изображение вьюна *Misgurnus fossilis* и (б) — схема его строения [23]: 1 — желудочек; 2 — предсердие; 3 — желток; 4 — кюверов проток; 5 — элементы головы.

телю. Также он был повернут относительно своей продольной оси примерно на угол 40 град.

Для сравнения на рис. 1б приведена схема строения вьюна на предличиночной стадии, на которой плоскость формирования изображения показана пунктирной линией. Временное окно, используемое при построении изображения, было установлено таким образом, чтобы визуализируемый слой проходил через элементы сердечно-сосудистой системы: желудочек 1 и предсердие 2. В ультразвуковом изображении также виден желток 3, окруженный наружными покровами. В области желтка, который имеет невысокую эхогенность, наблюдаются спеклы, характерные для ультразвуковых изображений биологических тканей. Область желтка, прилегающая к сердцу, пронизана множеством кровеносных мелких сосудов, называемых кюверовыми протоками 4. В плоскость изображения попадают также элементы головы 5, обладающие высокой отражательной способностью и дающие яркие отклики на изображении.

Следует отметить, что изображения желудочка 1, предсердия 2 и, частично, кюверовых протоков 4 состоят из отдельных черточек, направленных

вдоль направления сканирования по оси  $x$ . Такие характерные особенности в изображении вызваны смещением органов организма за время, необходимое для записи одной строки ультразвукового сигнала. В данном эксперименте это время составляло 1.6 с, что приводило к существенным различиям соседних строк. Данные особенности изображений использовались для идентификации и выделения областей, в которых имеет место интенсивное перемещение элементов организма.

После определения положения сердца по ультразвуковому изображению производилась регистрация пространственно-временного сигнала  $s(t, T, x)$ . Данные записывались вдоль линии  $e$  (рис. 1а), проходящей приблизительно через центр сердца. На рис. 2а показан В-скан  $s(z, x)$ , построенный выборкой из общего массива данных, для которых “медленное” время фиксировано  $T = 1$  с. При построении скана время  $t$  было пересчитано в вертикальную координату  $z = 0.5(t - t_f)C_w$ , где  $t_f$  — время прихода волн от отражателей, расположенных в фокальной плоскости преобразователя. Таким образом, ось  $z$  была направлена от преобразователя в сторону объекта.

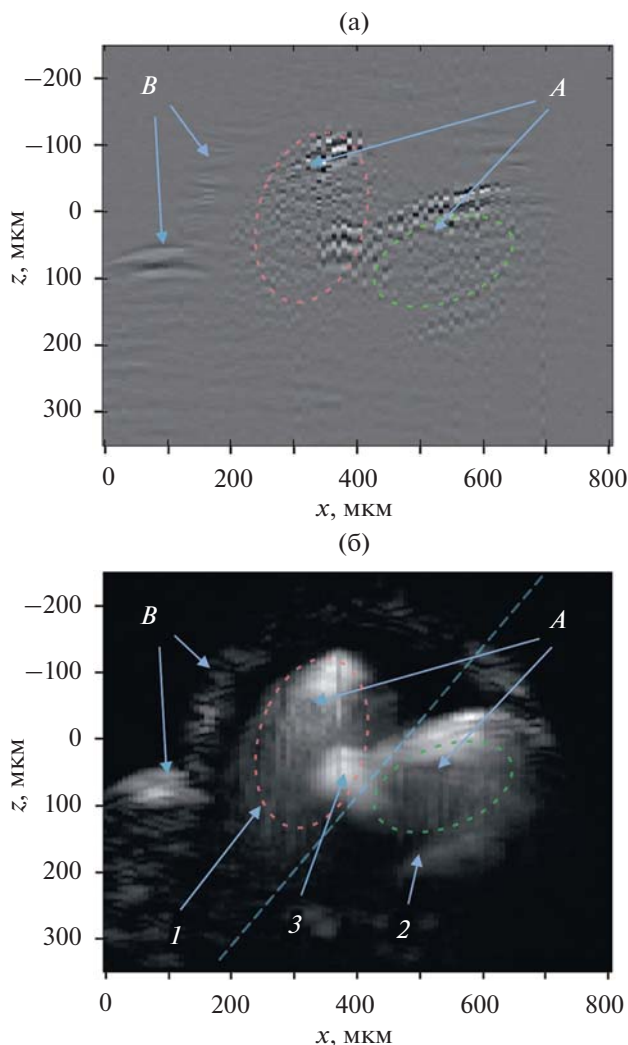


Рис. 2. (а) – В-скан  $s(z, x)$  для  $T = 1$  с и (б) – изображение  $s_a(z, x)$ .

Поскольку отдельные временные эхо-сигналы  $s(t)$  записываются в различных фазах сердечного ритма, отклики  $A$  от движущихся элементов в области сердца имеют хаотический характер. С другой стороны, органы, не испытывающие перемещений, дают стабильные отклики  $B$ .

Интегрирование пространственно-временного сигнала по “медленному” времени  $T$  позволяет устранить флуктуации сигнала, более отчетливо визуализировать движущиеся элементы и повысить отношение сигнал–шум. На рис. 2б представлен сигнал  $s_a(z, x)$ , рассчитанный суммированием амплитуд исходного пространственно-временного сигнала:

$$s_a(z, x) = \int_0^{T_c} |H\{s(z, T, x)\}| dT, \quad (4)$$

где  $H$  обозначает преобразование Гильберта по координате  $z$ ,  $||$  – операцию нахождения абсолютного значения получившейся комплексной функции. В результате такой обработки движущиеся элементы  $A$  выглядят на изображении однородными, с медленно меняющейся по пространственным координатам яркостью, а наружные неподвижные органы  $B$  имеют характерную спекл-структуру.

Учитывая опубликованные данные о строении вьюна на предличиночной стадии развития [24] и принимая во внимание, что объект расположен на спине и его ось наклонена на 40 град, в изображении  $s_a(z, x)$  можно различить области желудочка 1 и предсердия 2. Между сердцем и предсердием находится вентрикулярная область с клапанами 3. Границы желудочка, предсердия и клапанов, обращенные вверх, по направлению к преобразователю в область отрицательных значений  $z$ , дают отражения со значительной амплитудой. Сигналы, отраженные от противоположных границ, имеют меньшую амплитуду вследствие небольшой глубины резкости ультразвукового преобразователя, а также ослабления сигнала при прохождении верхних стенок органов и рассеяния на элементах крови. По полученному изображению можно оценить усредненные по времени размеры органов в сечении плоскостью  $(z, x)$ . Продольные размеры желудочка и предсердия составляют приблизительно 300 мкм, поперечные – 150 и 180 мкм соответственно.

Движение элементов сердечно-сосудистой системы наглядно отображается при представлении данных в формате М-сканов  $s(z, T)$ . На рис. 3а приведен скан, записанный на протяжении двух периодов биения сердца при положении преобразователя  $x = 0.44$  мм и проходящий через вентрикулярную область с клапанами между желудочком и предсердием. Период наблюдаемых на скане движений равен  $T_0 = 0.825$  с, что соответствует частоте сердечных сокращений 73 уд/мин. Следует отметить, что частота сокращений была стабильной, при измерениях она сохранялась в пределах 2–3% для разных положений преобразователя в течение по крайней мере 30 минут.

В М-скане присутствуют отклики 1 (рис. 3а), которые производятся отражениями от сердечной мышцы. Ультразвуковой пучок в этом положении преобразователя  $x$  проходит по краю сердца (рис. 2), пересекая несколько границ, поэтому отклик имеет множественную структуру. Во время диастолы (интервал времени  $T_{d1} - T_{d2}$ ) происходит расширение желудочка и отклик 1 смещается вверх, в сторону отрицательных значений  $z$ . В фазе систолы (интервал времени  $T_{s1} - T_{s2}$ ) желудочек сокращается и отклик движется вниз.

Отклики 2 производятся клапанами вентрикулярной области. Видно, что во время диастолы

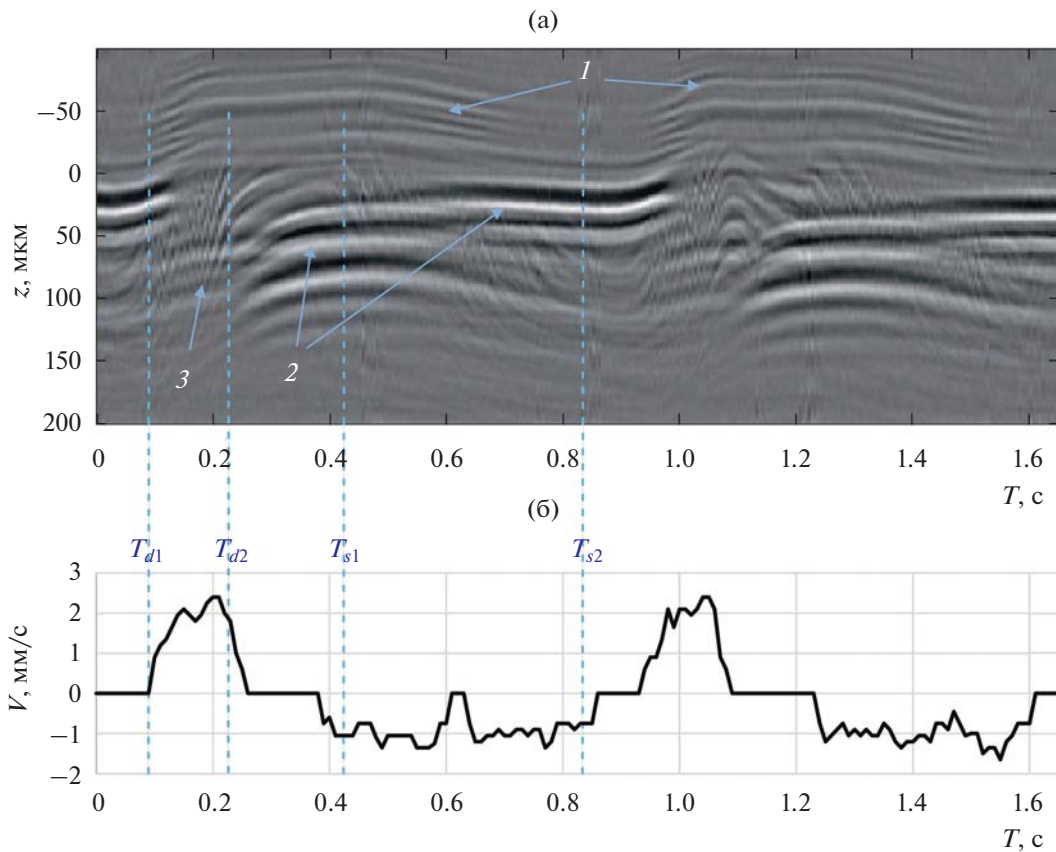


Рис. 3. (а) – Скан  $s(z, T)$ , записанный в положении  $x = 440$  мкм и (б) – зависимость скорости крови от времени  $V(T)$ .

( $T_{d1} - T_{d2}$ ) клапана открываются и отражения от их тканей отсутствуют. В это время существует связь полостей желудочка и предсердия, в канале между которыми наблюдается поток крови 3, направленный в сторону желудочка. После окончания диастолы створки клапанов закрываются, интенсивное движение крови прекращается. Спустя некоторое время начинается фаза систолы ( $T_{s1} - T_{s2}$ ), в течение которой верхняя стенка желудочка и кровь движутся вниз, в сторону положительных значений  $z$ . Движение стенок желудочка и клапанов являются приблизительно периодически, а от периода к периоду сигналы от крови не повторяются, что говорит о случайном пространственном распределении отражающих частиц в ней. Следует отметить, что в некоторых областях скана наблюдается наложение сигналов от тканей и от элементов крови. Такое наложение может быть объяснено тем, что в перетяжку ультразвукового пучка, диаметр которого сравним с характерными размерами вентрикулярной области, могут попадать отражения как от клапанов, так и от элементов крови, находящихся вне канала.

M-скан (рис. 4а), измеренный при положении преобразователя  $x = 376$  мкм, проходит через же-

лудочек (рис 2). На диаграмме четко выделяются фазы диастолы ( $T_{d1} - T_{d2}$ ) и систолы ( $T_{s1} - T_{s2}$ ), во время которых верхняя стенка желудочка 1 движется вверх и вниз, соответственно. Нижняя стенка желудочка 2 испытывает движения с меньшей амплитудой. Внутри желудочка наблюдаются отклики от элементов крови 3, осуществляющие движение вверх и вниз во время диастолы и систолы соответственно.

Скан  $s(z, T)$  (рис. 5а) записан в области предсердия при  $x = 504$  мкм (рис. 2б). Видно, что во время диастолы ( $T_{d1} - T_{d2}$ ) стенки предсердия 1 и 2 движутся навстречу друг другу. При этом объем предсердия уменьшается, а отклики от элементов крови 3 движутся вверх в сторону области клапанов, наполняя сердце. Во время систолы ( $T_{s1} - T_{s2}$ ) стенки движутся в разные стороны и происходит наполнение объема предсердия кровью через сосуды, лежащие вне плоскости регистрации сигнала.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КРОВОТОКА

Для выделения быстрых движений крови на фоне движения других органов организма осуществлялась фильтрация ультразвуковых дан-



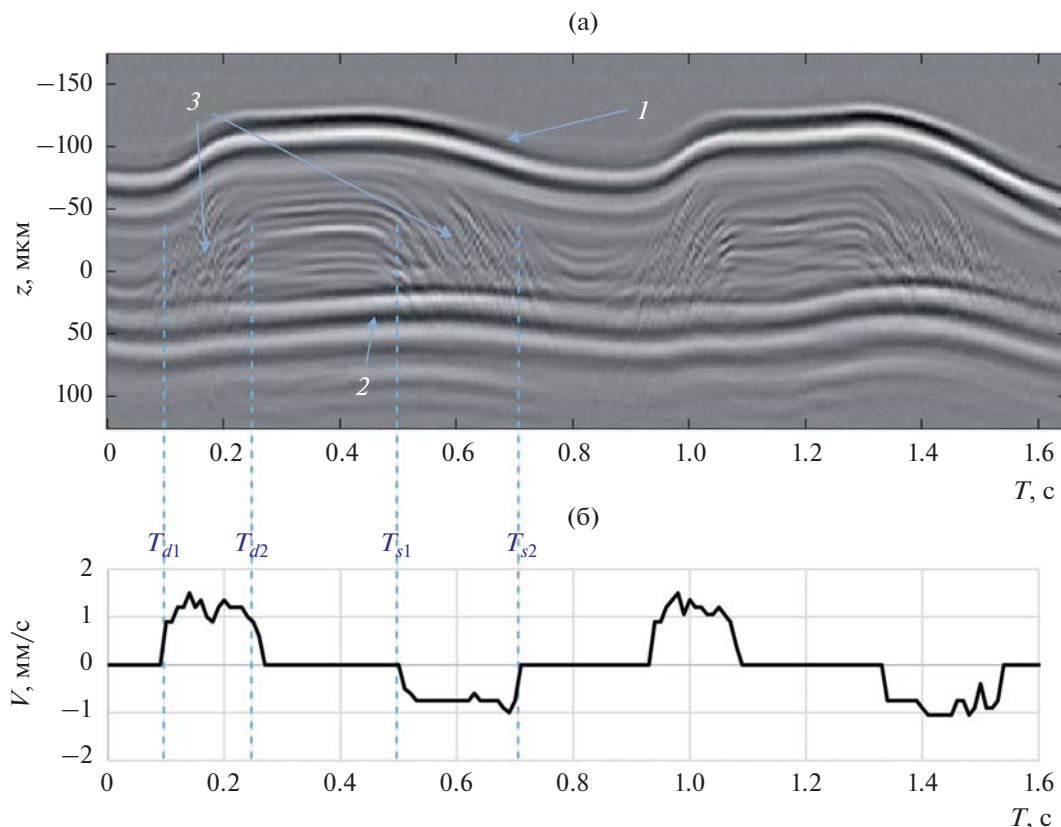


Рис. 4. (а) – Скан  $s(z, T)$ , записанный в положении  $x = 376$  мкм и (б) – зависимость скорости крови от времени  $V(T)$ .

ных по “медленному” времени  $T$ . Фильтрация сигналов производилась в цифровом виде в среде MATLAB. Высокочастотная компонента сигнала  $s_{HF}(z, T, x)$  рассчитывалась фильтром верхних частот с окном Хэмминга, конечная импульсная характеристика которого длиной 51 отсчет определялась функцией `fir1` [26]. Нормированная частота среза фильтра составляла 0.08, что при частоте дискретизации  $1/\Delta T = 500$  Гц соответствует частоте  $f_c = 40$  Гц.

Результаты применения фильтра показывают, что отклики от границ сердца и клапанов в целом подавлены, за исключением областей, где ткани совершают быстрые движения. Высокочастотная фильтрация позволяет выделить кровотоки, например, во время систолы и диастолы, однако она подавляет отклики от медленно движущейся крови в паузе между ними. Также следует отметить, что амплитуды сигналов, рассеянных на элементах крови и отраженных от стенок желудочка и предсердия, являются сравнимыми. Однако при ультразвуковых исследованиях человеческого организма отмечается значительное (на 40 дБ и больше) превышение сигналов от стенок [27–29]. Данное наблюдение можно объяснить тем, что размер эритроцитов человека и эмбриона рыбы составляет примерно 7 мкм, но частота ультразву-

ка в данной работе на порядок выше, чем в медицинской сонографии.

Учитывая связь величины доплеровского частотного сдвига со скоростью движения отражателей [30], такой фильтр пропускает отклики от элементов крови, вертикальная компонента скорости которых больше величины:

$$V_1 \approx \frac{f_c C_W}{2f_0}, \quad (5)$$

где  $f_0$  – характерная частота рассеянных сигналов. Принимая во внимание, что в данном эксперименте  $f_0 \approx 70$  МГц и скорость звука в среде  $C_W \approx 1500$  м/с, оценка нижнего порога детектируемой скорости движения составляет  $V_1 \approx 0.4$  мм/с.

С другой стороны, максимальная скорость движения частиц, корректно определяемая по ультразвуковым данным, ограничивается эффектами наложения откликов при недостаточно малом периоде временной дискретизации  $\Delta T$ . Оценка максимального значения скорости равна [30]:

$$V_2 \approx \frac{C_W}{4f_0 \Delta T}, \quad (6)$$

которая в данном эксперименте составляет  $V_2 \approx 2.7$  мм/с.

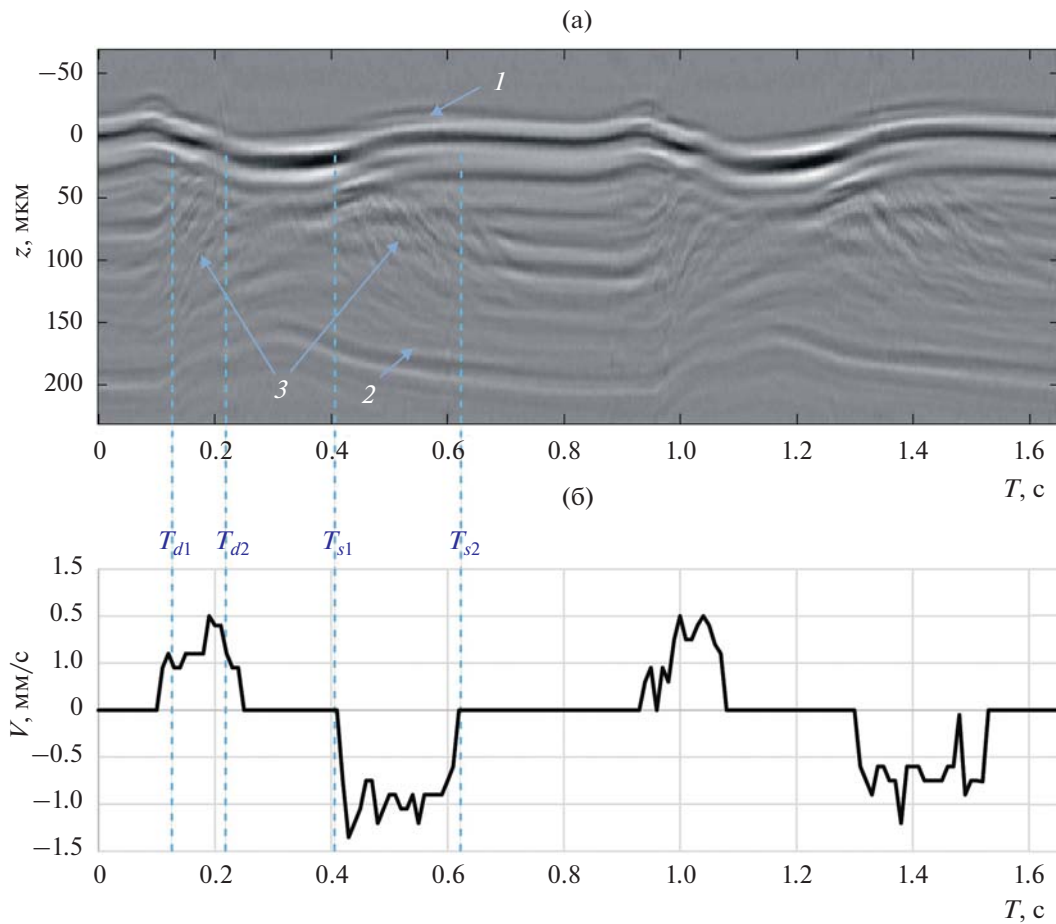


Рис. 5. (а) – Скан  $s(z, T)$ , записанный в положении  $x = 504$  мкм и (б) – зависимость скорости крови от времени  $V(T)$ .

Расчет вертикальной компоненты скорости кровотока производился по формуле [30]:

$$V = \frac{\Delta z}{\Delta T}, \tag{7}$$

где  $\Delta z$  – вертикальное смещение отклика за промежуток “медленного” времени, который был выбран равным периоду дискретизации  $\Delta T = 2$  мс. Для нахождения  $\Delta z$  использовался корреляционный метод [29, 30]. Предварительно сигнал  $s_{hf}(z, T, x)$ , прошедший через высокочастотный фильтр, подвергался пороговой обработке по амплитуде с относительным уровнем 0.1, что позволило уменьшить влияние откликов от движущихся стенок сердца и прошедших через фильтр медленно движущихся элементов крови. Далее рассчитывался двумерный коэффициент корреляции. Размеры окна в плоскости  $(z, T)$ , использовавшегося для вычисления коэффициента, составляли 90 мкм и 12 мс соответственно. Величина  $\Delta z$  определялась по положению максимума рассчитанного коэффициента, поиск которого производился в диапазоне  $\pm 10$  мкм при отклонении по оси времени на величину  $\Delta T$ . Ввиду мало-

сти вертикальных размеров органов и сложности корректного определения зависимости  $V(z)$ , в качестве оценки скорости при фиксированном времени  $T$  использовалось ее максимальное значение.

Результаты расчетов зависимостей  $V(T)$  для трех рассмотренных выше характерных областей приведены на рис. 3б, 4б, 5б. Наибольшее значение  $V \approx 2.5$  мм/с достигается во время диастолы в области клапанов (рис. 3б). В выбранных областях желудочка (рис. 4б) и предсердия (рис. 5б) пиковые значения  $V$  достигают несколько меньших значений: 1.5 и 1 мм/с соответственно. Во время систолы направление движения меняется на противоположное, пиковые значения составляют приблизительно 1.2, 0.8 и 0.8 мм/с соответственно. Длительность импульса крови во время диастолы приблизительно равна  $T_{d2} - T_{d1} \approx 150$  мс, длительность систолы  $T_{s2} - T_{s1}$  несколько больше этой оценки, причем она заметно зависит от положения координаты регистрации сигнала  $x$ . Временной интервал между этими фазами сердечного ритма также зависит от места наблюдения.

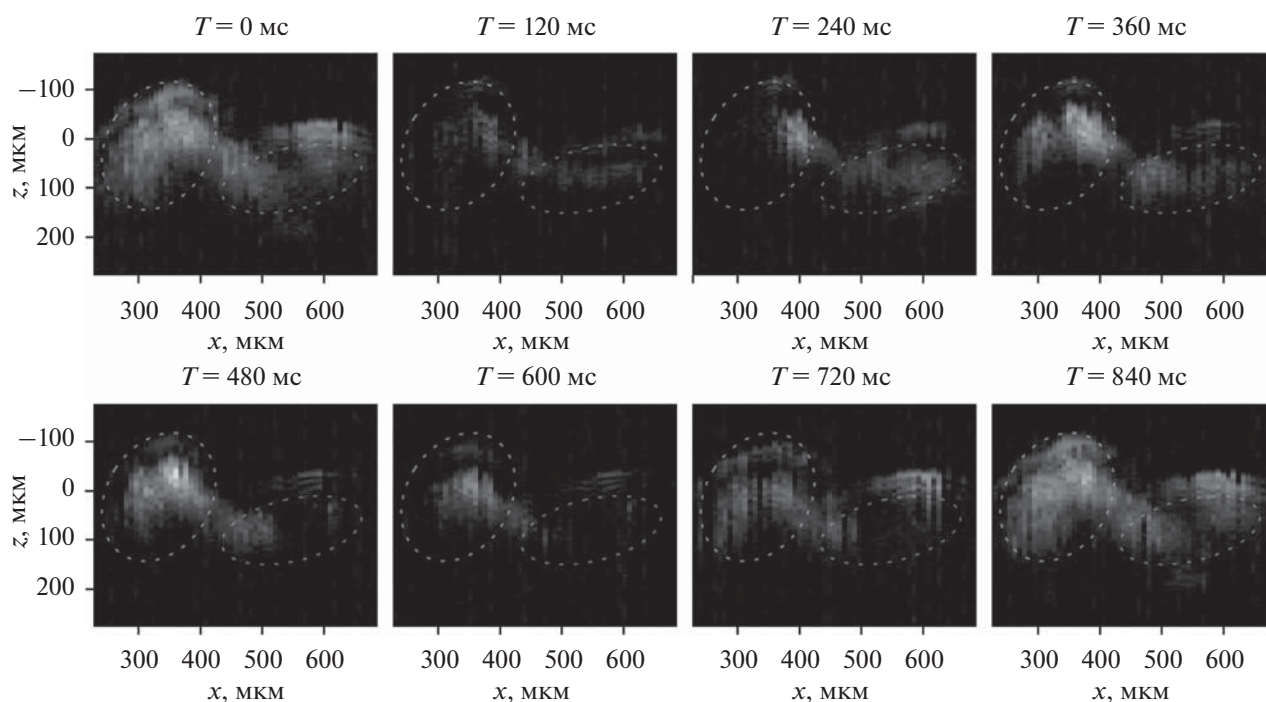


Рис. 6. Параметр  $E(z, x)$ , рассчитанный для разных значений времени  $T = 0, 120, 240, 360, 480, 600, 720, 840$  мс.

Для отображения пространственного распределения плотности движущихся элементов крови в различные моменты времени был использован принцип энергетической доплерографии [29, 30]. Рассчитывался параметр  $E$  путем интегрирования мощности высокочастотной компоненты сигнала  $s_{hf}(z, x, T)$  в течение некоторого интервала “медленного” времени, определяемого оконной функцией  $p(T)$ :

$$E(z, x, T) = \left[ \int_{-\infty}^{\infty} |s_{hf}(z, x, \tau)|^2 p(T - \tau) d\tau \right]^{1/2}. \quad (8)$$

В данных расчетах использовалась прямоугольная оконная функция длительностью 100 мс. Такая длительность представляется достаточной для достижения приемлемого отношения сигнал—шум. С другой стороны, она меньше длительности сердечного цикла  $T_0 = 0.825$  мс, что позволяет наблюдать изменения распределения движущихся элементов крови с течением времени. На рис. 6 приведены результаты расчета параметра  $E$ , представленного в относительных единицах для нескольких значений времени  $T$ . На диаграммах показаны также примерные очертания сердца и предсердия, оценённые ранее из данных рис. 2б.

В соответствии с фазами сердечного ритма, обозначенными на рис. 3–5, диаграммы, представленные на рис. 6 для времени  $T = 0$  и 840 мс, соответствуют диастоле. В это время наблюдается

интенсивное движение частиц практически по всему объему желудочка и предсердия, а также в вентрикулярной области между ними. После окончания диастолы в паузе интенсивность движения значительно снижается ( $T = 120$  мс), потом начинается фаза систолы ( $T = 240, 360, 480$  мс). Систола характеризуется более интенсивным движением в области желудочка, причем ее распределение с течением времени меняется по объему сердца. Она начинается с мощного выброса в ограниченной области ( $T = 240$  мс), потом активность распространяется по более широкой площади. По-видимому, положение этой области в желудочке соответствует выходной артерии, расположенной вне плоскости изображения. В это время интенсивность движения в области предсердия невысока, а в области клапана почти полностью отсутствует. Затем после периода сравнительно слабых движений ( $T = 600, 720$  мс) начинается следующая фаза диастолы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика ультразвукового исследования *in vivo* сердца низших позвоночных на ранних стадиях развития, помещаемых в иммерсионную ячейку импульсного сканирующего акустического микроскопа. В этом микроскопе используется высокочастотный сфокусированный преобразователь, механически перемещаемый относительно объекта. Данная модификация прибора позволяет регистрировать сигналы в за-



висимости от времени распространения ультразвуковых импульсов, пространственных координат и времени, масштаб которого характеризует работу сердечно-сосудистой системы организма. С помощью обработки регистрируемых пространственно-временных данных оказывается возможным реализовать методики, традиционные для медицинских сонографических исследований сердца.

В работе проведено исследование вьюна *Misgurnus fossilis* на предличиночной стадии развития. По изображению организма, полученному в фокальной плоскости преобразователя, было найдено примерное местоположения сердца. Более подробное исследование работы сердца производилось путем регистрации и обработки сигнала, регистрируемого на протяжении нескольких циклов сердечного ритма при каждом положении преобразователя. Интегрирование амплитуды сигнала по времени позволило разделить в изображении области неподвижных и движущихся органов, распознать элементы сердца, а также оценить средние характерные размеры желудочка и предсердия, которые составили 150–300 мкм.

В результате анализа временных изменений сигналов было найдено, что период сердечных сокращений в данном эксперименте составляет 0.825 с. По сигналам можно было наблюдать движения границ мышечных тканей сердца и определять фазы сердечного ритма. Путем высокочастотной фильтрации сигналов по времени были выделены отклики от быстро движущихся элементов крови, по которым производилась оценка вертикальной составляющей скорости их движения в зависимости от времени и положения. Найдено, что наибольшее значение 2.5 мм/с скорость достигает во время диастолы в вентрикулярной области, во время систолы она меняет направление. В других исследованных областях желудочка и предсердия характерные пиковые значения скорости крови находятся в пределах 1.5–0.8 мм/с. Пространственное распределение кровотока было исследовано в соответствии с методом энергетической доплерографии. Отображение мощности высокочастотной компоненты сигнала в зависимости от положения и времени позволило визуализировать изменение плотности движущихся элементов крови в различные моменты сердечного ритма.

Следует отметить, что ввиду малых размеров сердца эхо-сигналы от мышечных тканей и элементов крови перекрываются в некоторых местах и моментах времени. Кроме того, в сердце рыбы, находящейся на эмбриональной или личиночной стадиях развития, скорость движения крови невелика. В ряде случаев она является сравнимой со скоростью движения стенок. Это приводит к затруднениям при определении скорости крови в

периоды ее медленного течения. Можно предположить, что повышение частоты ультразвука, а, следовательно, и пространственной разрешающей способности позволит в заметной степени преодолеть эти недостатки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Государственного задания № 0069-2019-0009.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Yalcin H.C., Amindari A., Butcher J.T., Althani A., Yacoub M.* Heart function and hemodynamic analysis for zebrafish embryos // *Development Dynamics*. 2017. V. 246. № 11. P. 868–880.
2. *Giardoglou P., Beis D.* On zebrafish disease models and matters of the heart // *Biomedicines*. 2019. V. 7. № 1. P. 15.
3. *Gregg C.L., Butcher J.T.* Quantitative in vivo imaging of embryonic development: opportunities and challenges // *Differentiation*. 2012. V. 84(1). P. 149–162.
4. *Daetwyler S., Günther U., Modes C.D., Harrington K., Huiskens J.* Multi-sample SPIM image acquisition, processing and analysis of vascular growth in zebrafish // *Development*. 2019. V. 146. № 6. dev173757. P. 1–10. <https://doi.org/10.1242/dev.173757>
5. *Keller P.J., Schmidt A.D., Wittbrodt J., Stelzer E.H.K.* Reconstruction of zebrafish early embryonic development by scanned light sheet microscopy // *Science*. 2008. V. 322. № 5904. P. 1065–1069.
6. *Megason S.G.* In toto imaging of embryogenesis with confocal time-lapse microscopy // *Methods Mol. Biol.* 2009. V. 546. P. 317–332.
7. *Salman H.E., Yalcin H.C.* Advanced blood flow assessment in Zebrafish via experimental digital particle image velocimetry and computational fluid dynamics modeling // *Micron*. 2020. V. 130. № 3. P. 10280.
8. *Foo Y.Y., Pant S., Tay H.S., Imangali N., Chen N., Winkler C., Yap C.H.* 4D modelling of fluid mechanics in the zebrafish embryonic heart // *Biomech. Model Mechanobiol.* 2020. V. 19. № 1. P. 221–232.
9. *Sun L., Lien C.L., Xu X., Kirk Shung. K.* In vivo cardiac imaging of adult zebrafish using high frequency ultrasound (45–75 MHz) // *Ultrasound Med. Biol.* 2008. V. 34. № 1. P. 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2007.07.002>
10. *Huang C.C., Su T.H., Shih C.C.* High-resolution tissue Doppler imaging of the zebrafish heart during its regeneration // *Zebrafish*. 2015. V. 12. № 1. P. 48–57.
11. *Wang L.W., Huttner I.G., Santiago C.F., Kesteven S.H., Yu Z.Y., Feneley M.P., Fatkin D.* Standardized echocardiographic assessment of cardiac function in normal adult zebrafish and heart disease models // *Dis. Model. Mech.* 2017. V. 10. № 1. P. 63–76.
12. *Ho Y.L., Chau Y.W., Tsai H.J., Lin L.C., Huang P.J., Hsieh F.J.* Assessment of zebrafish cardiac performance using Doppler echocardiography and power angiography // *Ultrasound Med. Biol.* 2002. V. 28. № 9. P. 1137–1143.
13. *Benslimane F.M., Alser M., Zakaria Z.Z., Sharma A., Abdelrahman H.A., Yalcin H.C.* Adaptation of a mice

- doppler echocardiography platform to measure cardiac flow velocities for embryonic chicken and adult zebrafish // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2019. V. 7. Article 96.
14. *Chang C.C., Chen P.Y., Huang H., Huang C.C.* In vivo visualization of vasculature in adult zebrafish by using high-frequency ultrafast ultrasound imaging // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2019. V. 66. № 6. P. 1742–1751.
  15. *Fanga Y., Suna Y., Luo C., Gu J., Shi Z., Lu G., Silvestre J.-S., Chen Z.* Evaluation of cardiac dysfunction in adult zebrafish using high frequency echocardiography // *Life Sciences.* 2020. V. 253. P. 117732.
  16. *Lee L., Genge C.E., Cua M., Sheng X., Rayani K., Beg M.F., Sarunic M.V., Tibbits G.F.* Functional assessment of cardiac responses of adult zebrafish (*Danio rerio*) to acute and chronic temperature change using high-resolution echocardiography // *PLoS ONE.* 2016. V. 11. № 1. e0145163.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145163>
  17. *Evangelisti A., Schimmel K., Joshi S., Shah K., Fisch S., Alexander K.M., Liao R., Morgado I.* High-frequency ultrasound echocardiography to assess zebrafish cardiac function // *J. Vis. Exp.* 2020. Mar 12. V. 157. e60976.  
<https://doi.org/10.3791/60976>
  18. <https://www.visualsonics.com/product/transducers/mx-series-transducers> (дата обращения 10.06.2021 г.)
  19. *Титов С.А., Левин В.М., Петронюк Ю.С.* Обработка пространственно-временного сигнала акустического микроскопа для определения параметров изотропного слоя // *Акуст. журн.* 2017. Т. 63. № 6. С. 692–699.
  20. *Титов С.А., Бурлаков А.Б., Зинин П.В., Богаченков А.Н.* Измерение скорости звука в тканях эмбрионов костистых рыб // *Изв. РАН. Сер. физ.* 2021. Т. 85. № 1. С. 140–144.
  21. *Кайно Г.* Акустические волны: Устройства, визуализация и аналоговая обработка сигналов М.: Мир, 1990. 208 с.
  22. *Smith N., Webb A.* Introduction to Medical Imaging Physics, Engineering and Clinical Applications. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2011. 163 p.
  23. *Burlakov A.B., Titov S.A., Bogachenkov A.N.* Ultrasonic monitoring of early development of lower vertebrate embryos // *J. of Physics: Conf. Series.* 2020. V. 1679.
  24. *Костомарова А.А.* Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. 321 с.
  25. *Макеева А.П.* Эмбриология рыб. М.: из-во МГУ, 1992. 216 с.
  26. <https://www.mathworks.com/help/signal/ref/fir1.html> (дата обращения 10.06.2021 г.)
  27. *Макалкин Д.И., Коршак Б.А., Брысев А.П.* Экспериментальное наблюдение структурирования эритроцитов крови в поле стоячих поверхностных акустических волн // *Акуст. журн.* 2017. Т. 63. № 5. С. 553–559
  28. *Дубровский В.А., Дворецкий К.Н., Балаев А.Э.* Исследование механизма усиления агрегации эритроцитов ультразвуковым полем // *Акуст. журн.* 2004. Т. 50. № 2. С. 184–192.
  29. *Szabo T.L.* Diagnostic ultrasonic imaging: inside out. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004. P. 337–377.
  30. *Hill C.R., Vamber J.C., Haar G.R.* Physical Principles of Medical Ultrasonics. Chichester: John Wiley and Sons. 2004. 528 p.