

## Сравнение оптических методов визуализации сердечно-сосудистой системы *Danio rerio* на ранних стадиях развития

© М.И. Виноградская<sup>1,2</sup>, А.Д. Сергеева<sup>3</sup>, В.И. Букова<sup>1</sup>, А.В. Гурылева<sup>1</sup>, В.В. Крылов<sup>4</sup>, А.Б. Бурлаков<sup>1,2</sup>, А.С. Мачихин<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup> Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия

e-mail: vinogradskaya.mi@ntcup.ru

Поступила в редакцию 10.10.2025 г.

В окончательной редакции 24.11.2025 г.

Принята к публикации 27.03.2026 г.

Выполнено сравнение метода видеокapилляроскопии с традиционно используемыми методами флуоресцентной микроскопии, с точки зрения скорости и информативности. В ходе экспериментального исследования были построены карты сосудов *Danio rerio* в возрасте 3 и 7 дней после оплодотворения. При схожих параметрах регистрирующей оптической системы видеокapилляроскопия обеспечила детализацию сосудов головы и мелких сегментарных сосудов туловища и хвоста большую, чем флуоресцентная микроскопия, данные которой оказались искажены рассеянием света окружающими тканями при флуоресценции. В качестве верифицирующих данных использовались изображения из интерактивного атласа сосудистой анатомии *Danio rerio*, полученные методом конфокальной микроскопии и превышающие по детализации полученные карты сосудов преимущественно в области наиболее мелких сосудов головы. Таким образом, показано, что видеокapилляроскопия, с одной стороны, обеспечивает сопоставимое с другими методами высокое качество (контраст, пространственное разрешение) данных при меньших требованиях к материальному обеспечению исследования, а с другой стороны, минимизирует стрессовое воздействие на рыб, что делает этот метод предпочтительным для длительных физиологических, токсикологических и других исследований.

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистая система, неинвазивная диагностика, *Danio rerio*, цифровая обработка изображений, карты сосудов, видеокapилляроскопия, флуоресцентная микроскопия.

DOI: 10.61011/OS.2026.06.63416.55-25

### Введение

Сердечно-сосудистая система (ССС) начинает функционировать одной из первых в организме и обеспечивает его ткани жизненно важными компонентами: кислородом, питательными веществами, гормонами, иммунными клетками и т.д. Ее развитие и функционирование в пределах физиологической нормы особенно значимы для жизнеспособности эмбриона и взрослого организма. Нарушения в работе СССР приводят к появлению сердечно-сосудистых заболеваний, представляющих собой серьезную угрозу для здоровья населения во всем мире [1]. Кроме того, параметры СССР служат надежными индикаторами других болезней и могут использоваться, например, для ранней диагностики онкологических заболеваний и диабета [2,3]. Развитие методов исследований СССР способствует исследованию причин возникновения заболеваний и развитию методов их ранней диагностики, лечения и профилактики.

Основные ограничения в изучении СССР связаны, в том числе, со сложностью воссоздания естественной архитектуры сосудов в лабораторных условиях. Большинство сосудов в живом организме, особенно на этапе эмбрионального развития, труднодоступны для наблюдения и экспериментального исследования. В связи с этим такие исследования в данном направлении зачастую выполняются на модельных биологических объектах [4,5]. Это позволяет оперативно получать надежные результаты на значимых выборках.

Одной из наиболее перспективных моделей для исследования СССР является рыба *Danio rerio* (*D. rerio*). Геном *D. rerio* имеет высокую степень сходства с человеческим, что позволяет изучать генетические механизмы развития патологий СССР [6]. *D. rerio* обладают высокой регенеративной способностью, что делает их перспективной моделью для изучения восстановления сердечной ткани и сосудов после повреждений [7–10]. Простота и низкая стоимость содержания и разведения этих рыб, а также высокая скорость воспроизведения

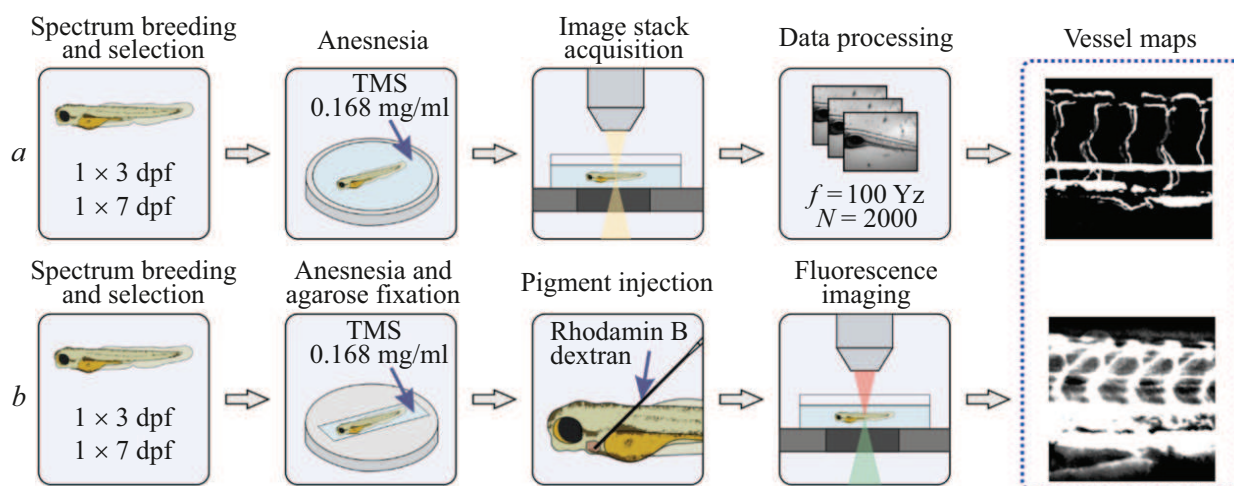


Рис. 1. Протокол исследования CCC с помощью ФМ (a) и ВКС (b).

делают их удобными и общедоступными объектами, позволяя исследовать различные эффекты и наследование признаков в ряду поколений [11].

Среди методов изучения CCC *D. rerio* существуют подходы, обеспечивающие визуализацию сосудов в различных органах [12,13]. Это позволяет отслеживать процессы ангиогенеза и регенерации сосудов в реальном времени, оценивать реакцию CCC на различные воздействия и т.д. [14–17]. Благодаря тому, что эмбрионы и личинки *D. rerio* прозрачны, наблюдения за развитием сердца и сосудов на ранних этапах развития могут проводиться неинвазивно оптическими методами, например, с помощью флуоресцентной микроскопии (ФМ), оптической когерентной томографии, фотоакустики, конфокальной микроскопии, видеокапилляроскопии (ВКС) и др. [18,19].

Одним из наиболее распространенных методов визуализации CCC у эмбрионов и личинок *D. rerio* является ФМ. Свечение сосудов при этом может достигаться за счёт генетических модификаций. Например, у трансгенных рыбок линии Tg(fli1:EGFP) флуоресцентный белок EGFP экспрессируется под контролем эндотелий-специфического промотора fli1, свечение наблюдается в эндотелиальных клетках сосудов [20]. Не прибегая к генетическим изменениям, можно использовать красители-флуорофоры, которые вводятся в кровяное русло [21]. После возбуждения светимостью флуоресцентного белка или красителя позволяет выявить и анализировать сердце и сосуды. Другим методом, получающим все большее распространение в последние годы, является ВКС. Этот метод обеспечивает неинвазивное исследование сосудов, в том числе визуализацию сосудистой сети и оценку гемодинамических характеристик. Подход основан на оптической микроскопии, регистрации последовательности изображений и ее пространственно-частотной обработки, позволяет визуализировать сосуды, по которым перемещаются форменные элементы

крови [22]. Основным преимуществом ВКС перед ФМ является неинвазивный характер исследования. До сих пор сравнение качества данных, получаемых двумя методами, не проводилось. Целью настоящей работы является сопоставление результатов визуализации сосудов личинок *D. rerio* методами ВКС и ФМ.

## Материалы и методы

В эксперименте использовались личинки *D. rerio* дикого типа возрастом 3 и 7 дней после оплодотворения (dpf). Личинки не имели видимых нарушений развития на момент проведения эксперимента. По окончании эксперимента состояние подопытных не отличалось от особой, не подверженной воздействию.

## Протокол эксперимента

Протокол проведения визуализации CCC методами ВКС и ФМ представлен на рис. 1, a и 1, b соответственно. Для устранения влияния физиологических особенностей особой исследование двумя методами проводилось на одних и тех же личинках последовательно — сначала ВКС, далее ФМ.

Для осуществления ВКС исследуемая особь помещалась на 1 min в раствор трикаина метансульфоната TMS (0.168 mg/ml) для обездвиживания и далее помещалась на предметный столик светлполюсного микроскопа (Altami Bio6), оснащенного цифровой камерой (TIS DMK 33UX252, разрешение  $2048 \times 1535$  pix, размер пикселя  $3.45 \times 3.45 \mu\text{m}$  — для работы с личинками 3 dpf; TourCam SWIR1300KMA, разрешение  $1280 \times 1024$  pix, размер пикселя  $5 \times 5 \mu\text{m}$  — для работы с личинками 7 dpf) и объективом с 4-кратным увеличением (рис. 2, b). С частотой кадров 100 Hz записывались серии из 1000 изображений тела личинки. Размер личинки превышал

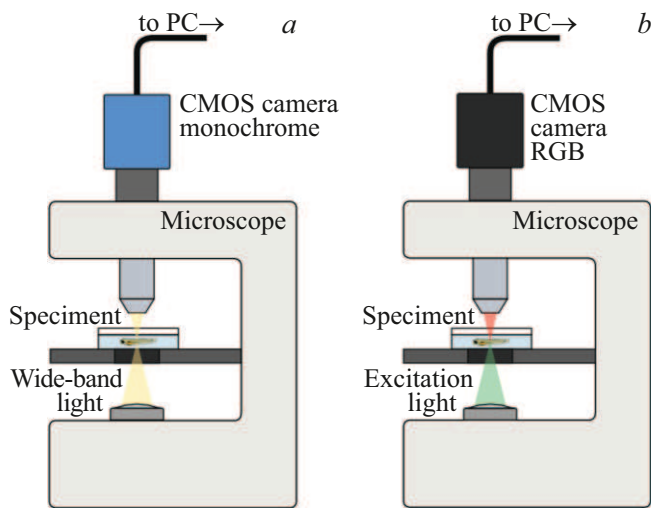


Рис. 2. Схема установки для визуализации CCC с помощью ФМ (a) и ВКС (b).

линейное поле зрения микроскопа в пространстве предметов, поэтому для получения карты сосудов всего тела особи требовалось записывать 3 серии со смещением предметного столика между ними.

После завершения регистрации данных для ВКС особь перемещалась в чашку Петри, в которой была сделана матрица длинных борозд из 2%-раствора агарозы, изготовленной аналогично [18]. Борозды были заполнены раствором TMS для обездвиживания и анестезии. Личинка размещалась на боку и с помощью микроинъектора (Eppendorf Jet4x) и стеклянных капилляров в кюветов проток вводился краситель Родамин В — декстран (10 mg/ml).

После введения красителя особь извлекалась из матрицы и перемещалась в чашку Петри с водой, которая далее размещалась на предметном столике флуоресцентного микроскопа (Leica M205 FCA, центральные длины волн излучения подсветки 520 nm, регистрации люминесценции 650 nm) (рис. 2, a).

### Обработка данных

Обработка данных ВКС осуществлялась с помощью ранее разработанных алгоритмов [23–25], основные этапы которых приведены на рис. 3. Входными данными являлась последовательность черно-белых увеличенных изображений части тела личинки *D. rerio*. В рамках предобработки для каждого кадра проводилось устранение неравномерности освещенности: к кадру применялся фильтр Гаусса, а затем полученная низкочастотная компонента вычиталась из исходного кадра. Далее проводилась компенсация локальных и глобальных межкадровых смещений [26], вызванных дрейфом особи в кювете.

Следующим этапом являлся пространственно-частотный анализ серии кадров, основанный на том, что

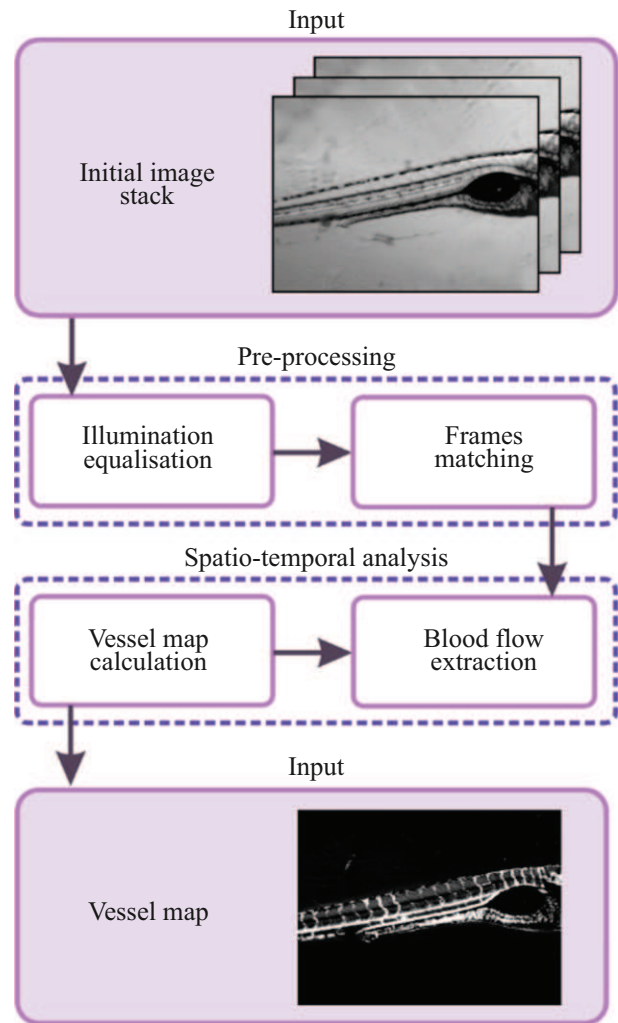
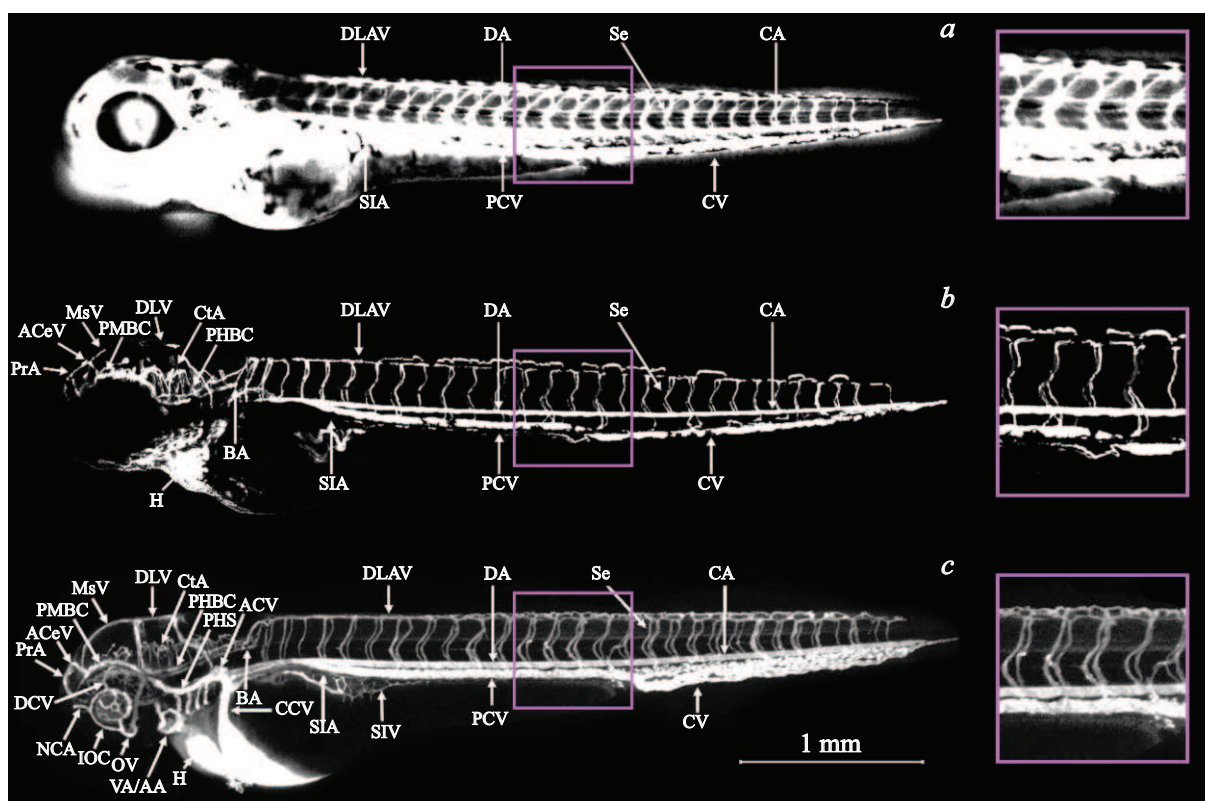


Рис. 3. Алгоритм обработки серии кадров для получения карты сосудов.

изменения во времени интенсивности пикселей в полученной последовательности изображений обусловлены в первую очередь движением частиц крови по сосудам и имеют периодичность, связанную с сердечной функцией. Фурье-спектр временного сигнала в каждом пикселе проходил фильтрацию для выделения частот колебаний в диапазоне 0.5–7 Hz. После фильтрации амплитуда колебаний интенсивности в пикселях, относящихся к сосудам, значительно превышала амплитуду колебаний сигнала бескровных областей. Попиксельное вычисление стандартного отклонения интенсивности последовательности прошедших фильтрацию изображений позволяло визуализировать проекцию CCC на плоскость чувствительной площадки цифровой камеры микроскопа и получить карту сосудов. Карты сосудов отдельных частей организма личинки соединялись между собой в одно панорамное изображение. Аналогичная процедура совмещения проводилась для получения панорамы CCC методом ФМ.



**Рис. 4.** Результаты визуализации ССС особи *D. rerio* в возрасте 3 dpf, полученные методами ФМ (a), ВКС (b) и конфокальной ФМ (c). ACV — передняя кардинальная вена, ACeV — передняя мозговая вена, AA — дуги (подъязычная, жаберные), BA — базилярная артерия, CA — хвостовая артерия, CCV — общая кардинальная вена, CV — хвостовая вена, CtA — центральные артерии, DA — спинная аорта, DLAV — спинной продольный анастомотический сосуд, DLV — спинная продольная вена, DCV — спинная цилиарная вена, H — сердце, IOC — внутренний зрительный круг, NCA — носовая цилиарная артерия, OV — глазная вена, PCV — задняя кардинальная вена, PHBC — первичный заднемозговой канал, PMBS — первичный канал среднего мозга, PHS — первичный головной синус, PrA — переднемозговая артерия, Se — межсегментарный сосуд, SIA — надкишечная артерия, SIV — подкишечная вена, VA — брюшная аорта.

## Результаты

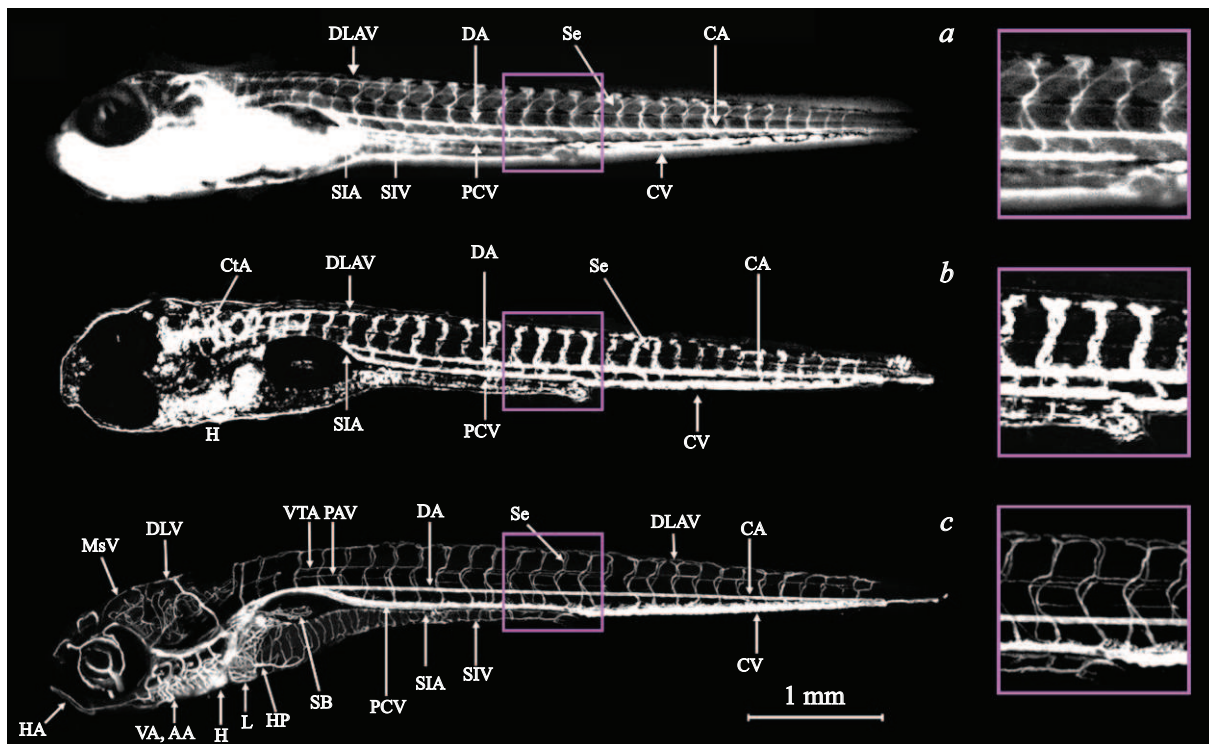
Карты сосудов, полученные методами ФМ и ВКС, для личинок *D. rerio* в возрасте 3 и 7 дней после оплодотворения приведены на рис. 4 и 5 соответственно. Кроме того, на указанных рисунках показаны изображения ССС из интерактивного атласа сосудистой анатомии *D. rerio*, полученные методом конфокальной ФМ [27]. На изображении отмечены сосуды, различаемые визуально как отдельные.

Метод ВКС обеспечивает различение сосудов головы, туловища и хвоста с характерными размерами от  $7\ \mu\text{m}$  (Se — межсегментарные сосуды, AA — жаберные дуги). Детализированность карты сосудов, полученной методом ВКС, может быть повышена за счет регистрации изображений с большим пространственным разрешением. Метод ФМ позволил различать сосуды туловища и хвоста с характерными размерами от  $10\ \mu\text{m}$  (Se — межсегментарные сосуды). Конфокальная микроскопия показала возможность наиболее детализированной визуализации сосудов, в том числе в области головы, с харак-

терным размером от  $3\text{--}5\ \mu\text{m}$  (MsV — среднемозговая вена).

Сравнение полученных карт ССС показывает высокую степень их сходства. Более того, изображения, полученные при помощи ВКС, оказались более четкими в сравнении с ФМ. Это особенно заметно на мелких сосудах и капиллярах на вставках (на полных картах сосудов увеличенные зоны ограничены рамками) к рис. 4 и 5.

Одной из причин такой разницы в качестве изображений является рассеяние незначительной части света окружающими тканями при флуоресценции. Вторая причина состоит в том, что ВКС даёт более плоский срез сети кровеносных сосудов в сравнении с ФМ. Построение изображения при этом базируется на отслеживании траекторий движущихся в кровяном русле форменных элементов крови, что определяется фокусировкой микроскопа. При ФМ регистрируется свечение в сосудах по всему объёму биологического объекта, включая области чуть ближе и дальше глубины резко изображаемого пространства. Таким образом, ВКС обеспечивает более рез-



**Рис. 5.** Результаты визуализации ССС особи *D. rerio* в возрасте 7 dpf, полученные методами ФМ (a), ВКС (b) и конфокальной ФМ (c). ACV — передняя кардинальная вена, AA — дуги (подъязычная, жаберные), CA — хвостовая артерия, CV — хвостовая вена, CtA — центральные артерии, DA — спинная аорта, DLAV — спинной продольный анастомотический сосуд, DLV — спинная продольная вена, H — сердце, HA — гипобранхиальная артерия, HP — печеночная вена, L — печень, MsV — среднемозговая вена, PCV — задняя кардинальная вена, Se — межсегментарный сосуд, SIA — надкишечная артерия, SIV — подкишечная вена, SB — плавательный пузырь, VA — брюшная аорта, VTA — позвоночная артерия.

кое итоговое изображение сосудистой сети, но при этом незначительная часть сосудов может не отобразиться, если микроскоп на ней не сфокусирован и движение элементов крови там не детектируемо. Флуоресцентная микроскопия, напротив, регистрирует практически все сосуды в объеме прозрачного организма, что приводит к некоторому снижению резкости итогового изображения.

## Обсуждение

Методы флуоресцентной микроскопии, в том числе конфокальной, предполагают использование трансгенных животных или введение в кровоток флуоресцирующих веществ. В первом случае, учитывая сложные эпигенетические процессы, существует вероятность того, что некоторые реакции генетически модифицированного биологического объекта не будут полностью соответствовать таковым у рыб дикого типа, которые являются наиболее изученными. Во втором случае при введении в кровоток красителя увеличивается риск повреждения органов и гибели особи. Присутствие красителей в организме может негативно сказаться на результатах исследований из-за токсичности некоторых из них и иммунного ответа [28]. Вместе с тем, флуорофоры со

временем деградируют и выводятся из кровотока, что делает невозможными долгосрочные наблюдения [29]. Конфокальная ФМ обеспечивает высокую детализацию сосудистой сети, однако также отличается значительной стоимостью оборудования и инвазивностью.

Главными преимуществами ВКС являются бесконтактность и возможность проведения исследований в близком к реальному времени режиме без использования дорогостоящего оборудования и расходных материалов. Таким образом, ВКС, с одной стороны, обеспечивает сопоставимую с другими методами точность полученных данных при снижении затрат на материальное обеспечение исследования, а с другой стороны, минимизирует стрессовое воздействие на рыб, что делает этот метод более предпочтительным для долгосрочных наблюдений.

Потеря прозрачности с возрастом ограничивает возможность визуализации ССС рядом оптических методов [30]. Использование ВКС в коротковолновом инфракрасном диапазоне позволяет преодолеть это ограничение и осуществлять неинвазивное исследование ССС у рыб *D. rerio* возрастом до нескольких недель [23]. В настоящей работе показано, что ВКС в инфракрасной области спектра также обеспечивает сопоставимую с

ФМ и конфокальной микроскопией детализацию сосудистой сети.

Несмотря на многие преимущества, использование *D. rerio* в исследованиях сердца и сосудов имеет ограничения, основным из которых является необходимость обездвиживания особи. Авторами показана возможность регистрации частоты сердечных сокращений с использованием схожего подхода ? сочетания оптической микроскопии с цифровой обработкой последовательности изображений методами машинного обучения [31]. Реализация ВКС для картирования сосудов без обездвиживания пока остается предметом дальнейших исследований. Другим ограничением ВКС является возможность визуализации только тех сосудов, по которым за время регистрации данных происходило движение частиц крови, т.е. только активных сосудов. С другой стороны, эта особенность оказывается полезна при анализе изменения активности сосудов на фоне воздействий на организм. Третьим ограничением является регистрация двумерной проекции сосудистой сети без возможности разделения отдельных сосудов по глубине залегания.

## Заключение

Данная работа посвящена определению места ВКС среди известных и широко распространенных методов визуализации ССС модельного объекта *D. rerio*. Так как ВКС — это один из немногих методов, который отличается неинвазивностью, простотой реализации и низкими требованиями к материальному обеспечению исследований, необходимо определить, насколько качество данных, получаемых с помощью ВКС, соответствует наиболее распространенным на сегодняшний момент методам ФМ.

В ходе исследования получены карты сосудов с помощью ФМ и ВКС. Показано, что при близких для двух методов параметрах регистрации, формирующих и регистрирующих увеличенные изображения особи, ВКС обеспечила детализацию сосудов головы и мелких межсегментарных сосудов туловища и хвоста бо?льшую, чем ФМ, данные которой оказались искажены рассеянием части света окружающими тканями при флуоресценции. В качестве верифицирующих данных использовались изображения из интерактивного атласа сосудистой анатомии *D. rerio*, полученные методом конфокальной микроскопии и превышающие по детализации карты сосудов ВКС преимущественно в области наиболее мелких сосудов головы.

Таким образом, показано, что при значительных эксплуатационных преимуществах ВКС этот метод обеспечивает сопоставимое с ФМ и даже конфокальной ФМ качество данных (контраст, пространственное разрешение и т.д.). К ограничениям метода относятся необходимость применения анестезии, возможность визуализации только активных сосудов и регистрация только двумерной

проекции без возможности разделения отдельных сосудов по глубине.

## Благодарности

Результаты работы получены с использованием оборудования Центра коллективного пользования НТЦ УП РАН [<http://ckp.ntcup.ru>].

## Соблюдение этических стандартов

Экспериментальные исследования одобрены комиссией по биоэтике НТЦ УП РАН, протокол № 3/24 от 08/21/2024.

## Финансирование работы

Исследование выполнено в рамках Государственного задания НТЦ УП РАН (FFNS-2025-0008).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] *World Health Organization* [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases>
- [2] P. Lee, J. Sarkozi, A.A. Bookman, E.C. Keystone, S.K. Armstrong. *J. Rheumatol.*, **13** (3), 564-9 (1986).
- [3] A. Guryleva, A. Machikhin, E. Orlova, E. Kulikova, M. Volkov, G. Gabrielian, L. Smirnova, M. Sekacheva, O. Olisova, E. Rudenko, O. Lobanova, V. Smolyannikova, T. Demura. *J. Biophotonics*, e202400242 (2025). DOI: 10.1002/jbio.202400242
- [4] A.Y. Sokolov, M.A. Volynsky, A.V. Potapenko et al. *Sci. Rep.*, **13**, 11928 (2023). DOI: 10.1038/s41598-023-39171-w
- [5] M. Kamei, S. Isogai, B. M. Weinstein. *Methods in Cell Biology*, **76**, 51–74 (2004). DOI: 10.1016/S0091-679X(04)76004-5
- [6] K. Howe et al. *Nature*, **496** (7446), 498–503 (2013). DOI: 10.1038/nature12111
- [7] А.С. Аметов, И.О. Курочкин, А.А. Зубков. *PMЖ*, **13**, 954 (2014).
- [8] F.C. Simões et al. *Nature Commun.*, **11** (1), 1–17 (2020). DOI: 10.1038/s41467-019-14263-2
- [9] L. Bevan et al. *Cardiovasc. Res. Oxford Academic*, **116**(7), 1357–1371 (2020). DOI: 10.1093/cvr/cvz221
- [10] R. Marín-Juez et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **113** (40), 11237–11242 (2016). DOI: 10.1073/pnas.1605431113
- [11] A. Nasiadka, M.D. Clark. *ILAR J. Oxford Academic*, **53**(2), 161–168 (2012). DOI: 10.1093/ilar.53.2.161
- [12] M. Kamei, S. Isogai, B. M. Weinstein. *Methods in Cell Biology*, **76**, 51–74 (2004). DOI: 10.1016/S0091-679X(04)76004-5
- [13] T. Schwerte, B. Pelster. *J. Exp. Biol.*, **203**, 1659–1669 (2000). DOI: 10.1242/jeb.203.11.1659

- [14] L.M. Cross, M.A. Cook, Shuo Lin, Jau-Nian Chen, A.L. Rubinstein. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **23**(5), (2003). DOI: 10.1161/01.ATV.0000068685.72914.7E
- [15] R. Fritsche, T. Schwerte, B. Pelster. *Am. J. Physiology-Regulatory, Integr. Comparat. Physiol.*, **279**(6), 2200-2207 (2000). DOI: 10.1152/ajpregu.2000.279.6.R2200
- [16] A.D. Sergeeva, A.S. Panova, A.D. Ivanova, Y.V. Khramova, K.I. Morozova, D.A. Kotova, A.V. Guryleva, D.D. Khokhlov, I.V. Kelmanson, A.V. Vasilev, A.I. Kostyuk, A.V. Semyanov, V.A. Oleinikov, V.V. Belousov, A.S. Machikhin, N.A. Brazhe, D.S. Bilan. *Antioxid. Redox Signal.*, **42**(4–6), 292–300 (2025). DOI: 10.1089/ars.2024.0563
- [17] V.V. Krylov, T.F. Lukyanov, V.I. Korzhevina, A.S. Machikhin, A.V. Guryleva, V.K. Tchougounov, A.B. Burlakov. *Comparat. Biochem. Physiol. C.*, **288**, 110075 (2025). DOI: 10.1016/j.cbpc.2024.110075
- [18] N.A. ElSayed, G. Aleppo, V.R. Aroda, R.R. Bannuru, F.M. Brown, D. Bruemmer, B.S. Collins, M.E. Hilliard, D. Isaacs, E.L. Johnson, S. Kahan, K. Khunti, J. Leon, S.K. Lyons, M.L. Perry, P. Prahalad, R.E. Pratley, J.J. Seley, R.C. Stanton, R.A. Gabbay. *Diabetes Care*, **46**(1), 1-208 (2023). DOI: 10.2337/dc23-cr05
- [19] R. Haindl, A. Deloria, C. Sturtzel, H. Sattmann, W. Rohringer, B. Fischer, M. Andreana, A. Unterhuber, T. Schwerte, M. Distel, W. Drexler, R. Leitgeb, M. Liu, *Biomed. Opt. Express*, **11**, 2137–2151 (2020). DOI: 10.1364/BOE.390410
- [20] V. Delov, E. Muth-Köhne, C. Schäfers, M. Fenske. *Aquat. Toxicol.*, **150**, 189–200 (2014). DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.03.010
- [21] S. Isogai, M. Horiguchi, B. M. Weinstein. *Develop. Biol.*, **230**(2), 278–301 (2001). DOI: 10.1006/dbio.2000.9995
- [22] A.S. Machikhin et al. *IEEE Transact. Instrument. Measur.*, **74**, 1–13 (2025). DOI: 10.1109/TIM.2024.3502743
- [23] A.D. Sergeeva, A.S. Panova, A.D. Ivanova, Y.V. Khramova, K.I. Morozova, D.A. Kotova, A.V. Guryleva, D.D. Khokhlov, I.V. Kelmanson, A.V. Vasilev, A.I. Kostyuk, A.V. Semyanov, V.A. Oleinikov, V.V. Belousov, A.S. Machikhin, N.A. Brazhe, D.S. Bilan. *Antioxid. Redox Signal.*, **42**(4-6), 292–300 (2025). DOI: 10.1089/ars.2024.0563
- [24] A.S. Machikhin, A.B. Burlakov, M.V. Volkov, D.D. Khokhlov. *J. Biophotonics*, **13**(7), e202000061 (2020). DOI: 10.1002/jbio.202000061
- [25] A.S. Machikhin, A.V. Guryleva, A.G. Selyukov, A.B. Burlakov, V.I. Bukova, D.D. Khokhlov, E.V. Efremova, E.E. Rudenko. *Micron*, **163**, 103360 (2022). DOI: 10.1016/j.micron.2022.103360
- [26] F. Champagnat, A. Plyer, G. Le Besnerais, B. Leclaire, Y. Le Sant. In *Proc. 8th Int. Symp. Particle Image Velocimetry-PIV09*, **11**, 5–20 (2009).
- [27] S. Isogai, M. Horiguchi, B. M. Weinstein. *Develop. Biol.*, **230**, 278–301.
- [28] C.J. Huang et al. *Develop. Biol.*, **286**(1), 308–320 (2005). DOI: 10.1006/dbio.2002.0711
- [29] M. Kamei, W.B. Saunders, K.J. Bayless, L. Dye, G.E. Davis, B.M. Weinstein. *Nature*, **442**(7101), 453–456 (2006). DOI: 10.1038/nature04923
- [30] F. Santoso, A. Farhan, A.L. Castillo, N. Malhotra, F. Saputra, K.A. Kurnia, K.H.-C. Chen, J.-C. Huang, J.-R. Chen, C.-D. Hsiao. *Biomedicines*, **8**, 329 (2020). DOI: 10.3390/biomedicines8090329
- [31] A. Machikhin, A. Slavin, A. Guryleva, V. Krylov. *J. Vis.*, **18**(218), e68145 (2025). DOI: 10.3791/68145