

## 수술현미경용 다중형광 관측 시스템 연구

김홍래<sup>1</sup> · 이현민<sup>1</sup> · 윤웅배<sup>1</sup> · 김영재<sup>1</sup> · 김석기<sup>2</sup> · 유현<sup>3</sup> · 주재영<sup>4</sup> · 김광기<sup>1</sup> · 이승훈<sup>3</sup>

<sup>1</sup>국립암센터 융합기술연구부 의공학연구과, <sup>2</sup>국립암센터 융합기술연구부 분자영상치료연구과  
<sup>3</sup>국립암센터 이행성 임상 제 2연구부 특수암연구과, <sup>4</sup>한국광기술원 신조명연구본부 스마트조명연구센터

### Development of Indocyanine Green and 5-Aminolevulinic Acid Detection System for Surgical Microscope

Hong Rae Kim<sup>1</sup>, Hyun Min Lee<sup>1</sup>, Woong Bae Yoon<sup>1</sup>, Young Jae Kim<sup>1</sup>, Seok Ki Kim<sup>2</sup>,  
Heon Yoo<sup>3</sup>, Jae Young Joo<sup>4</sup>, Kwang Gi Kim<sup>1</sup> and Seung-Hoon Lee<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biomedical Engineering Branch, Division of Convergence Technology, National Cancer Center, Goyang, Korea

<sup>2</sup>Molecular Imaging & Therapy Branch, National Cancer Center, Goyang, Korea

<sup>3</sup>Pediatric Oncology Branch & Hospital, National Cancer Center, Goyang, Korea

<sup>4</sup>Lighting Technology Team, Korea Photonics Technology Institute, Gwangju, Korea

(Manuscript received 5 October 2014; revised 17 December 2014; accepted 24 December 2014)

16

**Abstract:** Indocyanine green(ICG) and 5-aminolevulinic acid(5-ALA) have been widely used to mark blood vessels or tumors. However, fluorescent dye detection systems were designed to use one type of dyes only. In this study, we proposed a detection system capable of detecting Indocyanine green and 5-aminolevulinic acid. Multiple filters and light sources are integrated into a single system. In this study, we performed analysis of fluorescent dyes and configured a detection system. During the analysis, it was found that Indocyanine green and 5-aminolevulinic acid have the maximum intensity at 40  $\mu$ M. We designed light source for fluorescent dyes and conducted compatibility test using a commercial surgical microscope. The fluorescent dye detection system was configured based on the experimental results. The developed system successfully detects Indocyanine green and 5-aminolevulinic acid. Therefore, more efficient surgical operations can be achieved using both fluorescent dyes at the same time. We expect that the developed system can increase the survival rate of patients.

**Key words:** Fluorescence Image-Guided Surgery, Brain Glioma, Microscope, Indocyanine Green, 5-Aminolevulinic Acid

### 1. 서 론

국내 뇌종양 발생건수는 1년에 약 3000명의 뇌종양 환자가 발생하고 있으며 인구 10만명당 10~15명 정도 발생하고 있다[1]. 침윤성이 강한 악성신경교종은 MRI(Magnetic Resonance Imaging) 사용시에도 악성교종과 정상조직간

의 경계선을 구분하기 어렵다[2]. 환자의 생존율을 높이고 재발방지를 위하여 악성교종의 완전 절제와 절제부위를 최소화 함으로써 정상조직의 손상을 최소화하는 것이 중요하다[3]. 시술 시 환자의 안정성을 위해 악성교종 이외에도 뇌혈관의 위치 및 연결 상태를 확인하여야 한다. 이를 확인하고 악성교종 부위에 연결된 혈관만을 절제하고 중요 혈관은 우회하여 주는 등의 안전조치도 필요하기 때문이다.

악성교종 및 혈관을 표시하기 위한 형광 발광물질은 5-ALA(5-Aminolevulinic Acid)의 경우 몸 속의 신진대사에 의한 물질 변환과정에서 파생된 Protoporphyrin IX 물질의 생성에 의한 형광발현을 나타내게 된다. 이러한 반응 과정으로 암세포만을 타겟으로 하는 형광 표지자로서의 역할

Corresponding Author : Kwang Gi Kim, Seung-Hoon Lee  
323 Ilsan-ro, Ilsandong-gu, Goyang-si Gyeonggi-do 410-769, Korea

TEL: +82-31-920-2241, +82-31-920-1503

E-mail: kimkg@ncc.re.kr, nslsh@ncc.re.kr

본 연구는 보건복지부의 재원으로 한국보건산업진흥원의 첨단의료 기술개발사업 지원에 의하여 이루어진 것임(HI13C12830100).

을 수행하게 된다[4-8].

혈관을 표시하기 위한 형광 발광(發光, Luminescence) 물질인 ICG(Indocyanine green)의 경우 혈관 및 림프절을 돌면서 혈관 및 림프절을 표시하게 된다[9,11].

환자에 ICG 및 5-ALA를 투여하고 특정 파장의 광원을 환자의 수술부위에 가한 후 이 영상을 특수 필터를 통해 영상을 획득 하였을 때 종양이나 혈관의 위치를 시각으로 관측할 수 있도록 하여 준다[12-14].

특히 환자의 혈관의 위치를 파악하는 데 효율적인 ICG는 1957년도부터 사용된 부작용이 적은 형광물질이다. 환자에 투여 시 ICG는 혈장단백질(Plasma protein)과 결합하며 750~800 nm 대역의 빛을 투과하면 845 nm의 형광 빛을 방사한다. 5-ALA는 형광성질이 없으나 세포 내에서 변환된 Protoporphyrin IX에 약 400 nm의 빛을 투과하면 635 nm의 형광 빛을 방사한다. 따라서 이러한 성질을 사용하면 정상 조직과 악성교종을 구분할 수 있다. 5-ALA의 사용은 완전 절제 성공률을 약1.4배 증가시키며 절제되지 못한 악성교종의 크기를 1/16으로 줄여 악성교종의 재발 방지에 효과적이다[15-18].

기존의 형광발광물질을 이용한 제품들은 하나의 필터만을 제공하여 ICG나 5-ALA중 하나의 물질만을 사용할 수 있어 환자의 안전과 수술의 용이성을 위해선 교종의 위치와 혈관을 동시에 보여주는 시스템 장치가 필요하다.

이러한 단점을 보완하기 위한 다중형광 광 역학 진단기기 개발하기 위한 연구를 진행하였다.

특히 수술현미경의 경우 다수의 빔스플리터(Beam splitter)가 존재 하므로 빛의 감쇄율이 높다. 형광원의 광량이 시술자에게 보여지기 위해서는 감쇄를 고려하여 광원의 광량이 충분한 것을 사용 하여야 한다.

현재 개발된 수술현미경의 광원의 경우 관측 범위(Field of view)에서 수술현미경까지의 높이를 15~20 cm로 유지하였을 때 광원의 세기는 30~40(mW/cm<sup>2</sup>)정도로 형성 되

었으며 이는 주변 수술실에서의 조명에 관측 범위는 영향을 받지 않을 정도의 세기로 측정 되었다.

따라서 본 연구에서는 이러한 요구사항에 맞는 별도의 광원을 설계 및 제작하였으며 광원의 적합성 실험을 실시하였고 최종적으로 수술현미경하에서 형광 샘플이 보이는지 관측실험을 실시하였다.

## II. 관련연구 및 연구방법

본 연구를 진행하기에 앞서 시약의 특성을 분석하기 위하여 분광광도계(Spectro photometer)와 흡광도계(Microplate reader)를 사용한 시약분석을 먼저 실시 하였다.

ICG에서 나오는 형광특성을 분석하기 위하여 시약을 ICG가 첨가된 용액을 분광광도계(DU 730, Beckman, USA)로 분석하여 정확한 몰수를 측정된 후 다양한 몰수로 제작하여 흡광도계(Safire 2, Tecan, Switzerland)로 파장별 흡광도를 측정하였다.

5-ALA의 경우 신체 내 물질대사(Metabolism) 반응의 부산물로 생겨나는 형광물질을 관측해야 하지만 동물실험 이외의 실험에서 반응을 관측하기에 어려운 부분이 있다. 따라서 5-ALA를 물질대사를 거쳐 생성된 형광물질로 대체하여 실험할 필요가 있다. 이를 대체하기 위한 물질로 Protoporphyrin IX 을 사용하여 동물실험 이외의 실험에 사용하였다. Protoporphyrin IX 으로 ICG와 같은 측정 순서대로 측정을 실시하였다.

광원은 기존의 수술 현미경 앞 단에 링 형태의 LED를 부착하여 광원을 조사 할 수 있도록 하였다. LED는 710 nm, 400 nm 파장대의 LED 2개를 교차 배열로 각 16개씩 연결하였다.

광원을 분석하기 위하여 링 형태의 LED 모듈의 5부분에 대한 조도, 광량의 변화를 측정 하였으며, 파장과 LED 모듈에 대한 온도 측정, 온도에 따른 파장 변화를 측정하였다.

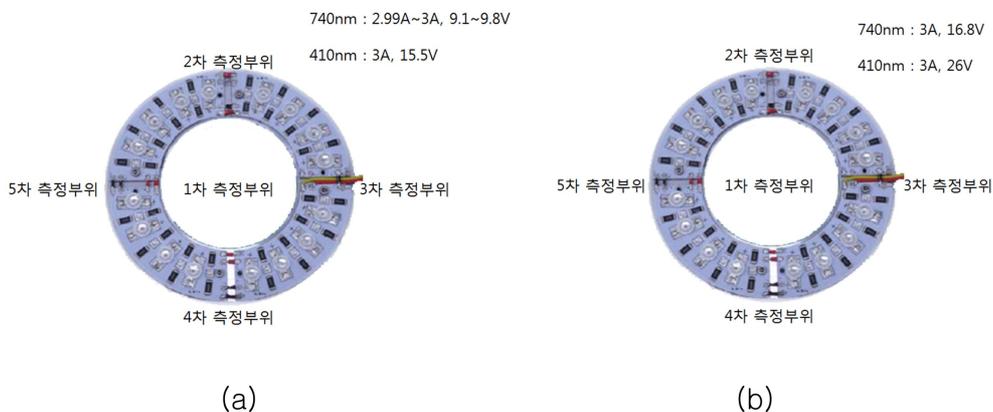


그림 1. 본 연구에서 개발한 (a) 1차 LED 모듈, (b) 2차 LED 모듈의 조도 광량 측정위치.  
Fig. 1. Developed LED module's measurement spot (a) 1st LED module (b) 2nd LED module.

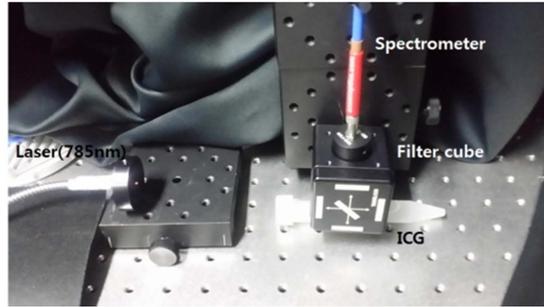
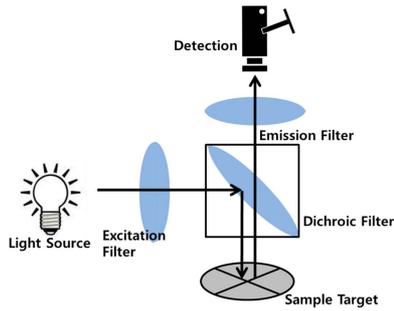


그림 2. 형광 시약의 파장 분석 시스템.  
Fig. 2. Analysis system of fluorescence dye's wavelength.

측정 부위는 그림 1과 같이 측정을 실시 하였다.

LED와 실제 시술부위까지의 거리(Working distance)에서 시술범위에 가운데, 외곽부분으로 나누어 조도(Illumination, 照度)를 측정하였다.

광량(Quantity of light, amount of light, 光量) 역시 LED와 실제 시술부위까지의 거리에서 시술범위에 가운데, 외곽부분으로 나누어 측정하였다.

온도(Temperature, 溫度)는 LED에서 발생하는 발열현상을 관측하기 위하여 측정하였다. 이와 동시에 열 발생에 따른 LED 파장의 변화(Shift)가 발생하는지 관측하여 측정 하였다.

특히 온도에 의한 파장변화의 경우 광원이 변화할 경우 발광(Emission)의 파장의 최고점이 변화 할 수 있기에 관측하여 필터 세트를 구성하는 데 참고 하기 위하여 측

정을 하였다.

시약의 발광 파장은 다음 그림 2와 같이 광학 실험 셋팅을 하여 실험을 실시 하였다.

시약 및 광원 분석 후 수술현미경을 통한 형광이미지 관측실험을 실시하였다. 실험 관측은 그림 3과 같은 세트로 실시하였다.

### III. 실험결과

ICG 물 측정의 경우 ICG를 용매에 넣고 3차 증류수에 500배 희석을 하여 분광광도계 200 nm~1000 nm 파장대역을 스캔하여 가장 흡광도가 높은 778 nm 파장에서의 흡광도는 0.478로 측정되었다.

물 환산 계산식에 의하여 1.1 mM 농도로 계산하여 이 시약을 각각 3차 증류수로 10, 20, 40, 60, 80, 100, 200  $\mu$ M 로 희석하여 이를 흡광도계에서 여기되는 740 nm 파장의 광원을 조사하여 760~850 nm 대역에서의 발광 파장 815 nm에서 높은 형광이 측정되었고 농도는 40  $\mu$ M 에서 가장 높게 측정되었다.

5-ALA 물 측정의 경우 5-ALA를 용매(DMSO)에 넣고 2N의 HCL용액에 1000배 희석을 하여 분광광도계 300 nm~1000 nm 파장대역을 스캔하여 가장 흡광도가 높은 408 nm 파장에서의 흡광도는 0.605로 측정되었다.

물 환산 계산식에 의하여 3.5 mM 농도로 계산하여 이 시약을 각각 2N의 HCL(2N의 염산) 용액으로 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 200  $\mu$ M 로 희석하여 이를 흡광도계에서 여기(Excitation) 408 nm 파장의 광원을 조사하여 450~850 nm 대역에서의 발광되는 파장은 609 nm에서 높은 형광이 측정되었고 농도는 40  $\mu$ M 에서 가장 높게 측정되었다.

LED 모듈의 조도 및 광량의 측정 결과는 다음 표 1과 같이 나타났다.

측정 데이터를 비교 하였을 때 중앙과 외곽의 차이는 3~8 배 정도 차이가 나는 것을 확인 할 수 있었다. 수술현미경에서의 관측범위는 수술현미경과 시술부위의 높이 차이가

18



그림 3. 수술현미경을 이용한 형광 샘플 관측 실험.  
Fig. 3. Measurement of fluorescence sample using microscope.

표 1. LED 모듈의 소비전력과 위치 별 조도 값 대조표.

Table 1. LED module's power consumption and illuminance value of measurement spot.

	740 nm	410 nm
소비전력	1 차 모듈 : $3 A \times 9.8 V = 29.4 W$ 2 차 모듈 : $3 A \times 16.8 V = 50.4 W$	1 차 모듈 : $3 A \times 15.6 V = 46.8 W$ 2 차 모듈 : $3 A \times 26 V = 78 W$
소비전력비율	$29.4 W : 50.4 W \cong 1 : 1.7$	$46.8 W : 78 W \cong 1 : 1.7$
최소값비율 (중앙)	$633lux : 530lux \cong 1 : 0.8$	$1170 W : 3153 W \cong 1 : 2.7$
최대값 비율 (외곽)	$1600lux : 3400lux \cong 1 : 2.1$	$6776lux : 22536lux \cong 1 : 3.3$
최소값비율 (중앙)	$0.03 W/cm^2 : 0.027 W/cm^2 \cong 1 : 0.9$	$0.06 W/cm^2 : 0.096 W/cm^2 \cong 1 : 0.6$
최대값 비율 (외곽)	$0.08 W/cm^2 : 0.196 W/cm^2 \cong 1 : 2.5$	$0.252 W/cm^2 : 0.73 W/cm^2 \cong 1 : 2.9$

표 2. 1차, 2차 LED 모듈의 온도 및 파장 값 대조표.

Table 2. LED module's temperature value and wavelength value.

1 차모듈	740 nm			410 nm		
	측정시간	측정온도	측정파장	측정시간	측정온도	측정파장
1 차	•	29.4°C	735.15 nm	•	32.3°C	415.38 nm
2 차	20 분후	41.8°C	738.96 nm	20 분후	58.9°C	419.37 nm
3 차	40 분후	44.4°C	740.28 nm	40 분후	53°C	418.32 nm

2 차모듈	740 nm			410 nm		
	측정시간	측정온도	측정파장	측정시간	측정온도	측정파장
1 차	•	50.2°C	738.31 nm	•	36.3°C	418.96 nm
2 차	20 분후	102.8°C	745.25 nm	20 분후	114.7°C	418.75 nm
3 차	40 분후	112.4°C	749.50 nm	40 분후	122.7°C	419.58 nm

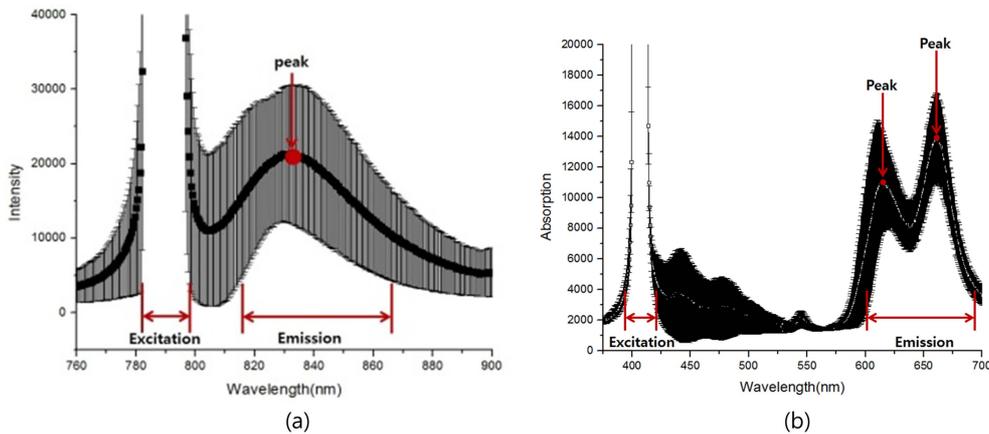


그림 4. 광원에 따른 파장 측정 결과 여기 파장 대역과 발광 파장대역 및 최고점 측정 그래프 (a) ICG, (b) 5-ALA(Protoporphyrin IX).  
Fig. 4. Graph of analysis of fluorescence dye's wavelength, (a) ICG, (b) 5-ALA(Protoporphyrin IX).

20 cm일 때 지름 9 cm로 측정되었다. 따라서 지름 9 cm에 광원이 집중되어야 형광원 관측이 가능하며 9 cm 외곽은 관측 불가능한 영역으로 이 부위에 광원이 비출 경우 광원의 효율을 낮추고 관측부위의 광량을 부족하게 하여 형광원 관측이 어려워 질 수 있다. 광원의 효율을 높이기 위해서는 수술현미경으로 관측하였을 때 관측 범위에 집중이 더 필요함을 확인 하였으며 1차 모듈 보다는 2차 모듈에서 효율이 높

아 짐을 확인 하였다.

표 2는 1, 2차 LED 모듈의 동작 시 온도와 동 시간대의 파장 측정 결과이다.

온도는 2차 모듈의 소비전력을 높였기 때문에 온도 상승이 높게 나타났으며 소비전력을 높일수록 방열기능이 중요한 것으로 나타났으며 파장은 1~11 nm의 차이가 나타남을 확인 할 수 있었다.

그림 4는 레이저 광원(ICG : 785 nm, 5-ALA: 405 nm)을 조사 하였을 때 그에 따른 여기 파장 대역과 발광 파장 대역을 측정된 측정 결과 그래프이다.

그림 4는 광원의 여기 파장에 따른 파장대별 시약의 특성을 표준편차 그래프로 나타낸 것이다. 그래프에서 나타나는 여기 파장 대 영역은 실험 시 시약에 조사한 광원의 파장대역으로 분류할 수 있으며 이를 제외한 그래프 파형은 여기 파장에 따른 발광 파장의 특성그래프로 판단할 수 있다. ICG시약의 파장 발광 영역대의 경우 785 nm의 레이저를 조사하였을 경우 나타나는 특성을 관측하였으며 관측결과 발

광 영역대역에서 1개의 곡선이 나타나지만 발광영역 그래프 곡선이 여기 파장대역과 일부 겹치는 모습을 볼 수 있다. 800~820 nm 파장대역에서 여기 광원과 발광 형광원이 동시에 존재 하므로 이 영역 대를 관측할 경우 형광원 이외의 부분을 형광 원으로 인식할 수 있는 오류의 원인으로 작용할 수 있다. LED의 경우 단파장 영역대의 파장이 아니라 곡선의 완만한 넓은 파장 영역 대를 이루므로 파장이 겹치는 부분이 더욱 넓게 분포하므로 필터 선정에 중요한 요인으로 작용하였다. 5-ALA시약의 경우 405 nm의 레이저를 조사하였을 경우 나타나는 특성을 관측하였으며 관측결과 발광영역대역에서 2개의 곡선이 연속적으로 나타나는 것으로 분석되었다. 또한 비교적 넓은 영역 대(약100 nm)를 차지하고 있다. 여기 파장대역과 발광 영역대가 약 200 nm 정도 떨어져 있으므로 필터를 선정하는데 있어서 ICG보다 유동적으로 선정할 수 있었다.

수술현미경을 통한 형광 샘플 측정 실험에서 사용한 필터는 앞의 실험결과를 바탕으로 표 3와 같이 구성하였다.

실험 결과 획득 영상은 그림 5와 같은 이미지로 나타났다.

표 3. 형광 관측 시스템의 필터 파장 대역.

Table 3. Fluorescence observation system of filter wavelength band.

	ICG	5-ALA
Excitation	740 nm (bandwidth : 10 nm)	400 nm (bandwidth : 10 nm)
Emission	840 nm (bandwidth : 10 nm)	636 nm (bandwidth : 10 nm)

#### IV. 토의 및 결론

본 연구에서 개발한 광원은 앞에서의 실험 결과에서처럼 몇 가지 문제점을 가지고 있다. 집광의 문제점 시술자의 관측시점 부분과 외곽부분의 조도 및 광량의 차이가 발생하고 있으며 LED 광원의 광량을 높이기 위하여 소비전력을 높일 경우 발열의 문제가 발생하여 이에 대한 대책도 필요하다. 따라서 이러한 문제점들을 보완하기 위한 LED 광원을 개발 중에 있다. 방열이 원활하지 않을 경우 LED 파장의 변화가 발생하여 최고점이 필터의 범위를 벗어날 경우 샘플 타겟에 전달되는 광량이 감소하는 문제가 발생하여 이 문제에 대한 지속적인 연구도 필요하다.

현재 형광 이미지 획득용 CCD Camera는 도시바에서 나온 제품을 사용하고 있다. 카메라의 센서에 따라 파장대별 민감도가 다르게 측정된다. 연구에서 필요로 하는 640 nm 파장 대와 840 nm 파장 대에서 효율이 좋은 센서를 찾아야 한다.

파장대별 민감도 비교의 방법은 기본적으로 회사에서 제공하는 파장대별 민감도 그래프(Quantum Efficiency Graph)를 제공하므로 이를 기준점으로 삼을 수 있다. 하지만 동일 파장과 파위의 광원과 동일 실험 환경에서 획득한 각 CCD Camera의 영상 이미지의 픽셀 값 분석을 한 결과를 분석하였을 때에는 회사에서 제공하는 그래프 특성과 일치하지 않는 것을 확인 하였다. 그리고 회사에서 제공하는 파장대별 민감도 그래프의 영상 획득 강도(Intensity) 정보는 회사마다 다른 테스트 방식으로 측정이 되므로 비교가

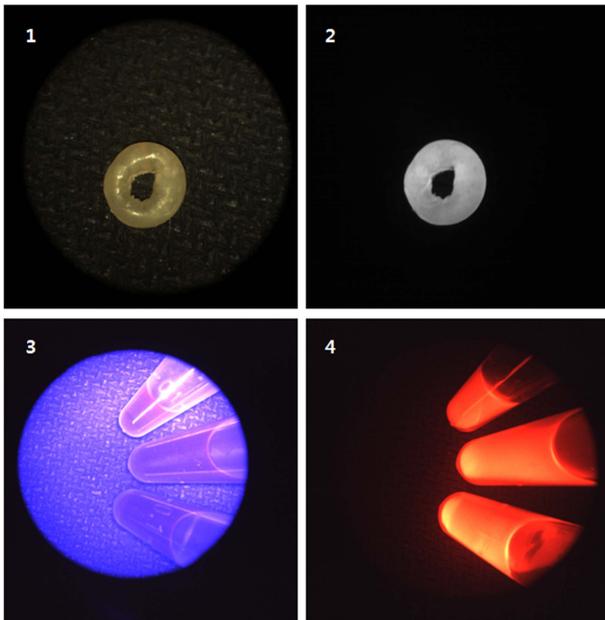


그림 5. 수술현미경을 통해 관측한 이미지 (1) ICG샘플타겟의 일반 컬러 카메라 영상, (2) 필터를 통한 ICG샘플타겟의 CCD카메라 (BU406M, Toshiba, Japan)로 관측한 형광 이미지, (3) 5-ALA(Protoporphyrin IX)샘플타겟의 일반 컬러 카메라 영상, (4) 필터를 통한 5-ALA(Protoporphyrin IX)샘플타겟의 CCD카메라로 관측한 형광 이미지.

Fig. 5. The image through the surgical microscope (1) Color camera image (ICG sample target) (2) ICG fluorescence image through the filtered CCD camera (BU406M, Toshiba, Japan) (3) Color camera image (5-ALA sample target) (4) 5-ALA fluorescence image through the filtered CCD camera.

불가능 한 것으로 나타났다. 따라서 파장대별 민감도 그래프에 의한 파장 별 특성을 참고 하여 결정을 하고 각 회사 별 카메라를 비교 분석하여야 할 것이다.

수술현미경에서 영상을 획득하기까지 최소한의 빔스플리터를 거쳐서 빛의 감쇄현상을 최소화 하는 구성에 대한 연구 또한 필요하다. 수술현미경에 부착할 수 있는 시스템을 구성하기 위하여 별도의 빔스플리터가 추가되는 시스템이므로 추가되는 빔스플리터의 설계 및 연결부의 설계가 중요한 요소로 작용한다. 연결부의 경우 빛이 연결부의 틈으로 새어나가는 현상을 최소화하여야 한다. 빔스플리터의 경우 각도에 따른 카메라에 상이 맺히는 위치에 대한 연구가 필요하며 이 연구를 통해 기구학적인 좌 우 카메라의 정합이 선행되어야 소프트웨어에 의한 정합 비중이 줄어들어 영상처리에 의한 시간지연을 줄일 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 수술현미경 하에서 형광이미지 획득하는 것을 성공한 상태이며 이를 영상의 질을 높이기 위한 추가 연구도 진행하고 있는 상황이다. 추가 연구 진행사항으로 광원의 향상을 위하여 관측 범위에 집중되는 디자인으로 LED 설계를 진행 중에 있으며 효율적인 방열시스템 및 광량을 높이는 시스템을 개발 중에 있다. 개량된 시스템으로 동물 실험을 진행하여 형광 시스템의 적합성 여부를 판단 할 수 있을 것으로 기대된다.

형광물질인 ICG는 시술의 성공률을 높이기 위해 오래 전부터 사용되어왔다. 하지만 5-ALA의 경우 ICG보다 상대적으로 승인 후 사용기간이 짧다. 이로 인해 ICG와 5-ALA를 동시에 관측 가능한 시스템은 없었으며 연구를 진행하여 결과를 얻어 낸다면 수술 후 생존율이 증가하는 데 일조를 할 수 있을 것으로 예상된다.

또한 이러한 형광물질을 이용한 시술은 그 편리성과 장점으로 인해 더욱 널리 사용될 것으로 기대된다.

## References

- [1] [http://ncc.re.kr/hospital/centers/center07/clinic04/content\\_3396.jsp](http://ncc.re.kr/hospital/centers/center07/clinic04/content_3396.jsp)
- [2] J. C. Yoo, S. P. Lee, J. G. Kim, G. H. Choi, H. T. Yeo, "An Image Study of Malignant Glioma Model with Diffraction Enhanced Imaging Computed Tomography", *Journal of Korean Brain Tumor Society*, vol. 10, pp. 103-109, 2011.
- [3] A. Rück, C. Hauser, S. Lorenz, S. Mosch, S. Rotte, M. Kessler, S. Kalinina, "Cell metabolism, tumour diagnosis and multispectral FLIM." in SPIE BiOS. *International Society for Optics and Photonics, 2013*, San Francisco, California, USA, pp. 85880U-85880U-85888.
- [4] L. Teng, M. Nakada, Y. Hayashi, T. Yoneyama, S.-G. Zhao, J.-I. Hamada, *Current Applications of 5-ALA in Glioma Diagnostics and Therapy*. INTECH. 2013, pp. 249-261.
- [5] B. W. Pogue, S. L. Gibbs-Strauss, P. A. Valdés, K. S. Samkoe, D. W. Roberts, K. D. Paulsen, "Review of neuro-surgical fluorescence imaging methodologies." *Selected Topics in Quantum Electronics*, vol. 16, PP. 493-505, 2010.
- [6] M. Schwake, D. Günes, M. Köchling, A. Brentrup, J. Schroteler, M. Hotfilder, M. C. Fruehwald, W. Stummer, C. Ewelt, "Kinetics of porphyrin fluorescence accumulation in pediatric brain tumor cells incubated in 5-aminolevulinic acid." *Acta neurochirurgica*, vol. 156, pp. 1077-1084, 2014.
- [7] T. Beez, S. Sarikaya-Seiwert, H.-J. Steiger, D. Hänggi, "Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of brain tumors in children-a technical report." *Acta neurochirurgica*, vol. 156, pp. 597-604, 2014.
- [8] M. Hefti, H. Maximilian Mehdorn, I. Albert, L. Dörner, "Fluorescence-guided surgery for malignant glioma: a review on aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX photodynamic diagnostic in brain tumors." *Current Medical Imaging Reviews*, vol. 6, pp. 254-258, 2010.
- [9] G. Klein, R. Baumgartner, R. Flower, "An image processing approach to characterizing choroidal blood flow." *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 31, pp. 629-637, 1990.
- [10] G. Themelis, J. S. Yoo, K.-S. Soh, R. Schulz, V. Ntziachristos, "Real-time intraoperative fluorescence imaging system using light-absorption correction." *Journal of biomedical optics*, vol. 14, pp. 064012-064012-064019, 2009.
- [11] C. B. Jeong, K. G. Kim, T. S. Kim, S. K. Kim, "Image Fusion of Lymphoscintigraphy and Real images for Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer Patients." *Journal of Biomedical Engineering Research*, vol. 31, no. 2, pp. 114-122, 2010.
- [12] J. T. Alander, I. Kaartinen, A. Laakso, T. Pättilä, T. Spillmann, V. V. Tuchin, M. Venermo, P. Välisuo, "A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery." *Journal of Biomedical Imaging*, vol. 2012, pp. 7, 2012.
- [13] W. Stummer, U. Pichlmeier, T. Meinel, O. D. Wiestler, F. Zanella, H.-J. Reulen, "Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial." *The lancet oncology*, vol. 7, pp. 392-401 (2006).
- [14] B. Ganeshan, K. A. Miles, R. C. Young, C. R. Chatwin, "In search of biologic correlates for liver texture on portal-phase CT." *Academic radiology*, vol. 14, pp. 1058-1068, 2007.
- [15] F. Ricci, F. Missiroli, L. Cerulli, "Indocyanine green dye-enhanced micropulsed diode laser: a novel approach to sub-threshold RPE treatment in a case of central serous chorioretinopathy." *European journal of ophthalmology*, vol. 14, pp. 74-82, 2003.
- [16] M. V. Marshall, J. C. Rasmussen, I.-C. Tan, M. B. Aldrich, K. E. Adams, X. Wang, C. E. Fife, E. A. Maus, L. A. Smith, E. M. Sevick-Muraca, "Near-infrared fluorescence imaging in humans with indocyanine green: a review and update." *Open surgical oncology journal (Online)*, vol. 2, pp. 12, 2010.
- [17] G. Themelis, J. S. Yoo, V. Ntziachristos, "Multispectral imaging using multiple-bandpass filters." *Optics letters*, vol. 33, pp. 1023-1025, 2008.
- [18] Y. Kondo, Y. Murayama, H. Konishi, R. Morimura, S. Komatsu, A. Shiozaki, Y. Kuriu, H. Ikoma, T. Kubota, M. Nakanishi, "Fluorescent detection of peritoneal metastasis in human colorectal cancer using 5-aminolevulinic acid." *International journal of oncology*, vol. 45, pp. 41-46, 2014.