

# МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ОРГАНОСКОПЫ ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И ИХ ОРГАНОВ

© 2011 г. Kang Uk \*\*, Ph.D; Г. В. Папаян \*, канд. техн. наук; В. Б. Березин \*\*, канд. техн. наук; Bae Soo-Jin \*\*; С. В. Ким \*\*; Н. Н. Петрищев \*, доктор мед. наук

\* Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,  
Санкт-Петербург

\*\* Korean Electrotechnology Research Institute (KERI), Seoul, Korean Republic

E-mail: pgarry@mail.wplus.net

Флуоресцентный органоскоп обеспечивает наблюдение и регистрацию мультиспектральных изображений органов экспериментальных животных в режиме реального времени в свете собственной и вторичной флуоресценции в видимой и ближней инфракрасной областях спектра. Мультиспектральная изображающая система построена на основе высокочувствительной RGB-телеизационной матрицы. Возбуждение флуоресценции осуществляется с помощью комбинированного лампово-лазерного осветителя или матрицы светодиодов. Конструктивно прибор выполнен в двух вариантах: на базе универсального и специализированного штативов. Возможности прибора иллюстрируются примерами биомедицинских исследований.

**Ключевые слова:** флуоресцентная диагностика, интравитальные исследования, мультиспектральные системы.

Коды OCIS: 170.0170, 170.3880, 170.3890, 170.4580.

Поступила в редакцию 11.04.2011.

## Введение

Возможность слежения за изменениями состояния биообъектов в процессе их жизнедеятельности с помощью флуоресцентных методик позволяет проводить прижизненные (интравитальные) экспериментальные исследования и решать некоторые задачи медицинской диагностики [1–6]. Аппаратура для проведения таких исследований может давать информацию о спектральных свойствах объекта в определенных точках его поверхности или о его морфологических особенностях в определенных участках эмиссионного спектра, либо о том и другом вместе. К последнему типу относятся мультиспектральные изображающие системы, обеспечивающие регистрацию флуоресцентных картин одновременно в нескольких спектральных полосах [7–10]. Мультиспектральные изображения дают больше информации о свойствах объекта, чем спектры в отдельных точках или только монохромные изображения, что позволяет достовернее выявлять патологию и следить за структурно-функциональными изменениями.

Объектами исследования могут быть клетки и ее органеллы или небольшие участки ткани, а также отдельные функционирующие органы и живые организмы в целом. Соответственно, оптические системы, строящие изображения, должны обладать различными разрешениями и полями зрения. Большинство интравитальных флуоресцентных приборов являются микроскопами (обычного или конфокального типа). Они позволяют проводить работы на клеточном и субклеточном уровнях. Однако такого рода исследования не могут заменить изучения целостного организма или его отдельного органа. Важность макроскопических наблюдений подобных живых систем известный патолог Ганс Селье (1907–1982) пояснял следующим образом: “Вы никогда не узнаете, на что похожа мышь, если будете тщательно изучать ее отдельные клетки под микроскопом, так же как не поймете прелести готического собора, подвергая каждый его камень химическому анализу”.

Для проведения макроскопических исследований высокое разрешение, свойственное микроскопам, не требуется, но необходима

аппаратура, обеспечивающая большие поля зрения и рабочие расстояния, а в опытах *ex vivo* также и условия для прижизненного функционирования объекта. В дальнейшем для идентификации исследований подобного рода будем использовать термин “органоскопия”, а приборы, с помощью которых они проводятся, органоскопами.

### Существующие приборы

Аппаратура для проведения органоскопических исследований в большинстве случаев представлена экспериментальными установками, созданными для решения определенных исследовательских задач [11, 12]. Однако имеются и универсальные приборы, предназначенные для мультиспектральных флуоресцентных исследований на мелких животных *in vivo*. [9, 10]. Остановимся на этих коммерчески доступных изделиях подробнее.

В приборе “Maestro system” (CRi Inc., USA) [9] приемная система построена на базе высокочувствительной монохромной охлаждаемой матрицы  $1360 \times 1024$  с прогрессивным сканированием (Sony ICX285/0 °C). Она оснащена перестраиваемым светофильтром LCTF (Liquid Crystal Tunable Filter), позволяющим последовательно регистрировать монохромные флуоресцентные изображения в различных участках эмиссионного спектра в диапазоне 500–950 нм с разрешением 20 или 40 нм. В осветителе для возбуждения флуоресценции применена ксеноновая лампа с набором переключаемых интерференционных светофильтров. Максимальное пространственное разрешение составляет 25 мкм/пиксел. Типичное время одной экспозиции составляет 2–5 с. В другом приборе – “In vivo Multi Spectral Imaging System FX” (Kodak, USA) [11] – в качестве приемника используется монохромная чересстрочная ПЗС-матрица  $2048 \times 2048$  пикселов с охлаждением до  $-29$  °C, а в качестве источника света – ксеноновая лампа мощностью 400 Вт, оснащенная 28 фильтрами возбуждения в диапазоне 410–760 нм. Максимальное оптическое разрешение составляет 10 мкм/пиксел. Выделение спектральных компонентов эмиссии в диапазоне 535–830 нм осуществляется с помощью 6 автоматически переключаемых интерференционных фильтров. Особенностью этого прибора является возможность получения одновременно с флуоресцентными изображениями также рентгеновских и радиоизотопных

снимков, что облегчает идентификацию структур, в которых избирательно накапливаются флуоресцентные биомаркеры. Собственная флуоресценция – автофлуоресценция (АФ) – тканей в этом случае является помехой, которая затрудняет наблюдение метки. С этим явлением борются программными средствами. Поскольку мультиспектральное изображение формируется из последовательности отдельных монохромных изображений, программные средства в обоих приборах используются и для их объединения методом мультиплексирования. Из-за низкого быстродействия, обусловленного как последовательным принципом образования мультиспектральных изображений, так и большим временем экспозиций, с их помощью можно регистрировать изображения только в виде фотографий. Кроме того, конструкция приборов не позволяет проводить исследования отдельных функционирующих органов *ex vivo*, что также ограничивает возможность их использования.

Целью настоящей работы является создание мультиспектральной флуоресцентной аппаратуры видеотипа, предназначенной для проведения экспериментальных исследований органов мелких животных *in vivo* и *ex vivo* в режиме реального времени.

### Описание моделей

Для реализации поставленной цели были разработаны три модели флуоресцентного органоскопа: “FLUM-LED”, “FLUM-LL” и “AnimaScope” (рис. 1, 3, 4 соответственно). Они имеют общую систему регистрации изображений и отличаются осветительными устройствами, оптикой и штативами. Рассмотрим каждую из этих систем в отдельности.

**Мультиспектральная система регистрации изображений** построена на основе цветной телевизионной камеры RGB-типа с установленными перед ней сменными детекторными фильтрами. Такой принцип построения обеспечивает возможность работы системы с видеоскоростью и, в необходимых случаях, изменять спектральные свойства RGB-каналов.

Телевизионная камера 1 (рис. 1) является высокочувствительной, высокоразрешающей, цифровой измерительной системой. Она построена на базе одноматричного ПЗС-приемника формата 2/3 дюйма с прогрессивным сканированием ICX285AQ (SONY). Максимальная кадровая частота составляет 14 Гц при числе

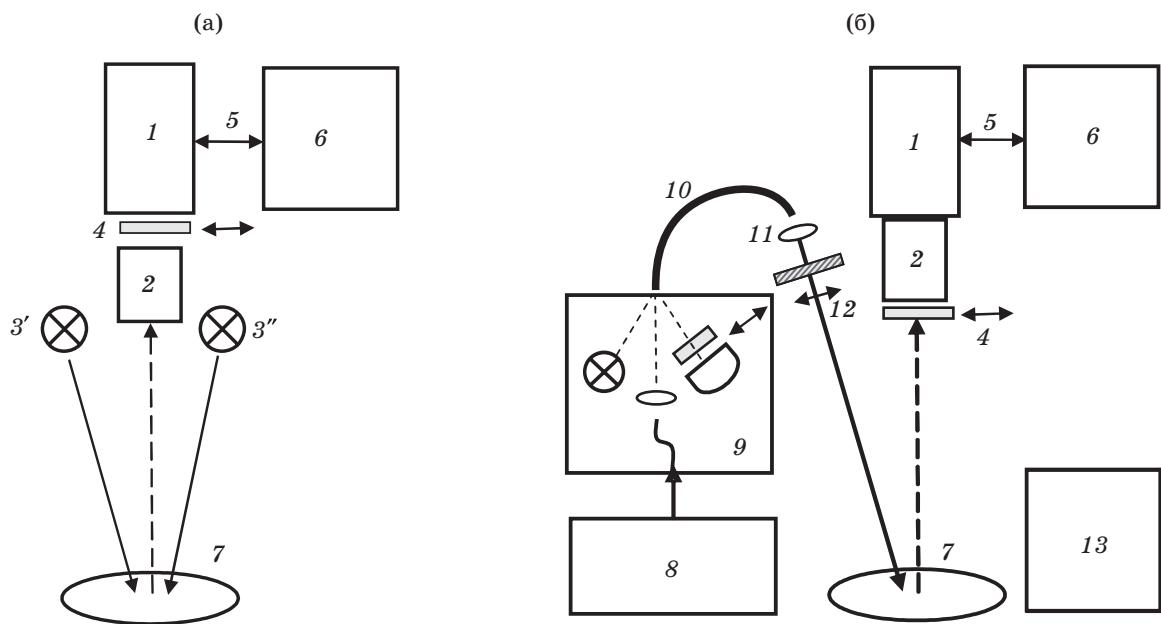


Рис. 1. Принципиальные схемы флуоресцентного органоскопа модели “FLUM-LED” (а) и моделей “FLUM-LL” и “AnimaScope” (б). 1 – телевизионная камера, 2 – объектив, 3 – светодиоды, 4 – детекторные светофильтры, 5 – высокоскоростная шина связи, 6 – компьютер, 7 – объект, 8 – лазер, 9 – комбинированный осветитель, 10 – жидкостный световод, 11 – коллектор, 12 – поляризатор, 13 – система Лангendorфа.

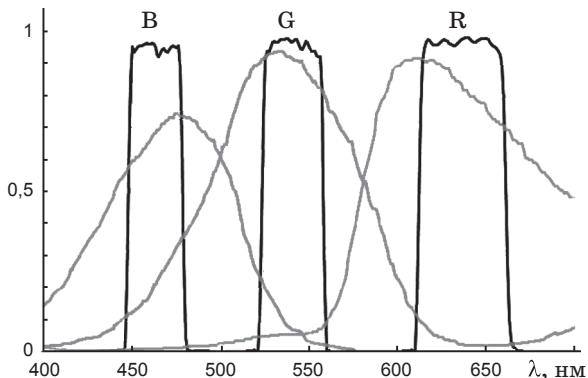


Рис. 2. Спектральные характеристики RGB-каналов телевизионной камеры и спектр пропускания трехполосного детекторного фильтра (DF) с центрами полос 464, 542 и 639 нм.

элементов разложения  $1280 \times 1024$ . Собственный шум камеры равен  $10 \text{ e}^-$ . Нелинейность характеристики свет-сигнал при перепадах освещенности в 100 раз не превышает 3,5%. В камере реализовано 11-битное аналогово-цифровое преобразование видеосигнала с возможностью выбора одной из четырех групп по 8 бит на пиксель, что позволяет обеспечить одновременно широкий динамический диапазон, требуемую скорость передачи и удобство

визуализации данных. В режиме ручной или автоматической регулировки чувствительности калибранный аналоговый усилитель позволяет проводить подстройку усиления в широких пределах (до 20 раз), а цифровая система управления камерой – устанавливать требуемое время накопления (от десятков микросекунд до десятков секунд). Спектральная чувствительность цветных каналов определяется спектрами пропускания мозаичных фильтров, спектральной чувствительностью кремниевого приемника, а также спектрами пропускания детекторного фильтра 4. В зависимости от модели и решаемой задачи он может располагаться до или после объектива 2 и быть ступенчатым длинноволновым, однополосным или многополосным с различными числом, формой и положением полос пропускания.

Детекторный фильтр оказывает существенное влияние на спектральную чувствительность системы регистрации. На рис. 2 показаны спектральные характеристики RGB-каналов мультиспектральной системы без учета воздействия такого фильтра. Там же, в качестве примера, приведен спектр пропускания трехполосного интерференционного фильтра с центрами полос 464, 542 и 639 нм, который устанавливается перед телевизионной камерой для по-

вышения спектрального разрешения системы и уменьшения перекрестной помехи. Видно, что при его применении спектральный отклик каналов в основном определяется кривой пропускания такого фильтра.

Особенность мозаичных RGB-фильтров состоит в том, что они хорошо пропускают излучение в ближней инфракрасной (ИК) области. Поэтому данная камера может наряду с каналами B (400–530 нм), G (490–580 нм), R (560–750 нм) проводить регистрацию и в ближней ИК области спектра (750–1000 нм). Поскольку в этом случае сигнал формируется одновременно во всех трех основных каналах, его можно распознать по “белесому” цвету элементов изображения. Таким образом, можно идентифицировать место расположения ИК меток на фоне изображений, полученных в свете АФ. Типичное время накопления сигналов в каждом кадре составляет 70–140 мс. Малое время экспозиции позволяет не охлаждать приемную матрицу, поскольку в большинстве случаев шумом темнового тока по сравнению с шумом фототока можно пренебречь. Сигналы из камеры 1 поступают в компьютер 6 по последовательной высокоскоростнойшине 5, работающей по протоколам IEEE-1394 или USB-2.0.

**Осветительная система.** Флуоресцентное свечение на 2–4 порядка слабее отраженного излучения. Для компенсации этих потерь источник света должен обладать высокой плотностью мощности возбуждающего излучения. Кроме того, он должен обеспечить равномерность освещения, не нагревать объект и не мешать работе других подсистем прибора. В зависимости от решаемой задачи оптимальными источниками оказываются светодиоды (СД), ртутные лампы и полупроводниковые лазеры. Поэтому в различных моделях освещение объекта осуществляется по-разному: в “FLUM-LED” – с помощью матрицы СД, а в “FLUM-LL” и “AnimaScope” – с помощью комбинированного лампово-лазерного осветителя с выводом излучения через жидкостный световод.

Примененный в модели “FLUM-LED” светодиодный осветитель 3 (рис. 1а) аналогичен по схеме и конструкции осветителю, используемому во флуоресцентном видеодерматоскопе “EcoSkin” [8]. В нем находятся два типа СД: 1) для возбуждения флуоресценции – 12 шт. с центральной длиной волны 408 нм и 2) для наблюдения в обычном (отраженном белом) свете – 4 шт. белых СД. Они расположены по кольцу вокруг объектива с различной прост-

ранственной ориентацией относительно его оси для получения большей равномерности освещения. СД-осветитель может обеспечить освещенность, необходимую для регистрации видеоизображений в свете АФ, только при небольших рабочих расстояниях. Кроме того, он работает на одной длине волны, что также ограничивает возможность его применения. Комбинированный лампово-лазерный осветитель 9, используемый в моделях “FLUM-LL” и “AnimaScope” (рис. 1б), лишен указанных недостатков. Источниками излучения в нем являются две лампы – ртутная и галогенная (последняя используется только для получения белого света), а также полупроводниковые лазеры 8 с волоконным выходом. Излучение от этих источников поступает на объект через жидкостный световод 10 диаметром 5 мм, где происходит их объединение на основе принципа углового суммирования, описанного в [13]. За ртутной лампой находится светофильтр, предназначенный для селекции возбуждающего излучения. Для этого в осветителе имеется набор интерференционных полосовых фильтров, перекрывающих диапазон 350–450 нм. Излучение от галогенной лампы, смешанное в определенной пропорции с излучением от ртутной лампы, используется для освещения объекта белым светом с регулируемой цветовой температурой. Регулировка осуществляется с помощью встроенного в “ртутный” канал аттенюатора. Изменение общей интенсивности производится посредством второго аттенюатора, расположенного в непосредственной близости от торца световода. Лазерное излучение, генерируемое диодным лазером 8, поступает в осветительный блок через волоконный кабель, торец которого проецируется на входное окно жидкостного световода 10 с помощью линзового коллектора 11. Жидкостный световод обладает высокой апертурой (около 0,6), что на больших дистанциях дает осветительное пятно избыточного размера по сравнению с полем зрения прибора. Кроме того, это пятно очень неравномерно. Для устранения этих недостатков применен коллектор 11, проецирующий торец световода в плоскость объекта. В результате формируются световое пятно с четко очерченными краями диаметром 30–50 мм (в зависимости от рабочей дистанции) с неравномерностью освещенности в пределах  $\pm 5\%$  по всему полю зрения прибора.

**Оптическая система** формирует в плоскости приемника изображение объекта с макси-

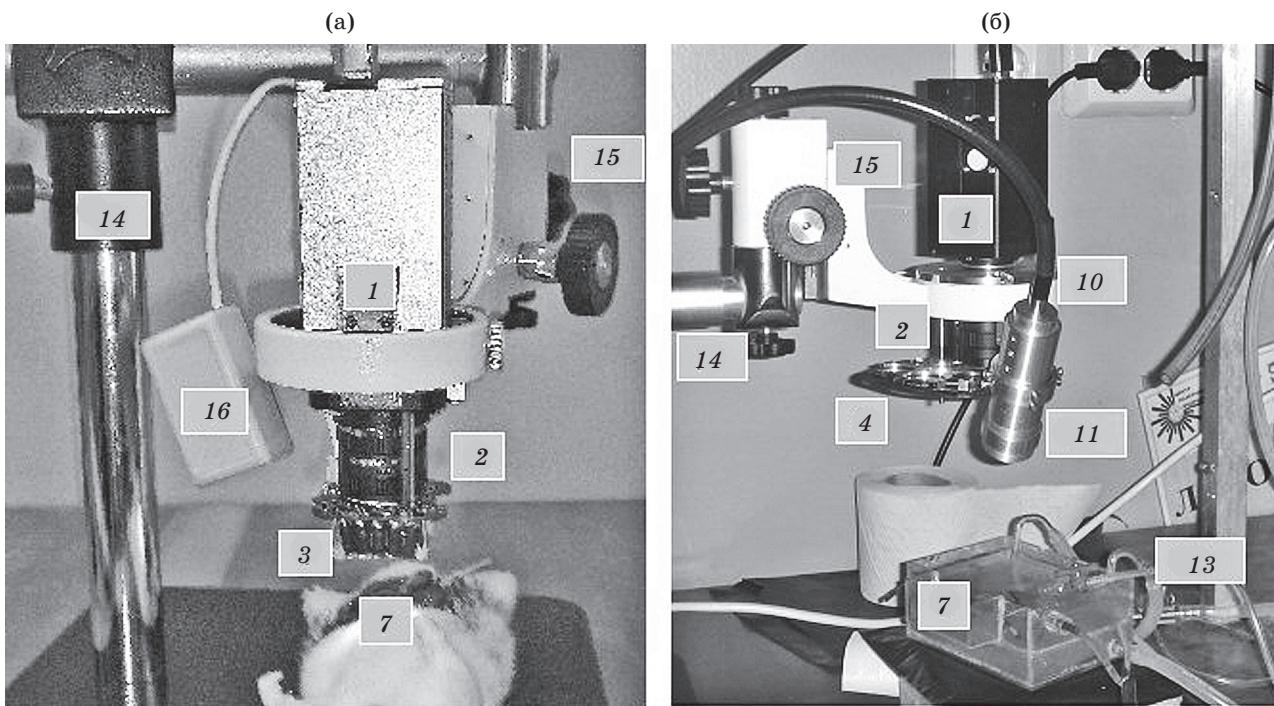


Рис. 3. Модели флуоресцентных органоскопов “FLUM-LED” (а) и “FLUM-LL” (б). 14 – штатив, 15 – устройство фокусировки, 16 – пульт управления; остальные обозначения такие, как на рис. 1.

мальными размерами 20–40 мм, обеспечивая рабочие расстояния 30–220 мм. Это вытекает из типичных условий проведения экспериментов. При этом малая яркость флуоресцентных изображений предъявляет повышенные требования к светосиле. Этим требованиям удовлетворяют объективы фирмы Computar (Япония) M1614-MP ( $f = 16$ ,  $F/1,4$ ), M5018-MP ( $f = 50$ ,  $F/1,8$ ) и M7528-MP ( $f = 75$ ,  $F/2,8$ ), которые установлены соответственно в моделях “FLUM-LED”, “FLUM-LL” и “AnimaScope”.

**Штативы.** В моделях “FLUM-LED” и “FLUM-LL” применен универсальный штатив 14 (рис. 3а) от стереомикроскопа. При этом детекторная головка, включающая в себя камеру, объектив, диск с фильтрами и коллектор, базируется на кольце держателя устройства фокусировки 15. Такой штатив позволяет легко изменять положение детекторной головки относительно объекта исследования, располагая ее как ниже, так и выше объекта, что важно при исследовании органов *ex vivo*. Универсальный штатив облегчает проведение экспериментов, требующих использования аппарата для контроля и обеспечения жизнедеятельности функционирующего органа. Пример подобного эксперимента на изолированном сердце крысы (с использова-

нием системы Лангендорфа, с помощью которой осуществляется перфузия сердца питательным раствором) показан на фотографии (рис. 3б).

Эксперименты с использованием универсального штатива могут выполняться только в затемненных помещениях. Для того чтобы их проводить в светлых помещениях, в модели “AnimaScope” применен специальный штатив, в котором предусмотрен кожух, изолирующий объект от попадания постороннего света. Животное или операционный материал вводится внутрь кожуха через откидывающуюся дверцу, расположенную на передней стенке. Для дистанционной фокусировки и перемещения объекта, а также автоматического изменения режимов работы прибора, предусмотрены моторизованные приводы соответствующих устройств. Все блоки и узлы модели “AnimaScope” установлены на тележке, что облегчает ее транспортировку и быстрое разворачивание при проведении эксперимента (рис. 4).

**Режимы работы.** Модель “FLUM-LED” может работать только в двух режимах: наблюдения в обычном свете и наблюдения в свете флуоресценции при возбуждении длиной волны 408 нм. Смена режимов осуществляется с помощью дистанционного пульта 16 (рис. 2а),



Рис. 4. Флуоресцентный органоскоп – модель “AnimaScope”.

формирующего команды переключения детекторного фильтра и изменения параметров чувствительности камеры.

Модели “FLUM-LL” и “AnimaScope” обеспечивают возможность работы в следующих восьми режимах: в обычном свете (White), в поляризованном свете (Pol), в свете флуоресценции при возбуждении одной или двумя длинами волн FL360, FL390, FL435, FL(390+635), FL(390+660), FL(360+808) (числа означают центральную длину волны возбуждающего излучения). Указанный набор режимов позволяет осуществлять широкий круг исследований, основанных на явлениях как собственной, так и вторичной флуоресценции. Он может быть легко изменен и расширен путем замены фильтров и лазеров. В модели “FLUM-LL” переключение режимов осуществляется вручную, а в модели “AnimaScope” - автоматически, под управлением компьютера.

**Программное обеспечение.** Работа прибора осуществляется под управлением программы “Matrix”. Она обеспечивает прием, регистрацию и обработку цифрового потока видеоизображений, автоматически устанавливает цветовой баланс, оптимальные параметры накопления и усиления телевизионной камеры,

производит запись и воспроизведение видеороликов, оценку яркости флуоресценции по каждому из цветных каналов как в реальном времени, так и на зарегистрированных изображениях. Измерения проводятся либо во всем кадре целиком, либо в отдельных его фрагментах, выделенных измерительной рамкой. Алгоритм измерения включает в себя гистограммный анализ распределения яркостей по каналам, а также предусматривает учет перекрестной помехи, вызванной перекрытием RGB-спектров, оценку средней яркости внутри выбранной зоны либо оценку наиболее ярких элементов изображения. Предварительная калибровка прибора по стандартным образцам позволяет количественно оценивать яркость флуоресценции. Сводка основных технических характеристик различных моделей флуоресцентного органоскопа представлена в таблице.

### Примеры исследований

С помощью описанной аппаратуры был проведен ряд экспериментальных исследований:

- оценивалась возможность автофлуоресцентной органоскопии при ишемическом повреждении почки [14], тонкой кишки [15], головного мозга [16], сердца *ex vivo* [17] (рис. 5);
- оценивались достоинства автофлуоресцентной визуализации сосудов микроциркуляторного русла [18];
- осуществлялся контроль методов направленной доставки лекарственных препаратов в ишемизированную мышечную ткань и миокард с помощью углеродных и кремнеземных наночастиц [19, 20];
- проводилось исследование ангиогенеза в ранние сроки после трансплантации опухолей ТС-1;
- оценивалась возможность выявления опухолей с использованием мультиспектральной флуоресцентной картины без применения препарата 5-ALA;
- отрабатывались методики флуоресцентной ангиографии, основанные на использовании различных агентов (копропорфирин, флуоресцеин натрия, индоциановый зеленый), а также методики фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизаторов 5-ALA и Chlorine e6.

Полученные результаты позволили рекомендовать применение флуоресцентной органоскопии в медицинской практике для интра-

Сводка основных технических характеристик различных моделей флуоресцентного органоскопа

Характеристики	Модель		
	FLUM-LED	FLUM-LL	“AnimaScope”
Источники возбуждения	Светодиоды	Ртутная лампа. Полупроводниковые лазеры	
Длина волны возбуждения, нм	408	360, 390, 435, 635, 660, 808	
Спектральный диапазон регистрации эмиссии, нм	400–700	400–1000	
Объективы	$f = 16$ мм, 1/1,4	$f = 50$ мм, 1/1,8	$f = 75$ мм, 1/2,8
Поле зрения (V×H), мм	16,6×20,8	15,4×19,3	20,8×26
Рабочее расстояние, мм	25	140	220
Разрешение на объекте, мкм/пикс	16,2	15	20
Максимальная частота кадров при отношении сигнал/шум $\geq 35$ дБ, Гц		14	
Типичное время экспозиции, мс	140	70–140	
Максимальная неравномерность освещенности, %	$\pm 15$	$\pm 5$	
Степень подавления возбуждающего излучения	$\geq 100$	50–200	
Режимы	White, FL408	White, Pol., FL360, FL390, FL435, FL(390+635), FL(390+660), FL(360+808)	
Штатив	Универсальный	Специальный	
Переключение режимов	Ручное	Автоматическое	
Требование к затемнению	Есть	Нет	
Расположение объекта	Произвольное	Нижнее	

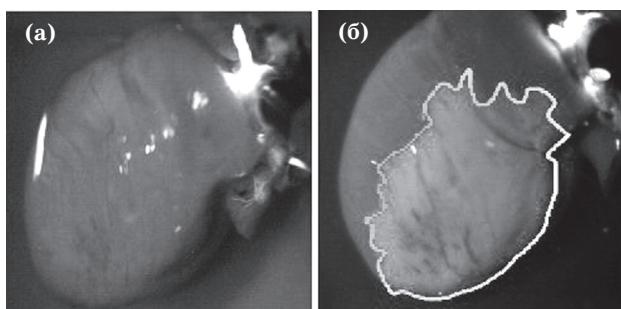


Рис. 5. Автофлуоресцентные изображения сердца при возбуждении излучением 360 нм до ишемии (а) и через 30 с после перевязки левой коронарной артерии (б). Повышенная флуоресценция в зоне регионарной ишемии обусловлена восстановленными пиридиннуклеотидами.

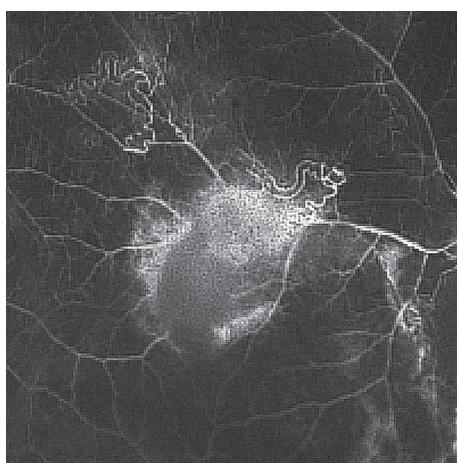


Рис. 6. Изображение опухоли на 4 день после прививки штамма ТС-1 под кожу мыши, полученное в режиме FL(390+635) нм путем по-пиксельного деления сигналов R-канала на сигналы В-канала (ratio imaging). Благодаря противоположному изменению красных и синих компонентов АФ в зоне опухолевого роста (повышению красных и падению синих) границы опухоли видны более четко. Хорошо также видна сосудистая сеть, представленная, в том числе, сосудами извилистой формы в результате ангиогенеза.

операционной оценки адекватности проводимой кардиоплегии, кровоснабжения кишечника при реконструктивных операциях на брюшном отделе аорты, перфузии миокарда в зоне реваскуляризации. Было показано, что картина опухолевого роста в режиме FL(390+635) (рис. 6) является информативной для обнаружения опухолей на ранних стадиях их развития, что позволило предложить новый метод диагностики, названный “non-ALA”.

## Заключение

Среди физических явлений, позволяющих проводить исследования живых систем на органном и организменном уровнях, важное место занимает флуоресценция. Регистрация мультиспектральных флуоресцентных изображений дает одновременно информацию о происходящих в них морфологических и биохимических изменениях. Использование в разработанном органоскопе в качестве основы мультиспектральной системы цветного телевизионного приемника позволяет создать недорогую, но эффективную аппаратуру, обеспечивающую возможность проведения широкого круга биомедицинских исследований. Область спектральной чувствительности приемника охватывает наиболее важную для подобных исследований видимую и ближнюю ИК области спектра. Из примененных в приборе источников возбуждающего излучения наибольшими возможностями, с точки зрения разнообразия длин волн, получения высокой освещенности и удобства освещения, обладает комбиниро-

ванный лампово-лазерный осветитель, а наиболее простым и компактным – светодиодный осветитель.

Возможность выбора оптимальных условий возбуждения, а также регистрация изображений с высоким отношением сигнал/шум позволяют обнаруживать небольшие изменения в спектре автофлуоресцентной эмиссии по соотношению сигналов в цветных каналах. При необходимости повысить спектральное разрешение используются дополнительные фильтры. Что касается конструкции прибора, то построение его на базе универсального штатива обеспечивает легкую адаптацию к разнообразным условиям эксперимента, а использование специального штатива позволяет работать в более комфортных условиях.

Различные варианты исполнения прибора хорошо показали себя в экспериментах на животных при исследовании нормальных и патологических процессов методами автофлуоресценции, флуоресцентной ангиографии, молекулярной визуализации, флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии.

Авторы выражают признательность сотрудникам и студентам Санкт-Петербургского государственного медицинского университета Т.Д. Власову, М.М. Галагудзе, М.Э. Колпаковой, О.В. Корнюшину, С.Г. Чефу, А.Е. Байса, А.А. Шманину, А.А. Коцловой, И.С. Ушкову за участие в биомедицинских исследованиях, а также профессору Ahn Woong-Sik из Католического университета в Республике Корея за предоставление условий для проведения экспериментов с опухолью ТС-1.

\* \* \* \* \*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Wagnieres G., Star W., Wilson B.C. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications // J. Photochem. Photobiology. 1998. V. 68. № 5. P. 603–632.
2. Mayevsky A., Rogatsky G.G. Mitochondrial function in vivo evaluated by NADH fluorescence: from animal models to human studies // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2007. V. 292. P. 615–640.
3. Richards-Kortum R., Sevick-Muraca E. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis // Annual Review of Physical Chemistry. 1996. V. 47. № 1. P. 555–606.
4. Andersson-Engels S., Klintederg C., Svanberg K., Svanberg S. In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics // Phys. Med. Biol. 1997. V. 42. P. 815–824.
5. Graves E.E., Weissleder R., Ntziachristos V. Fluorescence molecular imaging of small animal tumor models // Current Molecular Medicine. 2004. V. 4. № 4. P. 419–430.
6. Папаян Г.В., Канг Ук. Флуоресцентная эндоскопическая видеосистема // Оптический журнал. 2006. № 10. С. 94–99.
7. Benavides J.M., Chang S., Park S.Y., Richards-Kortum R., Mackinnon N., MacAulay C., Milbourne A., Malpica A., Follen M. Multispectral digital colposcopy for in vivo detection of cervical cancer // Optics express. 2003. V. 11. № 10. P. 1223–1236.
8. Kung Yk, Папаян Г.В., Bae Soo-Jin, Березин В.Б., Ким С. Флуоресцентный видеодерматоскоп // Оптический журнал. 2008. № 1. С. 32–38.

9. <http://www.cri- inc.com/products/maestro.asp>
10. <http://www.carestreamhealth.com/in-vivo-imaging-system-fx-pro.html>
11. Lund F., Jøgestrand T., Kölegård R. Computerized analysis of video fluorescein imaging (VFI) of the skin // *Clinical Physiology*. 2000. V. 20. № 5. P. 374–379.
12. De Grand A.M., Frangioni J.V. An Operational Near-Infrared Fluorescence Imaging System Prototype for Large Animal Surgery // *Technology in Cancer Research & Treatment*. 2003. V. 2. № 6. P. 1–10.
13. Kang Uk, Папаян Г.В., Макаров Д.А., Lee Seung Yup, Bae Soo-Jin. Осветитель для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики со световодным выводом излучения // *Оптический журнал*. 2008. № 12. С. 16–22.
14. Колпакова М.Э., Нутфуллина Г.М., Папаян Г.В., Петрищев Н.Н. Изменение аутофлуоресцентной картины почки при кратковременной ишемии у крыс // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2009. № 1. С. 53–56.
15. Власов Т.Д., Корнишин О.В., Папаян Г.В. Возможности аутофлуоресцентной органоскопии при ишемическом и реперфузионном повреждении тонкой кишки *in vitro* // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2009. № 2. С. 73–75.
16. Шмонин А.А., Байса А.Е., Мельникова Е.В., Вавилов В.Н., Власов Т.Д. Защитные эффекты раннего ишемического прекондиционирования при фокальной ишемии мозга крыс: роль коллатерального кровообращения // *Рос. физиол. журн. им. М.М. Сеченова*. 2011. Т. 97. С. 203–213.
17. Галагудза М.М., Папаян Г.В., Власов Т.Д., Усков И.С., Белозерцева А.В. Визуализация начальных проявлений ишемического повреждения сердца с помощью аутофлуоресцентной органоскопии // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2009. № 2. С. 76–78.
18. Петрищев Н.Н., Ким С.В., Березин В.Б., Папаян Г.В. Автофлуоресцентная визуализация сосудов микроциркуляторного русла // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2010. № 4. С. 75–77.
19. Galagudza M.M., Korolev D.V., Sonin D.L., Postnov V.N., Papayan G.V., Uskov I.S., Belozertseva A.V., Shlyakhto E.V. Targeted drug delivery into reversibly injured myocardium with silica nanoparticles: surface functionalization, natural biodistribution, and acute toxicity // *Int. J. Nanomedicine*. 2010. Apr. 7. V. 5. P. 231–237.
20. Galagudza M.M., Korolev D.V., Sonin D.L., Postnov V.N., Papayan G.V., Uskov I.S., Belozertseva A.V., Shlyakhto E.V. Targeted drug delivery to ischemic heart with use of nanoparticulate carriers. Concept, pitfalls and perspective // *Journal of Manufacturing Technology Management*. 2010. V. 21. № 8. P. 930–949.

---