

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-234-2-154-162>

## Методика количественного флуоресцентного анализа с применением индоцианина зеленого в ранней диагностике острой ишемии тонкой кишки: экспериментальное исследование\*

Шемилов Р.Р.<sup>1</sup>, Корнюшин О.В.<sup>1</sup>, Сонин Д.Л.<sup>1,2</sup>, Наседкин Д.Б.<sup>1</sup>, Данилова Е.С.<sup>1</sup>, Струй А.В.<sup>2</sup>, Журавский С.Г.<sup>1</sup>, Торопова Я.Г.<sup>1,3</sup>, Папаян Г.В.<sup>1,2</sup>, Данилов И.Н.<sup>1</sup>, Галагудза М.М.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, (ул. Аккуратова, д. 2, г. Санкт-Петербург, 197341, Россия)

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (ул. Льва Толстого, д. 6–8, Санкт-Петербург, 197022, Россия)

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А, Санкт-Петербург, 198095, Россия)

**Для цитирования:** Шемилов Р.Р., Корнюшин О.В., Сонин Д.Л., Наседкин Д.Б., Данилова Е.С., Струй А.В., Журавский С.Г., Торопова Я.Г., Папаян Г.В., Данилов И.Н., Галагудза М.М. Методика количественного флуоресцентного анализа с применением индоцианина зеленого в ранней диагностике острой ишемии тонкой кишки: экспериментальное исследование. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2025;(2): 154–162 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-234-2-154-162

✉ Для переписки:

**Корнюшин**

**Олег Викторович**

o.kornyushin

@gmail.com

**Шемилов Рамзан Русланович**, врач-хирург, ассистент кафедры факультетской хирургии с клиникой  
**Корнюшин Олег Викторович**, к.м.н., хирург, доцент кафедры факультетской хирургии с клиникой, старший научный сотрудник Института экспериментальной медицины  
**Сонин Дмитрий Леонидович**, к.м.н., с.н.с., заведующий НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда, доцент кафедры патологической физиологии института медицинского образования  
**Наседкин Дмитрий Борисович**; врач-хирург, онколог, ассистент кафедры факультетской хирургии с клиникой  
**Данилова Евгения Сергеевна**, к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии с клиникой  
**Струй Андрей Владимирович**, Младший научный сотрудник Центра лазерной медицины  
**Журавский Сергей Григорьевич**, д.м.н., в.н.с., руководитель НИГ экспериментальной патоморфологии  
**Торопова Яна Геннадьевна**, д.б.н., зам директора по науке Института экспериментальной медицины, профессор кафедры патологической физиологии  
**Папаян Гарри Вазгенович**, к.т.н.; с.н.с. Центра лазерной медицины; с.н.с. Института экспериментальной медицины  
**Данилов Иван Николаевич**, к.м.н.; врач-хирург, онколог, доцент, заведующий кафедрой факультетской хирургии с клиникой  
**Галагудза Михаил Михайлович**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор Института экспериментальной медицины; профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии; в.н.с.

### Резюме

\* Рис. 1 к статье –  
на цветной  
вклейке в журнал  
(стр. III–IV).

Интраоперационная оценка жизнеспособности тканей полых органов ЖКТ во время хирургических вмешательств при острой мезентериальной ишемии и целого ряда других хирургических операциях остаётся нерешённой проблемой. Существующие способы определения границ жизнеспособности тканей в условиях острого нарушения кровоснабжения характеризуются низкой степенью чувствительности, что усложняет выбор тактики хирургического лечения пациента. Целью работы была оценка эффективности методики интраоперационной флуоресцентной визуализации ишемических изменений стенки кишки с использованием нового устройства «MMC Score ICG», позволяющего использовать V/Q-ICG метод исследования для проведения количественной ангиографии с индоцианином зелёным (ICG), выполняемой в ближнем инфракрасном диапазоне. Крысы стока Вистар были разделены на четыре группы: 1) 15-минутная, 2) 30-минутная, 3) 45-минутная и 4) 60-минутная ишемия кишки, которым через 30 минут реперфузии проведены записи кривых изменений во времени яркости ICG-флуоресценции в зонах с ишемическим и реперфузионным повреждением ткани кишки в сравнении с контрольными участками здоровой кишки. Сопоставление выраженности изменений, указанных динамических кривых с типовыми морфологическими изменениями в образцах кишки крыс позволило определить прямую положительную связь между характером изменений ICG-флуоресценций и выраженностью морфологических изменений повреждённого участка кишечника.

EDN: EBVFGF



**Ключевые слова:** острая мезентериальная ишемия, инфаркт кишечника, флуоресценция в ближнем инфракрасном диапазоне, индоцианин зелёный

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



## Quantitative Fluorescence Assay Using Indocyanine Green in Early Diagnosis of Acute Small Intestinal Ischemia: An Experimental Study\*

R.R. Shemilov<sup>1</sup>, O.V. Korniyushin<sup>1</sup>, D.L. Sonin<sup>1,2</sup>, D.B. Nasedkin<sup>1</sup>, E.S. Danilova<sup>1</sup>, A.V. Strui<sup>2</sup>, S.G. Zhuravsky<sup>1</sup>, Ya.G. Toropova<sup>1,3</sup>, G.V. Papayan<sup>1,2</sup>, I.N. Danilov<sup>1</sup>, M.M. Galagudza<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, (2, str. Akkuratova, St. Petersburg, 197341, Russia)

<sup>2</sup> Pavlov First St. Petersburg State Medical University, (6/8, L'va Tolstogo St., St. Petersburg, 197022, Russia)

<sup>3</sup> Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, (31–33, Lit. A, Ivana Chernykh str., St. Petersburg, 198095, Russia)

**For citation:** Shemilov R.R., Korniyushin O.V., Sonin D.L., Nasedkin D.B., Danilova E.S., Strui A.V., Zhuravsky S.G., Toropova Ya.G., Papayan G.V., Danilov I.N., Galagudza M.M. Quantitative Fluorescence Assay Using Indocyanine Green in Early Diagnosis of Acute Small Intestinal Ischemia: An Experimental Study. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(2): 154–162. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-234-2-154-162

✉ *Corresponding author:*

**Oleg V. Korniyushin**  
o.korniyushin@gmail.com

**Ramzan R. Shemilov**, surgeon, assistant of the Department of Faculty Surgery with Clinic

**Oleg V. Korniyushin**, Cand. Sc. (Medicine), surgeon, assistant professor of Faculty Surgery with Clinic, Senior Researcher Institute of Experimental Medicine; *ORCID: 0000-0003-3454-4690, SPIN: 4525-2712*

**Dmitry L. Sonin**, Cand. Sc. (Medicine), MD, Head of the Division of Microcirculation and Myocardial Metabolism, Institute of Experimental Medicine, assistant professor at the Department of Pathophysiology; Senior researcher of Laboratory of Radio- and Optoelectronic Devices for Early Diagnostics of Living Systems Pathologies; *ORCID: 0000-0003-1705-7217, SPIN: 1710-8616*

**Dmitry B. Nasedkin**, MD, surgeon, assistant of the Department of Faculty Surgery with Clinic; *ORCID 0000-0003-4600-865X*

**Evgeniia S. Danilova**, Candidate of Medical Sciences, Assistant of the Department of Faculty Surgery with Clinic; *ORCID: 0009-0007-6696-7897*

**Andry V. Strui**, Junior Researcher of Laser Medicine Centre; *ORCID: 0000-0002-4874-0564, SPIN: 6094-6051*

**Sergey G. Juravsky**, Head of the Research of Experimental Pathomorphology; *SPIN: 5294-2096*

**Yana G. Toropova**, Dr. Biol. Sci., Deputy Director Institute of Experimental Medicine, professor at the Department of Pathophysiology; *ORCID: 0000-0003-1629-7868, SPIN: 2020-4213*

**Garry V. Papayan**, Cand. Sc. (Technology), Senior Researcher of Laser Medicine Centre; Senior Researcher Institute of Experimental Medicine; *ORCID: 0000-0002-6462-9022*

**Ivan N. Danilov**, MD, Cand. Sc. (Medicine), Associate Professor, Head of Department of Faculty Surgery with Clinic; *ORCID: 0000-0001-9540-7812, SPIN: 3267-5056*

**Mikhail M. Galagudza**, MD, Dr. Med. Sci., Professor and Corresponding Member of the Russian Academy of Science, Director of the Institute of Experimental Medicine; Professor at the Department of Pathophysiology; *ORCID: 0000-0001-5129-9944*

### Summary

\* **Figure 1** to the article is on the colored inset of the Journal (p. III–IV).

Intraoperative assessment of tissue viability of hollow organs of the gastrointestinal tract during surgical interventions for acute mesenteric ischemia and a number of other surgical operations remains an unsolved problem. Existing methods for determining tissue viability limits in conditions of acute circulatory failure are characterized by a low sensitivity, which determines the choice of surgical treatment tactics for the patient. The aim of the work was to assess the effectiveness of the intraoperative fluorescence visualization technique for ischemic changes in the intestinal wall using a new device “MMC Scope ICG”, which allows using the V / Q-ICG method of research for quantitative angiography with indocyanine green (ICG), performed in the near infrared range. Wistar rats were divided into four groups: 1) 15-minute, 2) 30-minute, 3) 45-minute and 4) 60-minute intestinal ischemia, which after 30 minutes of reperfusion underwent recordings of curves of changes in time of ICG fluorescence brightness in zones with ischemic and reperfusion damage of intestinal tissue in comparison with control areas of healthy intestine. The analysis of relationship between changes in the indicated dynamic curves of indocyanine green fluorescence intensity and typical morphological changes in rat intestinal samples shows direct (positive) relationship between the dynamics of the increase in indocyanine green fluorescence intensity and the degree of morphological changes in the damaged area of the intestine

**Keywords:** acute mesenteric ischemia, bowel infarction, near-infrared fluorescence, indocyanine green

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

## Введение

Актуальность внедрения ранних методов диагностики острой мезентериальной ишемии (ОМИ) обусловлена высокой летальностью, составляющей 67–97%, связанной с отсутствием патогномичных признаков и специфических маркеров в первые часы заболевания, а также ограниченной информативностью стандартных диагностических методов исследования [1, 2]. Причинами высокой летальности, являются несвоевременная диагностика, обусловленная сложностью оценки адекватности кровоснабжения и определения жизнеспособности тканей [3], особенно при неокклюзионных формах ОМИ [4].

В клинической практике общепринятый способ интраоперационной оценки жизнеспособности кишки основан на сочетании субъективных данных, а именно: визуальных и тактильных ощущениях хирурга, такие как цвет серозной оболочки, перистальтика, пульсация сосудов брыжейки [5]. Однако данный способ субъективен и недостаточно чувствителен для принятия хирургического решения. Лазерная доплерография, используемая для оценки микроциркуляции, нашла свое применение в экспериментальной хирургии, однако ввиду специфичности методики и сложности интерпретации полученных данных интраоперационно так и не прижилась в клинической практике.

Одним из перспективных способов исследования ишемических изменений кишки является флуоресцентная визуализация с использованием флуоресцентного красителя индоцианина зеленого (ICG), который после системного ввода вызывает свечение в ближнем инфракрасном диапазоне всех органов и тканей. После внутривенной инъекции основная часть ICG связывается с белками плазмы, метаболизируется в печени и выводится с желчью с периодом полувыведения 3–4 мин [6]. Преимуществом ICG-флуоресценции является большая глубина проникновения данного излучения в ткань по сравнению с излучением в видимой области спектра, что дает возможность произвести визуальную оценку перфузии периферической ткани в режиме реального времени [7]. При быстром введении ICG последовательно визуализирует артерии, капилляры и вены, что позволяет точно картировать васкуляризацию тканей.

На сегодняшний день клинические наблюдения с использованием ICG-флуоресценции при ОМИ немногочисленны и носят преимущественно описательный характер [8–11], являясь основой для единичных систематических обзоров, которые свидетельствуют об актуальности использования ICG-флуоресценции при ОМИ [12]. Так по данным Fransvea P. и соавт. [13] в 120 случаях, с использованием ICG при ОМИ привело к изменению хирургического решения у 44 пациентов (36,6%).

Наибольшее количество клинических исследований в абдоминальной хирургии посвящено оценке жизнеспособности тканей перед наложением анастомоза. В настоящее время существует несколько систем визуализации ICG, доступных для клинических исследований [14]. Так в исследовании

с результатом данных 402 пациентов, перенесших плановые колоректальные операции, было показано, что оценка тканей в месте анастомозов с использованием ICG-флуоресценции позволяет снизить частоту несостоятельности ручных анастомозов на 84% [15].

Данный метод ICG-флуоресценции, основан на принципе пропорциональности сигнала флуоресценции к перфузии тканей и получил название флуоресцентной ангиографии (V-ICG) [16].

По данным ряда исследований применение V-ICG, позволяет снизить частоту несостоятельности анастомоза при вмешательствах на желудке и пищеводе [17–20].

Однако, объективность данных метаанализов ставится под сомнение в виду непосредственной субъективности оценки результата, гетерогенности данных и, преимущественно, ретроспективного дизайна исследований [21], что явилось предпосылкой разработки метода количественной оценки ICG-флуоресцентной визуализации.

V-ICG имеет качественный характер, не позволяющий количественно оценить перфузию органов, что затрудняет определение оптимального порога жизнеспособности кишечника и вынуждает, увеличивать объем резекции со всеми сомнительными участками сниженной флуоресценцией [22], что может быть критичным при обширных повреждениях. При этом ишемические изменения могут носить прерывистый и сегментарный характер [23] также затрудняющий оценку изменений со стороны серозной оболочки.

Поскольку оценка жизнеспособности кишечника является критической точкой хирургического лечения необходимы объективные инструменты для оценки последней, с целью объективизации был разработан ряд методов количественной оценки ICG-флуоресценции (Q-ICG) [24, 25, 26], позволяющих получать объективные значения перфузии. При Q-ICG флуоресцентный сигнал обрабатывается программным обеспечением, генерирующим кривую флуоресценции-времени, дающих возможность рассчитать ряд различных параметров Q-ICG, отражающих перфузию тканей [16].

Параметры Q-ICG подразделяются на две категории: интенсивности, основанные на абсолютных измерениях флуоресценции и притока, которые определяются во времени отдельных событий перфузии [27].

В ряде экспериментальных исследований производилась попытка сопоставления параметров Q-ICG со общепринятыми показателями микроперфузии, такими как локальный уровень лактата [28] или радиоактивно меченые микросферы. Так в эксперименте на свиньях была зафиксирована корреляция между региональным кровотоком радиактивных микросфер и наклоном кривых флуоресценции [16].

В плане прогнозирования жизнеспособности тонкой кишки в условиях ишемии представляет интерес работа Matsui A и соавт [29]. В эксперименте на крысах воспроизводилась модель

странгуляционной ишемии тонкой кишки продолжительностью 0,5, 1, 2, 4 часа. Основой количественных характеристик являлся принцип сравнения ишемизированных участков с контрольными областями животного – отношение контрастности к фону (Contrast-to-background ratio, CBR). CBR определялась как (средняя интенсивность флуоресценции ROI – средняя интенсивность флуоресценции фона) / (средняя интенсивность флуоресценции фона). Несмотря на высокую чувствительность интраоперационной Q-ICG (93%–100%) специфичность составила (47%–70%). Уровень точности рассматриваемых количественных метрик ICG-флуоресценции прогностически уступал качественным характеристикам, таким как визуальный дефект «заполнения» флуоресценции NIR, отсутствие пика артериального притока и недостаточность артериального рисунка. Таким образом, прогнозирование выживаемости на основании предложенных количественных данных оставалось ненадежным.

Представляет интерес исследование [30], в котором на свиньях была воспроизведена ишемия

сегмента тонкой кишки на 3, 6 и 10 часов, и 60-минутной реперфузией, с клинической макроскопической оценкой клиницистами и морфологическим исследованием. Производилось определение пиковой интенсивности флуоресценции с вычетом фона (BSFI) и наклон интенсивности флуоресценции (SFI). Полученные данные ICG-FI подтвердили значительную разницу в повреждении тканей при сравнении 6 и 10 часов ишемии в корреляции с клинической интерпретацией и гистологическими данными. Однако оценка повреждения тканей через 6 часов ишемии все еще сложна, в связи с увеличением интенсивности сигнала, обусловленным клеточным повреждением, вызывающим капиллярную задержку ICG, при которой поврежденная ткань может быть неверно оценена, как адекватно кровоснабжаемая только по визуальной оценке.

**Цель исследования** – определение эффективности оценки жизнеспособности тонкой кишки в условиях ишемическо-реперфузионного повреждения тонкой кишки крысы с помощью методики количественного ICG-флуоресцентного анализа.

## Материалы и методы

Исследование было выполнено на 21 самце крысы Wistar SPF-категории (возраст 18–20 недель, питомник «Пушино») в соответствии с протоколом, утвержденным Комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных ФГБУ «НМИЦ им В.А. Алмазова» Минздрава России. Животные распределялись по группам случайным образом с помощью генератора случайных чисел. В различных экспериментальных группах животные подвергались различной по длительности ишемии тонкой кишки, а именно: 15, 30, 45, 60 минут с последующей реперфузией 30 минут.

Оперативное вмешательство выполнялось в условиях мониторинга ЭКГ. В условиях ингаляционной анестезии (изофлюран) выполнялась срединная лапаротомия. После предварительной подготовки стандартных сегментов подвздошной кишки (5 см от илеоцекального угла, протяженностью 5 см, без кишечного содержимого) производилась ишемия путем клипирования аркадных сосудов (артерия и вена), а также проксимального и дистального краев ишемизируемого сегмента для исключения интрамурального кровотока. Данная модель в наибольшей степени соответствует ишемическим изменениям в стенке кишки при странгуляции и обеспечивает гомогенность изменений в исследуемом сегменте кишки. Для контроля параллельно располагался сегмент тонкой кишки, расположенный проксимальней исследуемому. Под исследуемые петли кишки подкладывалась пленка черного цвета.

Оценка ICG-флуоресценции производилась после введения 1 мл раствора ICG (0,5 мг/кг) через 30 минут от начала реперфузии, с помощью недавно созданной отечественной системы для флуоресцентной диагностики в ближнем инфракрасном диапазоне «MMC Score ICG». Она обеспечивает

при рабочем расстоянии 400 мм (контролируется с помощью двух пилотных лазеров) поле зрения 160 × 160 мм, которое позволяет визуализировать лабораторное животное целиком. Для детального исследования операционного поля используется цифровой зум, который уменьшает его до 3-х раз. Вначале исследования проводилась калибровка системы по входящему в ее состав контрольному образцу, интенсивность флуоресценции которого принималась за 10000 у.е. Измерение динамики флуоресценции проводилось в реальном времени, одновременно в 8-ми точках объекта, определяемых путем ручного указания мест интереса. Кривые интенсивности флуоресценции в этих точках в реальном времени выводились на экран и сохранялись в виде графических файлов. Таким образом производилась регистрация одновременно видео изображения и количественных характеристик ICG-флуоресценции – V/Q-ICG (рис. 1 А, Б).

При завершении эксперимента для гистологического исследования производили забор подвергнувшегося ишемии сегмента кишки. Ткани фиксировались формалином, заливались в парафин, срезы окрашивались гематоксилином-эозином по стандартным методикам. Оценка выраженности морфологических изменений производилась по модифицированной классификации Chiu [31].

- 0 степень – нормальная структура слизистой оболочки.
- I степень – энтероциты ворсинчатого эпителия в состоянии дистрофии: цитоплазма отечна, ядра округлые, увеличенные, с просветленной кариоплазмой. Слой энтероцитов при этом сохранен. Гиперемия, полнокровие сосудов.
- II степень – десквамация кишечных эпителиоцитов ворсин в просвет кишки; собственная пластинка сохранна, но отечна, инфильтрирована лимфоцитарно-макрофагальными элементами;

- кишечные крипты сохранены, М и дендритные клетки в состоянии дистрофии (отечны, ядра увеличены). Слой энтероцитов при этом сохранен. Гиперемия, полнокровие сосудов.
- III степень – деструкция собственной пластинки, местами деструкция крипт; мышечный слой

- сохранен. Кровоизлияния в зоне собственной пластинки.
- IV степень – деструкция части или всей зоны крипт; отек, инфильтрация мышечной оболочки. Кровоизлияния в зоне собственной пластинки.

**Статистический анализ**

Для описания признаков с отличным от нормального распределения использовалась медиана и 25-й, и 75-й процентиля [Me (25; 75%)]. Для оценки достоверности различий до и после воздействия применялся критерий Т (парный критерий Вилкоксона). Для оценки достоверности различий между двумя несопряжёнными совокупностями применялся

критерий U (Вилкоксона-Манна-Уитни). Для оценки взаимосвязи  $I_{\Delta}$  венозной фазы со степенью гистологических изменений во всех наблюдениях проводили исследование корреляции с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программы GraphPad Prizm 6.

**Результаты и их обсуждение**

На рис. 1 А и 1 Б отражена динамика измерения интенсивности ICG-флуоресценции. После начала трёхминутной видеозаписи болюсно вводился раствор ICG и регистрировалась его флуоресценция, во всех отмеченных точках и одновременно строились графики средней интенсивности ICG-флуоресценции во времени. На рис. 1 В показан типичный график интенсивности флуоресценции в здоровой петле кишечника в точке а. В этой точке, а также в других зонах нормальной перфузии (1, 5, b, и c) через 5 секунд после ввода препарата начинался резкий рост сигнала флуоресценции, который через 3–4 секунды доходил до максимума (максимальная интенсивность флуоресценции,  $I_{P_{max}}$ ). После этого в течение 3–6 секунд наблюдался быстрый спад интенсивности флуоресценции на 22% [16; 34] от  $I_{P_{max}}$  (нисходящая сторона артериального пика от  $I_{P_{max}}$  до  $I_{15}$ ). Затем в течение 2 мин наблюдения происходило плавное снижение интенсивности флуоресценции до  $I_{120}$ , на 33% [22; 44] от уровня  $I_{15}$ . После коротких периодов ишемии (15 минут, рис. 1 Е) кривая флуоресценции мало изменялась по сравнению с нормой, но с увеличением длительности периода ишемии (30 минут, рис. 1 Ж) кривая флуоресценции в постишемических зонах становилась более полой в венозную

фазу или с возрастающей интенсивностью флуоресценции к концу двух минут наблюдения (рис. 1 З, 1 Г и 1 Д). Наибольший рост интенсивности флуоресценции в венозную фазу наблюдался после 60-минутной ишемии, свидетельствующий о нарушении выведения и задержке ICG, то есть  $I_{15} < I_{120}$  (рис. 2). Кроме этого, у двух крыс в группе с 60-минутной ишемией наблюдалось заметное уменьшение амплитуды нисходящей стороны артериального пика ( $I_{P_{max}} - I_{15}$ ) до 7%-14% от  $I_{P_{max}}$ , а у одной крысы из этой группы артериальный пик отсутствовал.

Таким образом, на рис. 1 В-1 З показаны две тенденции, обнаруженные при увеличении времени ишемии: 1) уменьшение выраженности артериального пика ( $I_{P_{max}} - I_{15}$ ), 2) нарушение выведения ICG с его задержкой в тканях стенки кишки ( $I_{15} < I_{120}$ ).

Количественный анализ задержки выведения ICG из повреждённой стенки кишки в венозную фазу проведён путём вычисления разницы интенсивности флуоресценции вначале венозной фазы ( $I_{15}$ ) и в конечной точке наблюдения ( $I_{120}$ ), которая выражалась формулой  $I_{\Delta} = I_{15} - I_{120}$ . Количественная оценка выраженности постишемического нарушения выведения ICG по величине параметра  $I_{\Delta}$  показан на рис. 2. Проведено

Рисунок 2.

Выведение ИЦЗ ( $I_{\Delta}$ ) в стенке кишки при различных уровнях тяжести ишемического и реперфузионного повреждения.

Примечание:

$I_{\Delta} = I_{15} - I_{120}$ . В норме  $I_{\Delta}$  имеет положительное значение, а при накоплении ИЦЗ – отрицательное. Данные представлены в виде медианы и размаха. \* –  $p < 0,05$  при сравнении с соответствующей точкой в контрольной петле кишки (критерий Вилкоксона).

Figure 2.

ICG clearance ( $I_{\Delta}$ ) in the intestinal wall at different levels of ischemic and reperfusion injury severity.

Note:

$I_{\Delta} = I_{15} - I_{120}$ . Normally,  $I_{\Delta}$  has a positive value, and with accumulation of ICG, it is negative. Data are presented as median and range. \* –  $p < 0.05$  when compared with the corresponding point in the control intestinal loop (Wilcoxon test).

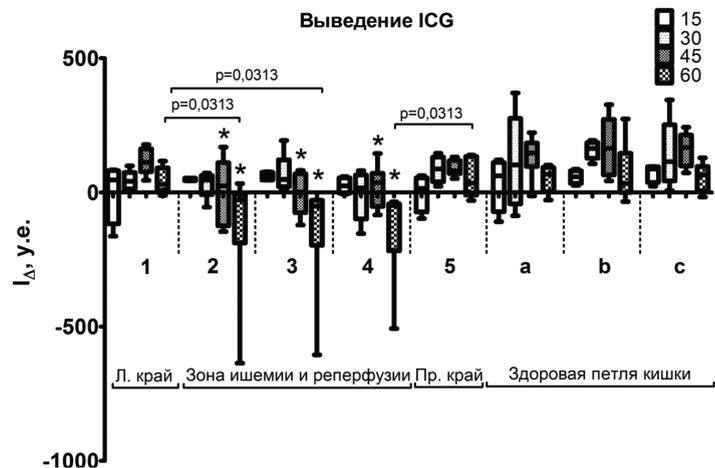


Таблица 1.

Соотношение динамики выведения ИЦЗ в стенке кишки и степени гистологических изменений при различных уровнях тяжести ишемического и реперфузионно-повреждения.

Table 1.

The relationship between the dynamics of ICG excretion into the intestinal wall and the degree of histological changes at different levels of severity of ischemic and reperfusion injury.

Группа	Артериальный пик в % от $I_{p_{max}}$				Выведение ИЦЗ ( $I_{\Delta} = I_{15} - I_{120}$ , у.е.)				Степени гистологических изменений в зонах ишемии/реперф.
	№	ИРП	№	Контроль	№	ИРП	№	Контроль	
Ишемия 15 мин	2	23 [3; 38]	a	42 [26; 45]	2	50 [44; 53]	a	62 [-72; 112]	0 степень – 75%, I степень – 25%
	3	16 [7; 33]	b	29 [13; 46]	3	59 [47; 75]	b	59 [33; 81]	
	4	16 [12; 25]	c	31 [6; 45]	4	25 [-3; 55]	c	87 [38; 96]	
Ишемия 30 мин	2	20 [6; 29]	a	17 [15; 25]	2	46 [-8; 63]	a	103 [-43; 276]	I степень – 20%, II степень – 40%, III степень – 40%
	3	9 [7; 24]	b	21 [11; 27]	3	48 [22; 122]	b	164 [127; 186]	
	4	12 [9; 52]	c	14 [6; 20]	4	17 [-99; 65]	c	115 [43; 252]	
Ишемия 45 мин	2	23 [20; 27]	a	24 [18; 31]	2	24 [-124; 111]	a	147 [97; 184]	II степень – 15%, III степень – 15%, IV степень – 70%
	3	20 [5; 26]	b	24 [14; 36]	3	1 [-75; 69]*	b	164 [66; 272]	
	4	24 [15; 32]	c	23 [18; 25]	4	37 [-53; 72]*	c	167 [99; 215]	
Ишемия 60 мин	2	16 [7; 33] *	a	29 [13; 46]	2	-28 [188; -5]*	a	68 [3; 93]	IV степень – 100%

**Примечание:**

Выраженность артериального пика (%) рассчитывалась по формуле  $(I_{p_{max}} - I_{15}) / I_{p_{max}} * 100$ .  $I_{\Delta}$  венозной фазы равна разнице  $I_{15}$  и  $I_{120}$ , которая в норме имеет положительное значение, а при накоплении ИЦЗ – отрицательное. № – название точки в поврежденном участке кишки (2, 3 и 4) и в контрольной петле кишки (a, b и c). Данные представлены в виде медианы и квартилей (Me [25%; 75%]). \* –  $p < 0,05$  при сравнении с соответствующей точкой в контрольной петле кишки (критерий Вилкоксона).

**Note:**

The arterial peak intensity (%) was calculated using the formula  $(I_{p_{max}} - I_{15}) / I_{p_{max}} * 100$ .  $I_{\Delta}$  of the venous phase is equal to the difference between  $I_{15}$  and  $I_{120}$ , which is normally positive and negative with ICG accumulation. No. is the name of the point in the damaged section of the intestine (2, 3, and 4) and in the control intestinal loop (a, b, and c). Data are presented as median and quartiles (Me [25%; 75%]). \* –  $p < 0.05$  when compared with the corresponding point in the control intestinal loop (Wilcoxon test).

Рисунок 3.

Оценка наличия линейной связи между величиной параметра  $I_{\Delta}$  венозной фазы, отражающего задержку выведения ИЦГ, и степенью гистологических изменений во всех наблюдениях.

Примечание:

Параметр  $I_{\Delta}$  равен разнице  $I_{15}$  и  $I_{120}$ . Средняя  $I_{\Delta}$  рассчитывалась по среднему значению  $I_{\Delta}$  в точках 2, 3 и 4 от каждого опыта. При наличии в участке кишки разных степеней тяжести всему участку давалась максимальная степень тяжести из выявленных. Коэффициент корреляции Спирмена:  $r=0,008$ .

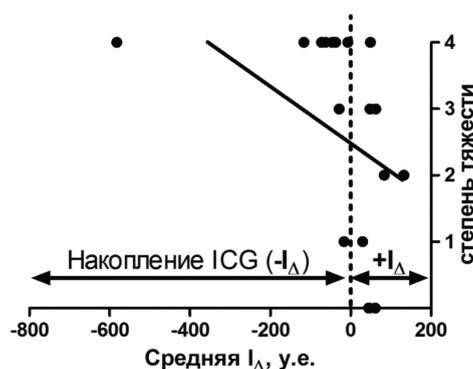
Figure 3.

Assessment of the presence of a linear relationship between the value of the  $I_{\Delta}$  parameter of the venous phase, reflecting the delay in the elimination of ICG, and the degree of histological changes in all observations.

Note:

The  $I_{\Delta}$  parameter is equal to the difference between  $I_{15}$  and  $I_{120}$ . The average  $I_{\Delta}$  was calculated based on the average  $I_{\Delta}$  value at points 2, 3, and 4 from each experiment. If there were different degrees of severity in a section of the intestine, the entire section was given the maximum severity of those identified. Spearman's correlation coefficient:  $p=0.008$ .

**Корреляция между  $I_{\Delta}$  и тяжестью морфологических изменений**



сравнение  $I_{\Delta}$  венозной фазы между здоровыми участками кишки (1, 5, a, b и c) и точками в поврежденном участке кишки (2, 3 и 4), которое показало значимое накопление ИЦГ после 45- и 60-минутной ишемии.

Сопоставление выраженности изменений кри-вых интенсивности ИЦГ-флуоресценции с гистологическими изменениями в образцах кишки показало прямую зависимость интенсивности ИЦГ-флуоресценции в конце периода наблюдения ( $T_{120}$ ), свидетельствующее о нарушении выведения

ИЦГ из сосудов поврежденного участка кишечника, от степени тяжести морфологических изменений (табл. 1, рис. 3).

Таким образом, прогностическую значимость имеет уменьшение или исчезновение артериально-го пика и задержка ИЦГ в сосудах и ткани стенки кишки ( $I_{15} < I_{120}$ ), которая свидетельствует о замедлении скорости кровотока в сосудах с необратимым повреждением их стенок и появлением повышенной сосудистой проницаемости, характерной для участков некроза.

**Обсуждение**

Целью хирургического вмешательства при ОМИ является оценка состояния кишечника, восстановление нарушенного кровотока, резекция необратимо измененных участков кишки, с сохранением жизне-

способных. В настоящее время принятие решений основано на клинических данных и носит субъективный характер, что повышает риски обширных резекций кишечника и несостоятельности анастомоза [32].

Наше исследование было сосредоточено на использовании V/Q-ICG с целью определения воспроизводимых показателей, коррелирующих с морфологическими изменениями при разной степени ишемического и реперфузионного повреждения, на основании которых можно было бы оценивать жизнеспособность тонкой кишки.

В построенных нами графиках интенсивности ICG-флуоресценции можно выделить следующие закономерности. Артериальный пик, длительностью 3–5 секунд, характеризующий наполнение артериального и прекапиллярного русла стенки кишки. Высота пика была максимальной в норме и снижалась по мере увеличения продолжительности ишемии (60 минут). По данным Мацуи [30], артериальный пик не фиксировался в случаях с большей продолжительностью ишемии.

После артериального пика отмечался период выведения ICG, который по нашим данным, являлся ключевым признаком, определяющим выраженность повреждения тканей при ишемическом и реперфузионном повреждении. В норме, на графике, характер данной кривой представляет собой нисходящую кривую (венозная фаза). При увеличении длительности ишемии, соответственно выраженности повреждения стенки кишки, отмечался эффект накопления ICG в тканях, выраженность интенсивности свечения которого нарастала по мере увеличения времени ишемии.

Механизм задержки выведения ICG обусловлен нарушением тонуса и проницаемости микроциркуляторного русла стенки кишки, что связано процессами, формирующими феномен невосстановления кровотока (“no reflow”).

Горизонтальная и нарастающая форма кривой “венозной фазы” соответствовала морфологическим изменениям с деструкцией собственной пластинки стенки кишки (3 степень и более), что нами было верифицировано в качестве необратимых изменений.

## Выводы

Согласно полученным данным нами были зафиксированы воспроизводимые показатели, изменяющиеся при увеличении продолжительности ишемии, а именно: уменьшение выраженности артериального пика ( $I_{p_{max}} - I_{15}$ ) и нарушение выведения ICG с его задержкой в тканях стенки кишки ( $I_{15} < I_{120}$ ).

В работе отработана методика интраоперационной флуоресцентной визуализации ишемических изменений стенки кишки с использованием нового устройства «ММС score-ICG». Построенные с использованием аппарата графики интенсивности ICG-флуоресценции позволили провести оценку жизнеспособности участка кишки по характеру

Представленные результаты совпадают с ранее полученными данными [29], как по характеру кривой ICG в норме, так и ее характерным изменениям. Так же получены сопоставимые количественные параметры ICG-флуоресценции и морфологические данные, при длительности ишемии 60 минут, зафиксированы соответствующие необратимым изменениям. Однако, в отличие от более ранних исследований мы ориентировались не только на величину артериального пика, но и на показатели фазы накопления ICG, которые коррелировали с необратимыми морфологическими изменениями на более ранних сроках.

Таким образом, в результате эксперимента на крысах с моделированием ИР тонкой кишки отмечены морфо-функциональные параллели между гистологическими изменениями и динамикой выведения красителя. Характер кривой выведения ICG мы предлагаем рассматривать прогностическим маркером жизнеспособности кишечной стенки после восстановления кровоснабжения. Наше исследование имеет ограничения. В эксперименте максимальная длительность ишемии была 60 мин, т.к. по литературным данным длительность ишемии более 60 минут приводит к нарушению артериальной фазы. Также время оценки состояния кишки спустя 30 минут после ишемии возможно тоже недостаточно для полного реперфузионного повреждения. Нами не проведены исследования по выживаемости при разных сроках ишемии кишки.

Для подтверждения наших выводов потребуются расширить эксперимент с проведением ишемии большей длительности и наблюдения на более продолжительном периоде дожития. Эти данные дадут представления о состоянии среднего (мышечного) слоя при ишемии и реперфузии, что позволит однозначно говорить о прогнозе жизнеспособности для кишечной стенки.

кривой на графике. Основным диагностическим расчётным параметром является  $I_{\Delta}$  венозной фазы, отражающий динамику выведения ICG из сосудов стенки кишки, имеющий линейную зависимость от степени гистологических изменений. В норме или при начальной степени повреждения кишки наблюдается постепенное уменьшение интенсивности флуоресценции стенки кишки в течение 2 минут наблюдения, а постепенное усиление интенсивности флуоресценции стенки кишки свидетельствует о необратимом повреждении стенки кишки. Таким способом хирург может определить границу между жизнеспособной и необратимо повреждённой тканью.

**Финансирование**

Работа выполнена в рамках приоритетного государственного задания ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России «Разработка нового устройства для интраоперационной флуоресцентной визуализации перфузии полых органов желудочно-кишечного тракта». № ЕГИСУ 125031904093-9.

**Funding**

The work was carried out within the framework of the priority state task of the Federal State Budgetary Institution «V.A. Almazov National Medical Research Center» of the Ministry of Health of the Russian Federation «Development of a new device for intraoperative fluorescence visualization of perfusion of hollow organs of the gastrointestinal tract». No 125031904093-9.

**Литература | References**

- Acosta S. Mesenteric ischemia. *Curr Opin Crit Care*. 2015;21(2):171–178. doi: 10.1097/MCC.000000000000189.
- Clair D.G., Beach J.M. Mesenteric Ischemia. *N Engl J Med*. 2016;10;374(10):959–68. doi: 10.1056/NEJMra1503884.
- Bala M., Catena F., Kashuk J. et al. Acute mesenteric ischemia: updated guidelines of the World Society of Emergency Surgery. *World J Emerg Surg*. 2022;19;17(1):54. doi: 10.1186/s13017-022-00443-x.
- Yu H., Kirkpatrick I.D.C. An Update on Acute Mesenteric Ischemia. *Can Assoc Radiol J*. 2023;74(1):160–171. doi: 10.1177/08465371221094280.
- Urbanavičius L., Pattyn P., de Putte D.V., Venskutonis D. How to assess intestinal viability during surgery: a review of techniques. *World J Gastrointest Surg*. 2011; May 27;3(5):59–69. doi: 10.4240/wjgs.v3.i5.59.
- Desmettre T., Devoisselle J.M., Morton S. Fluorescence Properties and Metabolic Features of Indocyanine Green (ICG) as Related to Angiography. *Survey of ophthalmology*. 2000;45(1):15–27 doi: 10.1016/S0039-6257(00)00123-5.
- Rubben A., Eren S., Krein R. et al. Infrared videoangiography of the skin with indocyanine green – rat random cutaneous flap model and results in man. *Microvasc Res*. 1994;47(2):240–251. doi: 10.1006/mvre.1994.1018.
- Mizukami A., Furuya S., Takiguchi K. et al. Intraoperative indocyanine green fluorescence for precise resection of nonocclusive mesenteric ischemia: a case report and diagnostic considerations based on pathology findings. *Surg Case Rep*. 2024;4;10(1):230. doi: 10.1186/s40792-024-02024-3.
- Miyashita R., Kitazawa M., Tokumaru S. Importance of intraoperative indocyanine green imaging in the management of non-occlusive mesenteric ischemia: a case report. *Surg Case Rep*. 2023;27;9(1):31. doi: 10.1186/s40792-023-01614-x.
- Nakagawa Y., Kobayashi K., Kuwabara S. et al. Use of indocyanine green fluorescence imaging to determine the area of bowel resection in non-occlusive mesenteric ischemia: A case report. *Int J Surg Case Rep*. 2018;51:352–357. doi: 10.1016/j.ijscr.2018.09.024.
- Irie T., Matsutani T., Hagiwara N., Nomura T. Successful treatment of non-occlusive mesenteric ischemia with indocyanine green fluorescence and open-abdomen management. *Clin J Gastroenterol*. 2017;10(6):514–518. doi: 10.1007/s12328-017-0779-3.
- Khalaf M.H., Abdelrahman H., El-Menyar A. et al. Utility of indocyanine green fluorescent dye in emergency general surgery: a review of the contemporary literature. *Front Surg*. 2024;14;11:1345831. doi: 10.3389/fsurg.2024.1345831.
- Fransvea P., Fico V., Puccioni C. et al. Application of fluorescence-guided surgery in the acute care setting: a systematic literature review. *Langenbecks Arch Surg*. 2023;25;408(1):375. doi: 10.1007/s00423-023-03109-7.
- Gioux S., Choi H.S., Frangioni J.V. Image-guided surgery using invisible near-infrared light: fundamentals of clinical translation. *Mol Imaging*. 2010;9(5):237–55. PMID: 20868625.
- Kudszus S., Roesel C., Schachtrupp A., Höer J.J. Intraoperative laser fluorescence angiography in colorectal surgery: a noninvasive analysis to reduce the rate of anastomotic leakage. *Langenbecks Arch Surg*. 2010;395(8):1025–30. doi: 10.1007/s00423-010-0699-x.
- Nerup N., Preisler L., Svendsen M.B. et al. Quantification of fluorescence angiography in a porcine model. *Langenbeck's Arch Surg* 2017;402(4):655–662. doi: 10.1007/s00423-016-1531-z.
- Degett T.H., Andersen H.S., Gogenur I. Indocyanine green fluorescence angiography for intraoperative assessment of gastrointestinal anastomotic perfusion: a systematic review of clinical trials. *Langenbeck's Arch Surg*. 2016;401(6):767–75. doi: 10.1007/s00423-016-1400-9.
- Jansen S.M., de Bruin D.M., van Berge Henegouwen M.I. et al. Optical techniques for perfusion monitoring of the gastric tube after esophagectomy: a review of technologies and thresholds. *Dis Esophagus*. 2018;1;31(6). doi: 10.1093/dote/dox161.
- Ladak F., Dang J.T., Switzer N. et al. Indocyanine green for the prevention of anastomotic leaks following esophagectomy: a meta-analysis. *Surg Endo*. 2019;33(2):384–394. doi: 10.1007/s00464-018-6503-7.
- Slooter M.D., Eshuis W.J., Cuesta M.A. et al. Fluorescent imaging using indocyanine green during esophagectomy to prevent surgical morbidity: a systematic review and meta-analysis. *J Thorac Dis* 2019;11(Suppl 5): S755-S765. doi: 10.21037/jtd.2019.01.30.
- Arezzo A., Bonino M.A., Ris F. et al. Intraoperative use of fluorescence with indocyanine green reduces anastomotic leak rates in rectal cancer surgery: an individual participant data analysis. *Surg Endosc* 2020;34(10):4281–4290. doi: 10.1007/s00464-020-07735-w.
- Miyashita R., Tokutake A., Nimori S., Goto H. Importance of intraoperative indocyanine green imaging in the management of non-occlusive mesenteric ischemia: a case report. *Surg Case Rep*. 2023;27;9(1):31. doi: 10.1186/s40792-023-01614-x.
- Watt-Boolsen S. Non-occlusive intestinal infarction. *Acta Chir Scand*. 1977;143:365–369.
- Diana M., Halvax P., Dallemagne B. et al. Real-time navigation by fluorescence-based enhanced reality for precise estimation of future anastomotic site in digestive surgery. *Surg Endosc*. 2014;28(11):3108–18. doi: 10.1007/s00464-014-3592-9.
- Son G.M., Kwon M.S., Kim Y. Quantitative analysis of colon perfusion pattern using indocyanine green (ICG) angiography in laparoscopic colorectal surgery. *Surg Endosc*. 2019;33(5):1640–1649. doi: 10.1007/s00464-018-6439-y.

26. Wada T., Kawada K., Takahashi R. et al. ICG fluorescence imaging for quantitative evaluation of colonic perfusion in laparoscopic colorectal surgery. *Surg Endosc.* 2017;31(10):4184–4193. doi: 10.1007/s00464-017-5475-3.
27. Lütken C.D., Achiam M.P., Osterkamp J. et al. Quantification of fluorescence angiography: Toward a reliable intraoperative assessment of tissue perfusion – A narrative review. *Langenbecks Arch Surg.* 2021;406(2):251–259. doi: 10.1007/s00423-020-01966-0.
28. Diana M, Noll E., Diemunsch P. Enhanced-reality video fluorescence: a real-time assessment of intestinal viability. *Ann Surg.* 2014;259(4):700–7. doi: 10.1097/SLA.0b013e31828d4ab3.
29. Matsui A., Winer J.H., Laurence R.G., Frangioni J.V. Predicting the survival of experimental ischaemic small bowel using intraoperative near-infrared fluorescence angiography. *Br J Surg.* 2011;98(12):1725–34. doi: 10.1002/bjs.7698.
30. Duprée A., Rieß H., von Kroge P.H. et al. Intraoperative quality assessment of tissue perfusion with indocyanine green (ICG) in a porcine model of mesenteric ischemia. *PLoS One.* 2021;20(7): e0254144. doi: 10.1371/journal.pone.0254144.
31. Chiu C.J., McArdle A.H., Brown R. et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg.* 1970;101(4):478–483. doi: 10.1001/archsurg.1970.01340280030009.
32. Karliczek A., Harlaar N.J., Zeebregts C.J. et al. Surgeons lack predictive accuracy for anastomotic leakage in gastrointestinal surgery. *Int J Colorectal Dis.* 2009;24(5):569–576. doi: 10.1007/s00384-009-0658-6.

## К статье

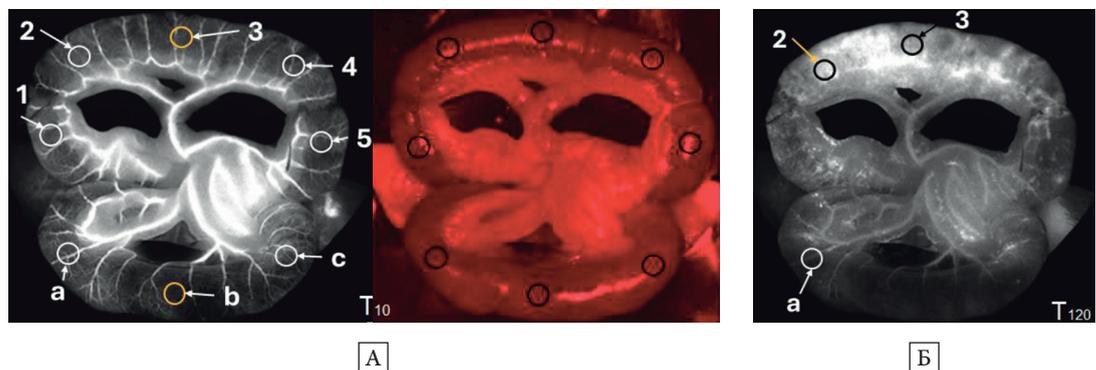
Методика количественного флуоресцентного анализа с применением индоцианина зеленого в ранней диагностике острой ишемии тонкой кишки: экспериментальное исследование (стр. 154–162)

## To article

Quantitative Fluorescence Assay Using Indocyanine Green in Early Diagnosis of Acute Small Intestinal Ischemia: An Experimental Study (p. 154–162)

**Рисунок 1.** Зависимость динамики изменений интенсивности ИЦЗ-флуоресценции в кишечной стенке от тяжести ишемического и реперфузионного повреждения.

**Figure 1.** Dependence of the dynamics of changes in the intensity of ICG fluorescence in the intestinal wall on the severity of ischemic and reperfusion injury.



### Примечание.

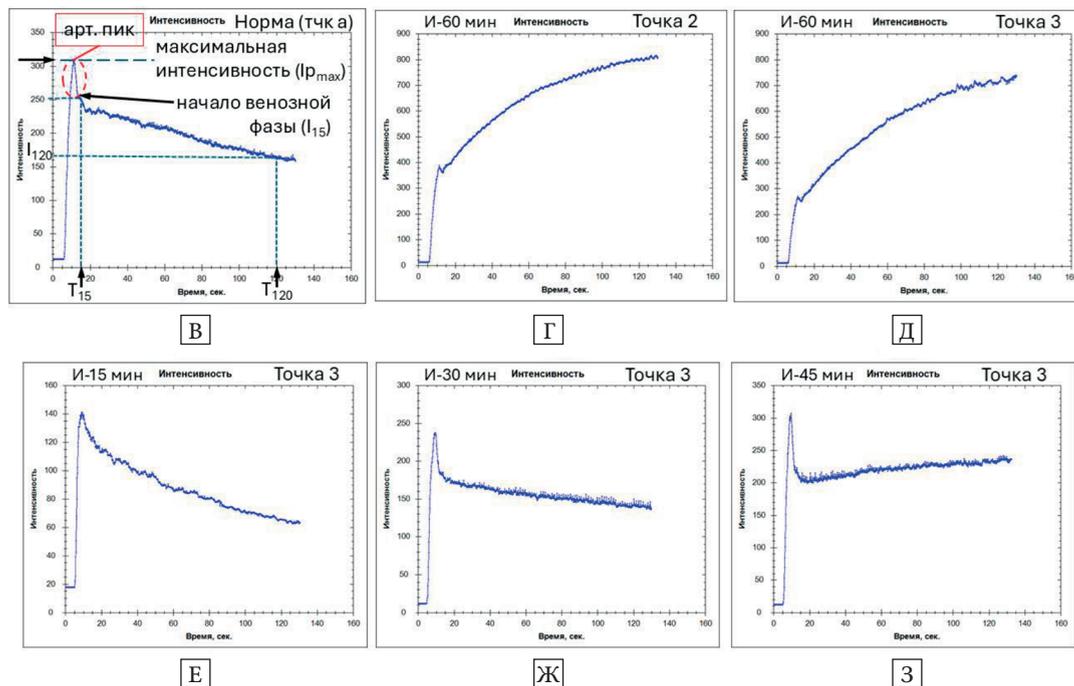
А) слева – репрезентативное изображение петель кишки крысы из группы 60-минутной ишемии, полученное на пике ИЦГ-флуоресценции ( $T_{10}$ ) в ближнем инфракрасном диапазоне, справа – изображение, полученное в белом свете, на которых показано расположение точек регистрации изменений интенсивности ИЦЗ-флуоресценции в исследуемой петле кишки (1, 2, 3, 4 и 5), и контрольной петле кишки (a, b и c), при этом точка 3 расположена в центре зоны повреждения, точки 2 и 4 по её краям, а точки 1 и 5 за её пределами. Б) изображение тех же петель кишки, полученное на второй минуте регистрации ( $T_{120}$ ) в ближнем инфракрасном диапазоне, на котором видна область интенсивной ИЦГ-флуоресценции вокруг точек 2, 3 и 4, которая свидетельствует о накоплении ИЦГ в повреждённом участке кишки.

### Note:

A) Left: Representative image of a rat intestinal loop from the 60-minute ischemia group obtained at the peak of ICG fluorescence ( $T_{10}$ ) in the near infrared range; Right: Image obtained in white light, showing the location of the recording points of ICG fluorescence intensity changes in the studied intestinal loop (1, 2, 3, 4, and 5) and the control intestinal loop (a, b, and c), with point 3 located in the center of the damaged area, points 2 and 4 at its edges, and points 1 and 5 beyond it. B) Image of the same intestinal loops obtained at the second minute of recording ( $T_{120}$ ) in the near infrared range, showing an area of intense ICG fluorescence around points 2, 3, and 4, which indicates ICG accumulation in the damaged area of the intestine.

**Рисунок 1.**  
Зависимость динамики изменений интенсивности ИЦЗ-флуоресценции в кишечной стенке от тяжести ишемического и реперфузионного повреждения.

Figure 1.  
Dependence of the dynamics of changes in the intensity of ICG fluorescence in the intestinal wall on the severity of ischemic and reperfusion injury.



**Примечание.**

В – Д) графики интенсивности ИСГ-флуоресценции, отражающие динамику изменений интенсивности ИСГ-флуоресценции во времени в точках «а», «2» и «3» после 60-минутной ишемии («И-60 мин») и 30-минутной реперфузии. В) «тчка а» – график интенсивности ИСГ-флуоресценции в точке а (здоровая петля кишки). «арт. пик» – артериальный пик в точке максимальной интенсивности ИСГ-флуоресценции ( $I_{p_{max}}$  и  $T_{10}$ ) после внутривенного болюса раствора ИСГ. Е – З) графики интенсивности ИСГ-флуоресценции в точках «3» при различных периодах ишемии: 15 мин (Е), 30 мин (Ж), 45 мин (З).

**Note:**

В – Д) ICG fluorescence intensity graphs reflecting the dynamics of ICG fluorescence intensity changes over time at points "a", "2" and "3" after 60-minute ischemia ("I-60 min") and 30-minute reperfusion. В) "тчка а" is a graph of ICG fluorescence intensity at point a (healthy intestinal loop). "арт. пик" is the arterial peak at the point of maximum ICG fluorescence intensity ( $I_{p_{max}}$  and  $T_{10}$ ) after an intravenous bolus of ICG solution. Е – З) ICG fluorescence intensity graphs at points "3" for different periods of ischemia: 15 min (Е), 30 min (Ж), 45 min (З).