

УДК 616.137.8-005.4-007.271-06:616.748-018.6-074:004.942  
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2022.3.13119

П. Р. Сельський<sup>1</sup>, В. І. Луцик<sup>1</sup>, Т.О. Вересюк<sup>2</sup>

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України<sup>1</sup>  
Тернопільська центральна районна лікарня<sup>2</sup>

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ БІОХІМІЧНИХ ЗМІН НА СИСТЕМНОМУ РІВНІ ПРИ ГОСТРІЙ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ ІЗ МОРФОЛОГІЧНИМИ ПОРУШЕННЯМИ М'ЯКИХ ТКАНИН ЗАДНІХ КІНЦІВОК ЩУРІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ НЕЙРОМЕРЕЖЕВОЇ КЛАСТЕРИЗАЦІЇ

Порівняльний аналіз біохімічних змін на системному рівні при гострій ішемії-реперфузії із морфологічними порушеннями м'яких тканин задніх кінцівок щурів із застосуванням нейромережевої кластеризації

П. Р. Сельський<sup>1</sup>, В. І. Луцик<sup>1</sup>, Т.О. Вересюк<sup>2</sup>

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України<sup>1</sup>  
Тернопільська центральна районна лікарня<sup>2</sup>

**Резюме.** Синдром ішемії-реперфузії зумовлює біохімічні порушення і зміни в про- та антиоксидантній системі як на місцевому, так і на системному рівнях. Важливим при цьому є оптимізація прогнозування розвитку морфологічних порушень у взаємозв'язку із біохімічними змінами.

**Мета дослідження** – встановити взаємозв'язок між станом пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту на системному рівні та ступенем морфологічних змін м'яких тканин задніх кінцівок щурів за умов розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому із застосуванням нейромережевої кластеризації.

**Матеріали і методи.** Проведено біохімічне дослідження сироватки крові 30 білих щурів. У контрольній групі було 6 інтактних тварин. Ішемію моделювали накладанням гумових турнікетів SWAT на задні кінцівки тварин на рівні пахвинної складки протягом 2 год, а реперфузію – зняттям джгута і відновлення кровообігу через 2 год після його накладання. Спостереження за тваринами здійснювали протягом 14 діб. Кров для дослідження виділяли із верхівки серця дослідних тварин шляхом кардіотомії.

**Результати.** Встановлено, що при моделюванні ішемії та реперфузії найбільші відхилення досліджуваних показників відзначають через 1 добу після зняття турнікета, а саме, статистично достовірне зростання значення креатиніну на 28,16 % ( $p < 0,005$ ), загального білірубину – на 20,75 % ( $p < 0,05$ ), АлАТ – на 96,14 % ( $p < 0,005$ ), АсАТ – на 147,27 % ( $p < 0,005$ ) та лужної фосфатази на 70,84 % ( $p < 0,005$ ). Через 14 діб більшість біохімічних показників сироватки крові наближалися до значень, близьких контрольній групі, однак рівні креатиніну, загального білірубину, активності АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази залишалися статистично достовірно ви-

Comparative analysis of biochemical changes at the systemic level in acute ischemia-reperfusion with morphological disorders of the soft tissues of the hind limbs of rats using neural network clustering

P. R. Selsky<sup>1</sup>, V. I. Lutsyk<sup>1</sup>, T. O. Veresiuk<sup>2</sup>

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University<sup>1</sup>  
Ternopil Central District Hospital<sup>2</sup>

e-mail: selsky@tdmu.edu.ua

**Summary.** Ischemia-reperfusion syndrome causes biochemical disorders and changes in the pro- and antioxidant system, both at the local and systemic levels. It is important to optimize the prediction of morphological disorders in relation to biochemical changes.

**The aim of the study** – to establish the relationship between the state of lipid peroxidation and antioxidant protection at the systemic level and the degree of morphological changes in the soft tissues of the hind limbs of rats under the development of ischemic-perfusion syndrome using neural network clustering.

**Materials and Methods.** A biochemical study of the serum of 30 white rats was performed. There were 6 intact animals in the control group. Ischemia was modeled by applying SWAT rubber tourniquets on the hind limbs of the animal, at the level of the inguinal folds, for 2 hours, and reperfusion - by removing the tourniquet and restoring blood circulation 2 hours after its application. Observations of animals were carried out by train for 14 days. Blood for the study was isolated from the apex of the heart of the experimental animals by cardiectomy.

**Results.** It was found that in the simulation of ischemia and reperfusion the largest deviations of the studied parameters are observed 1 day after removal of the tourniquet, namely a statistically significant increase in creatinine by 28.16 % ( $p < 0.005$ ), total bilirubin by 20.75 % ( $p < 0.05$ ), ALT by 96.14 % ( $p < 0.005$ ), AST by 147.27 % ( $p < 0.005$ ) and alkaline phosphatase by 70.84 % ( $p < 0.005$ ). After 14 days, most serum biochemical parameters approached values close to the control group, however, levels of creatinine, total bilirubin, ALT, AST and alkaline phosphatase activity remained statistically significantly higher than the control group by 9.65 %

щими від значень групи контролю на 9,65 % ( $p < 0,005$ ), 28,96 % ( $p < 0,05$ ), 21,93 % ( $p < 0,05$ ), 34,9 % ( $p < 0,05$ ) та 47,84 % ( $p < 0,005$ ) відповідно. Величина антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) у всіх термінах дослідження була статистично нижчою від групи контролю. У пізньому реперфузійному періоді відмічена тенденція до зростання, однак даний показник на кінець 14 доби все ж таки залишався нижчим від показника групи інтактних тварин на 26,4 % ( $p < 0,05$ ). З метою встановлення значення поєднання змін тих чи інших параметрів для прогнозування вираження морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікета при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому було здійснено нейромережеву кластеризацію результатів біохімічного аналізу на основі показників сироватки крові білих щурів у різні періоди після зняття турнікета.

**Висновки.** Ішемія-реперфузія супроводжується значними змінами біохімічних показників сироватки крові в перші години після відновлення кровообігу, що свідчить про підвищене навантаження на органи системи гомеостазу та на системні ураження. Аналіз кластерних портретів при проведенні нейромережевої кластеризації на основі біохімічних показників та показників пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту (АОЗ) сироватки крові білих щурів у поєднанні з показником тяжкості, вираження морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікета, виявив, що при прогнозуванні прогресування структурних змін кінцівок при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому найсуттєвіше значення мають поєднані зміни рівня креатиніну, холестерину, АЛАТ, АСАТ, трієнових кон'югат та ТБК-АП. При цьому найвагоміше значення має підвищення рівня АЛАТ та АСАТ.

**Ключові слова:** біохімічні зміни; морфологічні зміни; сироватка крові; ішемія-реперфузія; нейромережева кластеризація.

## ВСТУП

Гостру ішемію кінцівок визначають як раптове порушення кровопостачання кінцівки [1]. Частота її виникнення складає 140 випадків на 1 млн населення в рік, а у структурі бойової травми ушкодження магістральних судин виявляють у 10 % випадків усіх вогнестрільних поранень [2, 3]. Ішемія та наступна реперфузія викликають зміни клітинного метаболізму, порушення транспорту іонів і активацію протеїназ, процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що призводить до клітинної загибелі та вивільнення цитотоксичних внутрішньоклітинних компонентів [4–6]. Одним із найбільш суттєвих факторів тканинного та клітинного ушкодження є порушення у системі ПОЛ [4]. Водночас, залишаються недостатньо вивченими динаміка цих змін у різні періоди ішемії-реперфузії, а також їх взаємозв'язок із ступенем морфологічних змін м'яких тканин. Важливим є оптимізація прогнозування розвитку патологічних процесів із метою ефективного прикладного використання на практиці.

( $p < 0,005$ ), 28.96 % ( $p < 0,05$ ), 21.93 % ( $p < 0,05$ ), 34.9 % ( $p < 0,05$ ) and 47.84 % ( $p < 0,005$ ), respectively. The value of the antioxidant-prooxidant index (API) in all terms of the study was statistically lower than the control group. In the late reperfusion period, there was a tendency to increase, however, this figure at the end of 14 days still remained lower than the group of intact animals by 26.4 % ( $p < 0,05$ ). In order to establish the value of combined changes of certain parameters to predict the severity of morphological disorders in different periods after removal of the tourniquet in the development of ischemic-reperfusion syndrome used neural network clustering of biochemical parameters and severity of morphological disorders.

**Conclusions.** Ischemia-reperfusion is accompanied by significant changes in the biochemical parameters of blood serum in the first hours after the restoration of blood circulation, which indicates an increased load on the organs of the homeostasis system and on the systemic lesions. Analysis of cluster portraits in neural network clustering based on biochemical parameters of serum of white rats in combination with a parameter of the severity of morphological changes in different periods after removal of the tourniquet, found that in predicting the progression of structural changes in extremities the combined changes in creatinine, cholesterol, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triene-conjugates and TBARS levels are the most important.

**Key words:** biochemical changes; morphological changes; serum; ischemia-reperfusion; neural network clustering.

**Мета дослідження** – встановити взаємозв'язок між станом пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту на системному рівні та ступенем морфологічних змін м'яких тканин задніх кінцівок щурів за умов розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому із застосуванням нейромережевої кластеризації.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Проведено біохімічне дослідження сироватки крові 30 статевозрілих білих щурів-самців масою 200–240 г. У контрольній групі було 6 інтактних тварин. Моделювання ішемії виконували шляхом накладання гумових турнікетів SWAT (Stretch-Wrap-And-Tuck) на задні кінцівки тварин на рівні пахвинної складки протягом 2 год під тіопентал-натрієвим знеболюванням. Реперфузію моделювали шляхом зняття джгута і відновлення кровообігу в раніше ішемізованій кінцівці через 2 год після його накладання. Спостереження за тваринами здійснювали протягом 14 діб.

Тварин експериментальної групи поділили на 5 груп дослідження по 6 тварин у кожній. Модель раннього постішемичного періоду в обох групах була представлена трьома підгрупами тварин із реперфузійними змінами через 1 і 2 год та 1 добу, а модель пізнього реперфузійного періоду – двома підгрупами тварин через 7 та 14 діб після зняття турнікета.

Евтаназію тварин здійснювали під тіопенталнатрієвим знеболюванням (500 мг×кг<sup>-1</sup> маси тіла внутрішньочеревно) шляхом декапітації, після чого проводили забір біологічного матеріалу. Дослідження проведені з дотриманням основних положень Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006), Директиви Ради Європи 2010/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах.

Гістологічне дослідження для визначення вираження морфологічних порушень за моделювання раннього постішемичного періоду проводили за загальноприйнятими методиками на кафедрі патологічної анатомії із секційним курсом та судовою медициною Тернопільського національного медичного університету (ТНМУ) імені І. Я. Горбачевського МОЗ України [7].

Кров для дослідження отримували із верхівки серця дослідних тварин шляхом кардіотомії. Сироватку крові виділяли центрифугуванням. Шматочки м'язової тканини забирали нижче накладання турнікета (середня третина стегна). Надосадову рідину (гомогенат) використовували для біохімічних досліджень.

Біохімічні показники сироватки крові, а саме: загальний білірубін, тригліцериди, холестерин, креатинін, загальний білок, лужна фосфатаза та рівень трансаміназ (АлАт, АсАт) визначали через 2 год ішемії у кожній дослідній групі. Дослідження проводилось у міжкафедральній науково-дослідній лабораторії ТНМУ.

За вмістом активних продуктів із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП), а також рівнем дієнових кон'югат (ДК), трієнових кон'югат (ТК) у сироватці крові та м'язовому гомогенаті та сироватці крові оцінювали інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів.

Принцип методу визначення концентрації ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) полягає у здатності вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, а саме, малонового діальдегіду (МДА) при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) утворювати комплекс у кислому середовищі, інтенсивність забарвлення якого адекватна вмісту ТБК-АП. Дослідження проводили у 10 % гомогенатах скелетних м'язів та у сироватці крові. Кількість ТБК виражали у мкмоль/л в сироватці крові та мкмоль/кг у гомогенатах скелетних м'язів. Вміст ДК і ТК визначали в сироватці крові та м'язовому гомогенаті за методикою В. Б. Гаврилова, М. І. Мишкорудної. Активність супероксиддисмутази (СОД) визнача-

ли на основі методу відновлення нітротетразолію супероксидними радикалами, які утворюються при реакції між феназинметасульфатом (ФМС) і відновленою формулою нікотинаміддинуклеотиди (НАДН<sub>2</sub>). Принцип визначення каталазної активності (КПА) ґрунтується на властивості перекису водню утворювати із солями молібдену забарвлений комплекс [8].

Статистичну обробку матеріалу проводили з використанням пакета програм Microsoft Excel (2010). Перевірку показників на нормальний розподіл здійснювали за тестом Колмогорова – Смірнова. За умов нормального розподілу статистична значущість різниці між середніми арифметичними оцінювали за t-критерієм Стьюдента – Фішера. При ненормальному розподілі у непарних групах визначення статистичної значущості отриманих результатів проводили за методом Манна – Уїтні (U).

З метою аналізу взаємозв'язку виявлених біохімічних змін на системному рівні з морфологічними порушеннями м'яких тканин задніх кінцівок та для прогнозування прогресування структурних змін при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому застосовано нейромережевий підхід із використанням надбудови NeuroXL Classifier для програми Microsoft Excel, що дозволило провести високоточну класифікацію із визначенням взаємозв'язків і трендів [9–12].

## РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що при моделюванні ішемії та реперфузії виникали системні порушення, що проявлялись зміною біохімічних показників сироватки крові (табл. 1). Найбільші відхилення досліджуваних показників відзначають через 1 добу після зняття турнікета, а саме, статистично достовірне зростання значення креатиніну на 28,16 % ( $p < 0,005$ ), загального білірубину – на 20,75 % ( $p < 0,05$ ), АлАТ – на 96,14 % ( $p < 0,005$ ), АсАТ – на 147,27 % ( $p < 0,005$ ) та лужної фосфатази – на 70,84 % ( $p < 0,005$ ). Поряд з тим, у даний період виявлено зменшення рівня загального білка на 11,23 % ( $p < 0,005$ ) та тригліцеридів на 17,29 % ( $p < 0,005$ ) щодо групи контрольного дослідження. Через 14 діб більшість біохімічних показників сироватки крові наближалася до значень, близьких контрольній групі, однак рівень креатиніну, загального білірубину, активності АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази залишався статистично достовірно вищим від значень групи контролю на 9,65 % ( $p < 0,005$ ), 28,96 % ( $p < 0,05$ ), 21,93 % ( $p < 0,05$ ), 34,9 % ( $p < 0,05$ ) та 47,84 % ( $p < 0,005$ ) відповідно.

Проведені дослідження показали, що уже через 1 год вміст дієнових кон'югат у сироватці крові збільшився на 33,06 % ( $p > 0,05$ ) порівняно з контрольною групою. Найвищого значення рівень дієнових кон'югат досяг через 1 добу експерименту, перевищуючи показник групи контролю на 77,27 % ( $p < 0,005$ ). Через 14 діб встановлено його зменшен-

**Таблиця 1.** Зміни біохімічних показників у сироватці крові білих щурів у різні періоди ішемічно-реперфузійного ушкодження (M±m)

| Показник                      | Контроль    | 1 год                       | 2 год                        | 1 доба                       | 7 діб                      | 14 діб                       |
|-------------------------------|-------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Загальний білок, г/л          | 67,68±1,80  | 63,83±2,36                  | 64,57±1,25                   | 60,08±1,78 <sup>***</sup>    | 62,80±1,29                 | 61,38±0,97 <sup>***</sup>    |
| Тригліцериди, ммоль/л         | 0,75±0,03   | 0,72±0,03                   | 0,63±0,02 <sup>***</sup>     | 0,62±0,03 <sup>*</sup>       | 0,93±0,04 <sup>****</sup>  | 0,80 ±0,06                   |
| Креатинін, мкмоль/л           | 45,74±0,33  | 53,63±0,91 <sup>***</sup>   | 50,93±0,76 <sup>***</sup>    | 58,62±1,46 <sup>****</sup>   | 51,03±0,94 <sup>****</sup> | 50,15±0,87 <sup>***</sup>    |
| Холестерин, ммоль/л           | 1,62±0,06   | 1,24±0,06 <sup>*</sup>      | 1,53±0,10                    | 1,87±0,02 <sup>***</sup>     | 1,36±0,10 <sup>**</sup>    | 1,28±0,05 <sup>***</sup>     |
| Загальний білірубін, мкмоль/л | 4,02±0,26   | 6,03±0,37 <sup>***</sup>    | 7,04±0,26 <sup>***</sup>     | 4,86±0,31 <sup>***</sup>     | 4,53±0,50                  | 5,19±0,17 <sup>*</sup>       |
| АлАТ, од./л                   | 63,98±1,81  | 76,09±3,29 <sup>*</sup>     | 88,78±6,36 <sup>*</sup>      | 125,35±9,19 <sup>****</sup>  | 92,87±4,35 <sup>****</sup> | 78,02±3,23 <sup>****</sup>   |
| АсАТ, од./л                   | 93,27±5,67  | 119,17±4,85 <sup>*</sup>    | 155,38±11,87 <sup>****</sup> | 230,62±12,26 <sup>****</sup> | 185,65±8,83 <sup>***</sup> | 125,82±8,51 <sup>***</sup>   |
| ЛФ, од./л                     | 156,0±10,39 | 175,18±11,05 <sup>***</sup> | 181,82±9,41 <sup>***</sup>   | 266,52±15,57 <sup>****</sup> | 298,7±13,6 <sup>***</sup>  | 230,63±13,45 <sup>****</sup> |

Примітки: 1) \* – p<0,05 порівняно з групою контролю;  
2) \*\* – p<0,05 порівняно з попередньою групою;  
3) \*\*\* – p<0,005 порівняно з групою контролю;  
4) \*\*\*\* – p<0,005 порівняно з попередньою групою.

ня на 14,81 % (p>0,05), відносно значення групи через 7 діб експерименту, однак досліджуваний показник все ж залишався вище контрольної групи на 14,05 % (p>0,05).

Виявлено зростання рівня трієнових кон'югат (ТК) сироватки крові. Найвищого значення даний показник досяг через 1 добу та у 1,47 раза перевищив аналогічний показник групи контролю (p<0,005). В інші терміни дослідження відмічено поступове зменшення показника до найменшого значення, яке він досяг через 14 діб, будучи на 24,23 % (p>0,05) нижчим від значенням групи тварин через 7 діб, однак перевищуючи інтактну групу на 35,37 % (p>0,05).

Як бачимо з таблиці 2, має місце поступове зростання рівня ТБК-АП сироватки крові до найвищих значень на кінець 1 доби після зняття турнікета, перевищуючи на 20,3 % (p>0,05) групу попереднього дослідження та на 82,52 % (p<0,005) значення контрольної групи. Подальше збільшення тривалості реперфузійного періоду до кінця 14 доби зумовило зменшення рівня ТБК-АП на

12,55 % (p>0,05) відносно значення попередньої групи, залишаючись при цьому вище значення групи контролю на 25,0 % (p<0,05).

При моделюванні реперфузії через 1 та 2 год встановлено, зростання активності супероксид-дисмутази сироватки крові на 5,19 % (p>0,05) та на 8,1 % відповідно (p>0,05) порівняно із показником контрольної групи. Через 1 та 7 діб, навпаки, активність її зменшилася на 9,77 % (p>0,05) та на 23,43 % (p<0,05) відносно значення групи контролю. Через 14 діб рівень СОД зріс та перевищив попередню групу на 27,66 % (p<0,005), наблизившись при цьому до показника інтактних тварин.

Показник активності каталази сироватки крові зменшувався через 1 год на 6,0 % (p>0,05), а через 1 добу зріс на 15,37 % (p<0,05) відносно значення контрольної групи. Зменшення ферментативної активності каталази на 7,38 % (p>0,05) щодо групи контролю і на 3,02 % відносно значення попередньої групи (p>0,05) виявлено і через 14 діб після відновлення кровообігу.

**Таблиця 2.** Зміни показників первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в сироватці крові білих щурів у різні періоди ішемічно-реперфузійного ушкодження (M±m)

| Показник        | Контроль   | 1 год                  | 2 год                     | 1 доба                      | 7 діб                       | 14 діб                     |
|-----------------|------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| ДК, ум. од./мл  | 0,48±0,03  | 0,64±0,05              | 0,71±0,02 <sup>***</sup>  | 0,86±0,05 <sup>****</sup>   | 0,65±0,04 <sup>****</sup>   | 0,55±0,03                  |
| ТК, ум. од./мл  | 0,40±0,02  | 0,67±0,05 <sup>*</sup> | 0,76±0,04 <sup>***</sup>  | 0,98±0,06 <sup>****</sup>   | 0,72±0,04 <sup>***</sup>    | 0,54±0,02                  |
| ТБК-АП, ммоль/л | 3,03±0,11  | 3,55±0,18              | 4,60±0,21 <sup>****</sup> | 5,53±0,39 <sup>***</sup>    | 4,33±0,38 <sup>*</sup>      | 3,79±0,03 <sup>*</sup>     |
| СОД, ум. од.    | 55,06±3,10 | 57,92±3,22             | 59,52±2,70                | 49,68± 3,46 <sup>****</sup> | 42,16± 3,16 <sup>****</sup> | 53,82±2,04 <sup>****</sup> |
| Каталаза, кат/л | 33,32±1,34 | 31,32±1,21             | 33,72±1,09                | 38,44±1,33 <sup>***</sup>   | 31,82± 0,96 <sup>**</sup>   | 30,86± 1,13 <sup>*</sup>   |
| АПІ, ум. од.    | 11,09±0,78 | 8,09±0,53              | 7,42±0,55 <sup>***</sup>  | 7,14±0,72 <sup>*</sup>      | 7,54±0,72                   | 8,16±0,32 <sup>*</sup>     |

Примітки: 1) \* – p<0,05 порівняно з групою контролю;  
2) \*\* – p<0,05 порівняно з попередньою групою;  
3) \*\*\* – p<0,005 порівняно з групою контролю;  
4) \*\*\*\* – p<0,005 порівняно з попередньою групою.

Величина антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) у всіх термінах дослідження була статистично нижчою від групи контролю. Мінімального значення індекс досяг через 1 добу, будучи нижчим від аналогічного показника інтактної групи на 35,65 % ( $p < 0,05$ ) та на 3,8 % від значення попередньої групи ( $p > 0,05$ ). У пізньому реперфузійному періоді відмічена тенденція до зростання, однак даний показник на кінець 14 доби все ж таки залишався нижчим від показника групи інтактних тварин на 26,4 % ( $p < 0,05$ ).

З метою встановлення значення поєднання змін тих чи інших параметрів для прогнозування вираження морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікета при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому було здійснено нейромережеву кластеризацію результатів біохімічного аналізу та аналізу змін ПОЛ та АОЗ на основі показників сироватки

крові білих щурів у різні періоди після зняття турнікета: TrGl – тригліцериди (1), Creat – креатинін (2), Cholest – холестерин (3) Bilir – загальний білірубін (4), ALT – АлАТ (5), AST – АсАТ (6), AF – лужна фосфатаза (7), DC – дієнові кон'юганти (8), TC – триєнові кон'юганти (9), TBA – ТБК-АП (10), SOD - СОД (11), САТ – каталаза (12) та S – тяжкість, вираження морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікета (13). При цьому показник S визначався щодо кожної дослідної тварини як «4» у випадку взяття матеріалу для дослідження через добу після накладання турнікета (найбільш виражені зміни), «3» – через дві години, «2» – через годину та «1» – без накладання турнікету (контрольна група) (рис.).

Для алгоритму нейромережевої кластеризації обрано параметри, запропоновані програмою, та кількість кластерів, рівну трьом. На рисунках наведено деякі результати виконання програмою



Рис. Результати кластеризації біохімічних показників сироватки крові дослідних тварин у різні періоди розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому: а) кластерний портрет – значення параметрів включно із біохімічними показниками та показником вираження морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікета; б) частки кластерів – відсотки тварин, які потрапили у певний кластер.

кластеризації показників дослідження тварин різних груп. До 1-го кластера віднесено 50 % дослідних тварин, а до 2-го та 3-го – по 25 % тварин.

Як свідчить гістограма, найвище значення показника вираження морфологічних змін у задніх кінцівках щурів при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому (S) виявлялось у 3-му кластері. При цьому, за допомогою кластерного портрета можна визначити, що на 3-й кластер припали і найвищі показники креатиніну (2), холестерину (3), АлАТ (5), АсАТ (6), лужної фосфатази (7), трієнових кон'югат (9) та ТБК-АП (10).

### ВИСНОВКИ

Отримані дані дають підстави вважати, що моделювання ішемічно-реперфузійного синдрому супроводжується значними змінами біохімічних показників сироватки крові вже безпосередньо у перші години після відновлення кровообігу, що свідчить про посилене навантаження на органи системи гомеостазу та на системність уражень.

Через 1 год після зняття турнікета виявлено зростання як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ, у сироватці крові дослідних тварин, яке тривало упродовж усього періоду дослідження та досягло найвищого значення через 1 добу після відновлення кровопостачання, перевищивши показник ДК інтактної групи на 77,27 % ( $p < 0,005$ ),

ТК – на 147 % ( $p < 0,005$ ) та ТБК-АП – на 82,52 % ( $p < 0,005$ ).

Виражена реакція показників ферментативної ланки антиоксидантного захисту сироватки крові дослідних тварин, а саме, зниження активності СОД до кінця 1 доби експерименту на 9,77 % ( $p > 0,05$ ) та поступове її зростання до кінця 14 доби. Найвищу активність каталази навпаки виявлено у ранньому реперфузійному періоді, перевищивши на 15,37 % ( $p < 0,05$ ) показник інтактної групи із поступовим зниженням її активності до кінця експерименту.

Інтегральним показником співвідношення антиоксидантних та прооксидантних механізмів є АПІ, у динаміці якого виявляли фазу зниження через 1 год після зняття турнікета і до кінця 1 реперфузійної доби – на 36,65 % ( $p < 0,05$ ) відносно початкових даних.

Аналіз кластерних портретів при проведенні нейромережевої кластеризації на основі біохімічних показників та показників ПОЛ і АОЗ сироватки крові білих щурів у поєднанні з показником тяжкості, вираження морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікета, виявив, що при прогнозуванні прогресування структурних змін кінцівок при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому найсуттєвіше значення мають поєднані зміни рівня креатиніну, холестерину, АлАТ, АсАТ, трієнових кон'югат та ТБК-АП. При цьому найвагомніше значення має підвищення рівня АлАТ та АсАТ.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Elsharawy Mohamed A. Reperfusion of delayed acute occlusive limb ischemia: Is it worthwhile? / A. Elsharawy Mohamed, Elsaid Aymen, Elsharawi Ibrahim // *World Journal of Cardiovascular Diseases*. – 2014. – No. 4. – P. 580–585.
2. Basic control of reperfusion effective against reperfusion injury in a realistic rodent model of acute limb ischemia / Florian Dick, Jianhui Li, Marie-Noëlle Giraud [et al.] // *Cardiovascular Surgery*. – 2008. – Vol. 118, I. 19. – P. 1920–1928.
3. Хоменко І. П. Клінічно-організаційні особливості надання травматологічної допомоги пораненим із дефектами м'яких тканин при вогнепальних та мінно-вибухових ушкодженнях кінцівок / І. П. Хоменко, С. О. Король, Б. В. Матвійчук // *Травма*. – 2018. – Т. 19, № 5. – С. 125–129.
4. Мальченко О. А. Патогенетичне обґрунтування підходів до корекції пошкоджень тканин кінцівки при експериментальному реперфузійному синдромі: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 / О. А. Мальченко. – К., 2016. – 24 с.
5. Реперфузійний синдром після ревазуляризації ішемії нижніх кінцівок / С. М. Генік [та ін.] // *Серце і судини*. – 2016. – № 3. – С. 104–108.
6. Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury / M.-Y. Wu, G.-T. Yiang, W.-T. Liao [et al.] // *Cell Physiol. Biochem*. – 2018. – Vol. 46. – P. 1650–1667.
7. Методики морфологічних досліджень / М. М. Багрій, В. А. Діброва, О. Г. Попадинець, М. І. Гришук. – Вінниця : Нова Книга, 2016. – 328 с.
8. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных : справочник ; под редакцией В. Г. Макарова, М. Н. Макаровой / Т. В. Абрашова [и др.]. – СПб. : Издво «ЛЕМА», 2013. – 116 с.
9. Bishop C. M. *Neural networks for pattern recognition* / C. M. Bishop. – Oxford : Oxford University Press, 1995. – 504 p.
10. Du K. L. *Clustering: A neural network approach* / K. L. Du // *Neural network*. – 2010. – Vol. 23, No. 1. – P. 89–107.
11. On an algorithm for decision-making for the optimization of disease prediction at the primary health care level using neural network clustering / P. R. Selsky, D. V. Vakulenko, A. T. Televiak, T. O. Veresiuk // *Family Medicine & Primary Care Review*. – 2018. – Vol. 20, No. 2. – P. 171–175.

12. Оптимізація прогнозування розвитку морфологічних порушень при експериментальній гострій ішемії-реперфузії на основі поєднаних змін біохімічних показників за допомогою кореляційного аналізу та нейромережевої

кластиризації / П. Р Сельський, А. Т. Телев'як, Т. О. Вересюк, Б. П. Сельський // Медична інформатика та інженерія. – 2019. – № 4. – С 40–45.

#### REFERENCES

1. Elsharawy MA., Elsaid A., Elsharawi I. Reperfusion of Delayed Acute Occlusive Limb Ischemia: Is It Worthwhile?. *World Journal of Cardiovascular Diseases*. 2014;4: 580-5.
2. Dick F., Li J., Giraud M., Kalka C., Schmidli J., Tevaeearai H. Basic control of reperfusion effective against reperfusion injury in a realistic rodent model of acute limb ischemia. *Cardiovascular Surgery*. 2008;118(19): 1920-8.
3. Khomenko, IP., Korol SO., Matviichuk, BV. [Clinical and organizational peculiarities of traumatological care for the injured with soft tissue defects in inflammatory and mine-explosive injuries of the extremities]. *Травма*. 2018;19(5): 125-9. Ukrainian.
4. Malchenko OA. (2016). [Pathogenetic substantiation of approaches for correcting damaged tissues in experimental lower-limb ischemia-reperfusion syndrome]. Extended abstract of candidate's thesis. Kyiv. Ukrainian.
5. Henyk, SM., Symchych AV. [Reperfusion syndrome after revascularization of lower extremity ischemia]. *Heart and blood vessels*. 2016;3: 104-8.
6. WuMY, YiangGT, LiaoWT, TsaiPY, ChengYL, ChengPW. et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol. Biochem*. 2018;46: 1650-67.
7. Bagriy MM, Dibrova VA, Popadynets OG, Grischuk

MI. (2016). *Methods of morphological research*. [Методики морфологічних досліджень] Vinnytsia: Nova knuha. Ukrainian.

8. Abrashova TV, Gushchin YaA, Kovaleva MA, Rybakova AV, Selezneva AI, Sokolova AP. et al. (2013). Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals. [Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных : справочник] SPb.: Izd-vo «LEMA». Russian.

9. Bishop C. M. *Neural networks for pattern recognition*. Oxford. Oxford University Press. 1995: 504.

10. Du K. L. Clustering: A neural network approach. *Neural network*. 2010; 23(1): 89–107.

11. Selskyy PR, Vakulenko DV, Televiak AT, Veresiuk TO. On an algorithm for decision-making for the optimization of disease prediction at the primary health care level using neural network clustering. *Family Medicine & Primary Care Review*. 2018;20(2): 171-5. Ukrainian.

12. Selskyy PR, Televiak AT, Veresiuk TO, Selskyy BP. Optimization of prediction of the development of morphological disorder after experimental acute ischemia-reperfusion based on combined changes in biochemical parameters by means of correlation analysis and neural network clustering. *Medical Informatics and Engineering*. 2019;20(4): 40-5. Ukrainian.

Отримано 05.07.22