

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МОРФОЛОГІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ТА ЗМІН У ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНІЙ СИСТЕМІ ПРИ ГОСТРІЙ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUZІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ НЕЙРОМЕРЕЖЕВОЇ КЛАСТЕРИЗАЦІЇ

П. Р. Сельський, А. Т. Телев'як, Т. О. Вересюк,  
Б. П. Сельський, В. І. Луцик

*Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України*

Ефективне використання інформаційних технологій дає можливість забезпечити порівняльний аналіз багатьох чинників у наукових медичних дослідженнях, що особливо важливо у морфології, де необхідно здійснювати аналіз значної за обсягом цифрової інформації. Особливо актуальним являється розроблення нових методик комплексного порівняльного аналізу морфологічних змін тканин і біохімічних порушень у результаті розвитку турнікетного синдрому, що є одним із найпоширеніших видів пошкоджень у військовій і цивільній медицині. У роботі запропоновано методику оптимізації прогнозування тяжкості морфологічних порушень при експериментальній гострій ішемії-реперфузії на основі поєднаних змін біохімічних показників і показників прооксидантно-антиоксидантної системи з використанням нейромережевої кластеризації.

Експериментальна модель ішемічно-реперфузійного ураження представлена п'ятьма групами щурів із термінами реперфузії 1 і 2 години, 1 доба, 7 та 14 діб (по 6 тварин у кожній). Контрольна група нараховувала 6 тварин. Підхід ґрунтується на застосуванні нейромережевої кластеризації із використанням надбудови NeuroXL Classifier для програми Microsoft Excel. Із метою більш глибокого аналізу та встановлення значення поєднання змін тих чи інших параметрів здійснено нейромережеву кластеризацію біохімічних показників, показників ПОЛ та АОЗ сироватки крові білих щурів у різні періоди після зняття турнікету. Встановлено найбільше прогностичне значення тяжкості морфологічних порушень у ранньому реперфузійному періоді за даними нейромережевої кластеризації поєднаних змін рівня креатиніну, холестерину, АЛТ, АсАТ, лужної фосфатази, трієнових кон'югант і ТБК-АП.

Отже, для оптимізації прогнозування розвитку морфологічних ішемічних порушень при експериментальній гострій ішемії-реперфузії запропоновано методику аналізу результатів експериментального дослідження на основі змін морфологічних, біохімічних показників, показників продуктів ПОЛ та антиоксидантного захисту із застосуванням нейромережевої кластеризації.

**Ключові слова:** ішемія-реперфузія, морфологічні зміни, прооксидантно-антиоксидантна система, кластеризація нейронної мережі.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF MORPHOLOGICAL DISORDERS AND CHANGES IN THE PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM IN ACUTE EXPERIMENTAL ISCHEMIA-REPERFUSION USING NEURAL NETWORK CLUSTERING

P. R. Selsky, A. T. Televiak, T. O. Veresiuk,  
B. P. Selsky, V. I. Lutsyk

*Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine*

**Background.** The effective use of information technologies makes it possible to provide a comparative analysis of many factors in scientific medical research, which is especially important when using significant digital information in experimental morphology.

**Materials and Methods.** The experimental model of ischemic-reperfusion lesion is represented by five groups of rats with reperfusion terms of 1 and 2 hours, 1 day, 7 and 14 days (6 animals in each group). The control group consisted of 6 animals. Acute ischemia was caused by the imposition of SWAT rubber bundles on the hind limbs of rats for 2 h under thiopental sodium anesthesia. For a deeper analysis and clustering of the study groups, in order to optimize the prognosis of ischemia-reperfusion lesions, a neural network approach was used by using the Neuro XL Classifier add-in for Microsoft Excel.

**Results.** It was established systemic disorders appeared, which were manifested by changes in the biochemical parameters of blood serum, parameters of the processes of peroxide oxidation of lipids and antioxidant protection. According to neural network clustering the greatest prognostic value for the detection of severity of morphological disorders in the early reperfusion period have the combined changes in creatinine, cholesterol, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, conjugated triene and TBK-active products levels.

**Conclusions.** In order to optimize the prediction of the development of morphological disorders in experimental acute ischemia-reperfusion based on combined changes in biochemical indicators, a method of analyzing the results of the study using neural network clustering is proposed.

**Keywords:** ischemia-reperfusion, morphological changes, prooxidant-antioxidant system, neural network clustering.

**Вступ.** Ефективне використання інформаційних технологій дає можливість забезпечити порівняльний аналіз багатьох чинників у наукових медичних дослідженнях, що особливо важливо у морфології, де необхідно здійснювати аналіз значної за обсягом цифрової інформації. Численні роботи присвячені вивченню проблем упровадження новітніх інформаційних методик [1-4], проте не до кінця вирішеною залишається проблема їх використання для аналізу результатів експериментальних морфологічних досліджень.

Особливо актуальним являється розроблення нових методик комплексного порівняльного аналізу морфологічних змін тканин у результаті розвитку турнікетного синдрому, що є одним із найпоширеніших видів пошкоджень у військовій і цивільній медицині, та порушень у системі перекисного окиснення ліпідів [5-8]. При цьому недостатньо вивченими залишаються динаміка цих змін у різні періоди ішемії-реперфузії та прогнозування тяжкості морфологічних порушень на основі поєднаних змін біохімічних показників і показників проксидантно-антиоксидантної системи з метою прикладного використання на практиці.

**Мета дослідження:** запропонувати методику оптимізації прогнозування тяжкості морфологічних порушень при експериментальній гострій ішемії-реперфузії на основі поєднаних змін біохімічних показників та показників проксидантно-антиоксидантної системи з використанням нейромережевої кластеризації.

**Матеріал і методи дослідження.** Відповідно до мети та завдань експериментального дослідження 30 тварин (білі щурі) були розділені на шість груп. Експериментальна модель раннього ішемічно-реперфузійного періоду представлена групами тварин із термінами реперфузії 1 година, 2 години та 1 доба, а модель пізнього ішемічно-реперфузійного періоду – групами тварин із термінами реперфузії 7 та 14 діб (по 6 тварин у кожній групі). Для проведення порівняльного аналізу виділена інтактна група тварин (6 тварин). Гостру ішемію спричиняли шляхом накладання гумових джгутів SWAT на задні кінцівки щурів протягом 2 годин під тіопентал-натрієвим знеболюванням. Гістоло-

гічне дослідження м'яких тканин нижніх кінцівок проводилося на кафедрі патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною Тернопільського національного медичного університету (ТНМУ) імені І. Я. Горбачевського МОЗ України за загальноприйнятими методиками [9].

Кров для дослідження отримували з верхівки серця піддослідних тварин шляхом кардіотомії. Дослідження проводилось у міжкафедральній науково-клінічній лабораторії ТНМУ імені І. Я. Горбачевського. Біохімічні зміни, а саме, показники загального білірубину, тригліцеридів, холестерину, креатиніну, загального білка, лужної фосфатази та рівень трансаміназ (АлАТ, АсАТ) визначали в сироватці крові в кожній піддослідній групі. За вмістом активних продуктів із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП), а також рівнем дієнових кон'югат (ДК), трієнових кон'югат (ТК) у сироватці крові оцінювали інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів. Зміни в системі антиоксидантного захисту визначали на основі активності супероксиддисмутази (СОД) та каталазної активності (КПА) [10].

Одержані результати клінічних і лабораторних досліджень оброблено із застосуванням методів варіаційної статистики. Статистична обробка матеріалу проводилася з використанням пакета програм "Microsoft Excel". Перевірку показників на нормальний розподіл здійснювали за тестом Колмогорова-Смірнова. За умов нормального розподілу статистична значущість різниці між середніми арифметичними оцінювалась за критерієм Ст'юдента-Фішера ( $t$ ). При ненормальному розподілі у непарних групах визначення статистичної значущості отриманих результатів проводили за методом Манна-Уїтні ( $U$ ).

Для більш глибокого аналізу поєднаних змін біохімічних показників досліджуваних груп із метою оптимізації прогнозування розвитку прогресування структурних змін кінцівок при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому проводилася нейромережева кластеризація з використанням надбудови NeuroXL Classifier для програми Microsoft Excel [4, 11, 12].

**Результати та їх обговорення.** Встановлено, що при моделюванні ішемії та реперфузії виникали системні порушення, які проявлялись зміненням біохімічних показників сироватки крові. Динаміка змінення пересічних показників вмісту в сироватці

крові загального білка, тригліцеридів, креатиніну, холестерину, загального білірубину, активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаратамінотрансферази (АсАТ) та лужної фосфатази (ЛФ) представлена в табл. 1.

Таблиця 1

**Змінення біохімічних показників в сироватці крові білих щурів у різні періоди ішемічно-реперфузійного пошкодження (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***	62,80±1,29	61,38±0,97***
Тригліцериди, ммоль/л	0,75±0,03	0,72±0,03	0,63±0,02***	0,62±0,03*	0,93±0,04*/***	0,80±0,06
Креатинін, мкмоль/л	45,74±0,33	53,63±0,91***	50,93±0,76***	58,62±1,46***/*	51,03±0,94***/*	50,15±0,87***
Холестерин, ммоль/л	1,62±0,06	1,24±0,06*	1,53±0,10	1,87±0,02*/**	1,36±0,10**	1,28±0,05***
Загальний білірубін, мкмоль/л	4,02±0,26	6,03±0,37***	7,04±0,26***	4,86±0,31*/**	4,53±0,50	5,19±0,17*
АлАТ, од/л	63,98±1,81	76,09±3,29*	88,78±6,36*	125,35±9,19***/*	92,87±4,35***/*	78,02±3,23*/**
АсАТ, од/л	93,27±5,67	119,17±4,85*	155,38±11,87***/*	230,62±12,26***/*	185,65±8,83***	125,82±8,51*/**
ЛФ, од/л	156,00±10,39	175,18±11,05***	181,82±9,41***	266,52±15,57***/*	298,7±13,6***	230,63±13,45***/*

Примітки: \* – p<0,05 порівняно з групою контролю; \*\* – p<0,05 порівняно з попередньою групою; \*\*\* – p<0,005 порівняно з групою контролю; \*\*\*\* – p<0,005 порівняно з попередньою групою

Встановлено, що при моделюванні ішемії та реперфузії у всіх групах дослідження виникали також зміни показників первинних і вторинних продуктів

ПОЛ та антиоксидантного захисту. Результати досліджень відображено в табл. 2.

Таблиця 2

**Змінення показників первинних і вторинних продуктів ПОЛ та антиоксидантного захисту сироватці крові білих щурів у різні періоди ішемічно-реперфузійного пошкодження (M±m)**

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

Примітки: \* —  $p < 0,05$  порівняно з групою контролю; \*\* —  $p < 0,05$  порівняно з попередньою групою; \*\*\* —  $p < 0,005$  порівняно з групою контролю; \*\*\*\* —  $p < 0,005$  порівняно з попередньою групою

Величина антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) в усіх термінах дослідження була статистично нижчою від групи контролю. Мінімального значення індекс досяг через 1 добу, будучи нижчим від аналогічного показника інтактної групи на 35,7 % ( $p < 0,05$ ) 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 або інших параметрів для прогнозування вираженості морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікету при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому було здійснено нейромережеву кластеризацію біохімічних показників, показників ПОЛ та АОЗ сироватки крові білих щурів у різні періоди після зняття турнікету: TrGІ – 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 – трієнові кон'юганти (9), TBA – ТБК-АП (10), SOD – СОД (11), САТ – каталаза (12) та S – тяжкість, вираженість морфологічних змін у різні періоди після зняття турнікету (13). При цьому показник S визна-

чався відносно кожної піддослідної тварини як "4" у випадку взяття матеріалу для дослідження через добу після накладання турнікета, "3" – через дві години, "2" – через годину та "1" – без накладання турнікету (контрольна група) (рис. 1).



Рис. 1. Результати кластеризації біохімічних показників сироватки крові піддослідних тварин у різні періоди розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому: а) кластерний портрет; б) частки кластерів – відсотки тварин, що потрапили в певний кластер

Для алгоритму нейромережевої кластеризації обрано параметри, запропоновані програмою, та кількість кластерів, рівну трьом. На рис. 1 а, б наведено деякі результати виконання програмою кластеризації показників дослідження тварин різних груп. До 1-го кластеру віднесено 50 % піддослідних тварин, а до 2-го та 3-го – по 25 % тварин.

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

**Висновки.** Для оптимізації прогнозування розвитку морфологічних ішемічних порушень при експериментальній гострій ішемії-реперфузії запропоновано методику аналізу результатів експериментального дослідження на основі змінення морфологічних, біохімічних показників, показників продуктів ПОЛ та антиоксидантного захисту, а також нейромережевої кластеризації.

### Література.

1. Трансформування знань з атерогенезу: використання наноасоційованих біотехнологій і мережевого аналізу / Мінцер О. П., Заліський В. М. // Медична інформатика та інженерія. – 2019. – № 1. – С. 4-24.
2. Cardiovascular system adaptability to exercise according to morphological, temporal, spectral and correlation analysis of oscillograms / D. V. Vakulenko, V. P. Martseniuk, L. O. Vakulenko, P. R. Selsky et al. // Family Medicine & Primary Care Review. – 2019. – Vol. 21, № 3. – P. 253-263.
3. Measuring patient-centered communication in patient-physician consultations: theoretical and practical issues / R. M. Epstein, P. Franks, K. Fiscella et al. // Soc. Sci. Med. – 2005. – Vol. 61. – P. 1516-1528.
4. 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, № 2. – P. 171-175.
5. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury / M.-Y. Wu, G.-T. Yiang, W.-T.

Інтегральним показником співвідношення антиоксидантних та прооксидантних механізмів є антиоксидантно-прооксидантний індекс, у динаміці якого виявляли фазу зниження, що була найбільш виразною до кінця 1-ої реперфузійної доби в сироватці крові – 36,7 % ( $p < 0,05$ ).

Аналіз кластерних портретів при проведенні нейромережевої кластеризації на основі біохімічних показників, показників ПОЛ і АОЗ сироватки крові білих щурів у поєднанні з морфологічними порушеннями м'яких тканин у різні періоди після зняття турнікету виявив, що при прогнозуванні прогресування структурних змін кінцівок при розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому найсуттєвіше значення мають поєднані зміни показників креатиніну, холестерину, АЛТ, АсАТ, лужної фосфатази, трієнових кон'югант і ТБК-АП.

Перспективним бачиться запровадження використання нейромережевої кластеризації при роботі зі значною за обсягом цифровою інформацією для прогнозування розвитку патологічних процесів на основі змін біохімічних показників на системному рівні з метою подальшого прикладного використання на практиці.

Liao, A. P.-Y. Tsai et al. // Cell Physiol. Biochem. – 2018. – Vol. 46. – P. 1650-1667.

6. Клінічно-організаційні особливості надання травматологічної допомоги пораненим із дефектами м'яких тканин при вогнепальних та мінно-вибухових ушкодженнях кінцівок / Хоменко І. П., Король С. О., Матвійчук Б. В. // Травма. – 2018. – Т. 19, № 5. – С. 125-129.

7. Different oxidative stress marker levels in blood from the operated knee or the antecubital vein in patients undergoing knee surgery: a tourniquet-induced ischemia-reperfusion model / J. Garcia-de-la-Asuncion, A. Perez-Solaz, M. Carrau et al. // Redox Report. – 2013. – Vol. 17, № 5. – P. 194-199.

8. Реперфузійний синдром після реваскуляризації ішемії нижніх кінцівок / Генік С. М., Симчич А. В. // Серце і судини. – 2016. – № 3 – С. 104-108.

9. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. – Житомир: Полісся, 2011. – 288 с.

10. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы

экспериментальных животных / под ред. В. Г. Макарова, М. Н. Макаровой. – СПб. : Изд-во "Лема". – 2013. – 116 с.

11. Neural Networks for Pattern Recognition / Bishop C. M. – Oxford : Oxford University Press, 1995. – 504 p.

### References.

1. Mintser, O. P., Zaliskyi, V. M. (2019). Transformuvannya znan z aterohenezu: vykorystannia nanoasotsiiiovanykh biotekhnolohii i merezhevoho analizu. [Transformation of knowledge of atherogenesis: the use of nano associated biotechnologies and network analysis]. *Medychna informatyka ta inzheneriia*, 1, 4-24. [In Ukrainian].

2. Vakulenko, D. V., Martseniuk, V. P., Vakulenko, L. O. et al. (2019). Cardiovascular system adaptability to exercise according to morphological, temporal, spectral and correlation analysis of oscillograms. *Family Medicine & Primary Care Review*, 21 (3), 253-263.

3. Epstein, R. M., Franks, P., Fiscella, K. et al. (2005). Measuring patient-centered communication in patient-physician consultations: theoretical and practical issues. *Soc. Sci. Med.*, 61, 1516-1528.

4. Selskyi, P. R., Vakulenko, D. V., Televiak, A. T., Veresiuk, T. O. (2018). 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*, 20 (2), 171-5.

5. Wu, M.-Y., Yiang, G.-T., Liao, W.-T., Tsai, A. P.-Y. et al. (2018). Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol. Biochem*, 46, 1650-1667.

6. Khomenko, I. P., Korol, S. O., Matviichuk, B. V. (2018). Klinichno-orhanizatsiini osoblyvosti nadannia travmatolohichnoi dopomohy poranenym iz defektamy miakyykh tkanyyn pry vohnepalnykh ta minnovybukhovyykh ushkodzhenniakh kintsivok. [Clinical and organizational peculiarities of traumatological care for the injured with soft tissue defects in inflammatory and mine-explosive injuries of the extremities]. *Travma*, 19 (5), 125-9. [In Ukrainian].

12. Clustering: A neural network approach / Du K. L. // *Neural network*. – 2010. – Vol. 23, № 1. – P. 89–107.

7. Garcia-de-la-Asuncion, J., Perez-Solaz, A., Carrau, M. et al. (2013). Different oxidative stress marker levels in blood from the operated knee or the antecubital vein in patients undergoing knee surgery: a tourniquet-induced ischemia-reperfusion model. *Redox Report*, 17 (5), 194-199.

8. Henyk, S. M., Symchych, A.V. (2016). Reperfuziinyi syndrom pislia revaskularyzatsii ishemii nyzhnikh kintsivok [Reperfusion syndrome after revascularization of ischemia of the lower extremities]. *Heart and vessels*, 3, 104-108.

9. Horalskyi, L. P., Khomych, V. T., Kononskyi, O. I. (2011). Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii. [Fundamentals of histological technique and morphofunctional methods of research in normal and pathology]. Polissia, Zhytomyr: 288. [In Ukrainian].

10. Makarova, V. H., Makarova, M. N. (2013). Spravochnik. Fiziolohicheskiie, biochimicheskiie i biometricheskiie normy eksperimentalnykh zhyvotnykh. [Directory. Physiological, biochemical and biometric parameters of the norm of experimental animals]. Lema Publishing House, 116. [In Russian].

11. Bishop, C. M. (1995). Neural Networks for Pattern Recognition. Oxford: Oxford University Press, 504.

12. Du, K. L. (2010). Clustering: A neural network approach. *Neural network*, 23 (1), 89-107.

### ORCID:

Petro R. Selskyi: 0000-0001-9778-2499

Anatolii T. Televiak: 0000-0001-7173-400X

Taras O. Veresiuk

Boryslav P. Selskyi: 0000-0001-6787-4843

Vitaly I. Lutsyk