

УДК 579.61: 618.15–002:616-093–/098

DOI 10.54229/2226-2008-2022-1-2-3

О. А. Грузевський, Т. Л. Гридїна, А. В. Дубїна, К. В. Радкевич, А. М. Табуліна, Г. Ю. Шевчук

ПРОГНОЗУВАННЯ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ДИСБІОЗУ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 579.61: 618.15–002:616-093–/098

О. А. Грузевський, Т. Л. Гридїна, А. В. Дубїна, К. В. Радкевич, А. М. Табуліна, Г. Ю. Шевчук
ПРОГНОЗУВАННЯ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ДИСБІОЗУ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ
Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

Захворювання, пов'язані з бактеріальним вагінозом, призводять до хронічних запальних процесів внутрішніх статевих органів, розвитку спайкових процесів органів малого тазу, неплідності, самовільним перериванням вагітності на різних термінах, а також розвитку злоякісних новоутворень. Вагінальна мікрофлора є індикатором стану здоров'я жінки, що реагує на зміни гормонального та імунологічного статусу при різних патологічних станах. З метою прогнозування розвитку дисбіозу була розроблена та побудована лінійна нейронна мережа модель для визначення ступеню важкості дисбіозу за показниками гуморальних факторів імунітету, до якої увійшло визначення рівнів компоненту комплексу С4 та γ -інтерферону у вагінальному секреті, а також вміст у крові циркулюючих імунних комплексів та фактору некрозу пухлин α . Показник згоди каппа Коена свідчить про адекватність побудованої моделі. Створено інтерфейс експертної системи прогнозування ступеня важкості дисбіозу за показником гуморальних факторів.

Ключові слова: нормобіота, бактеріальний вагіноз, лінійна нейронна мережа модель для визначення ступеню важкості дисбіозу.

UDC 579.61: 618.15–002:616-093–/098

О. А. Hryzevskiy, T. L. Hrydina, A. V. Dubina, K. V. Radkevich, A. M. Tabulina, H. Yu. Shevchuk
PREDICTION OF THE DYSBIOSIS DEVELOPMENT RISK ACCORDING TO HUMORAL IMMUNITY INDICATORS

Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Diseases associated with bacterial vaginosis lead to chronic inflammatory processes of the internal genitals, the development of adhesions of the pelvic organs, infertility, spontaneous abortion at different times, as well as the development of malignant neoplasms. Vaginal microflora is an indicator of a woman's health, which can form changing in hormonal and immunological status during various pathological conditions.

The aim of the study was to create a system for prediction of the dysbiosis development according to the levels of nonspecific humoral factor of immune defense.

Materials and methods. The study was performed in 298 women aged 16 to 64 years, 53 of whom were diagnosed with normocenosis, and 245 have dysbiosis. Women were divided into 3 groups according to age. Regression analysis was used.

Research results and their discussion. Our previous research have shown a correlation between increased levels of anti-inflammatory cytokines in the blood and vaginal secretions with the stage of dysbiosis. A logistic regression model was constructed during the study, which showed that the risk of developing dysbiosis in terms of normobiota increases with increasing levels of interleukin 2 in the blood, tumor necrosis factor α . Significant features of the three-factor model for predicting the risk of developing dysbiosis (IL2, IL4 and TNF α) were selected by the method of genetic algorithm. The levels of these indicators in the blood were related to the severity of dysbiosis according to the results of discriminant analysis.

Conclusions. Thus, a linear neural network model was developed for determination of dysbiosis severity according to the levels of nonspecific humoral factors of immune defense such as the C4 component of the complement system and γ -interferon in vaginal secretions, as well as the amount of circulating immune complexes and tumor necrosis factor α in the blood. Kappa Cohen's agreement for this model on the training set was 0.87 (95% CI 0.82-0.91), and on the confirmatory set was 0.89 (95% CI 0.77-1.00). These indicators show the adequacy of the constructed model. The interface of the expert system for the dysbiosis severity prediction has been created.

Key words: normobiota, bacterial vaginosis, linear neural network model for determination of the dysbiosis severity, humoral factor of immune defense.

Вступ. Захворювання сечостатевих органів, спричинені патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами, що певною мірою пов'язані з дисбіозом цих органів, залишаються нагальною проблемою сучасних дерматовенерології, гінекології та урології [1–3]. Захворювання, викликані умовно-патогенними мікроорганізмами, характеризуються надзвичайно високою поширеністю, можливістю розвитку тяжких усклад-

нень, особливо тих, що впливають на репродуктивну функцію людини, а також резистентністю до лікування [4]. Крім того, певні труднощі виникають при діагностиці таких інфекцій. Ускладнення, пов'язані з бактеріальним вагінозом (БВ), включають хронічні запальні процеси внутрішніх статевих органів, розвиток спайкових процесів органів малого тазу, неплідність, самовільне переривання вагітності на різних термінах, а також розвиток злоякісних новоутворень [5; 6]. Однак культуральне дослідження вагінальних виділень з кількісною оцінкою основних показників мікробіоце-

нозу не знайшло широкого поширення в зв'язку з його високою вартістю, трудоємністю, а також відсутністю єдиного методичного підходу. У більшості випадків діагностика і лікування ґрунтуються на виявленні основного збудника без врахування кількісних критеріїв, не проводиться мікробіологічний контроль ефективності лікування, ступеню порушень нормальної мікрофлори і термінів її відновлення [7; 2]. Вагінальна мікрофлора є індикатором стану здоров'я жінки, представляючи собою динамічну систему, що реагує на зміни гормонального та імунологічного статусу при різних патологічних станах. Нормальна мікрофлора піхви поділяється на облігатну (резидентну, індигенну), факультативну і транзиторну [8; 9].

Метою дослідження було розробити систему прогнозування розвитку дисбіозу за показником нормобіоти.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводились у 298 жінок у віці від 16 до 64 років, у 53 з яких був встановлений діагноз нормоценоз, а у 245 – дисбіоз. Жінки були розділені за віком на 3 групи. Застосовано регресійний аналіз – метод виявлення впливу однієї або кількох незалежних (чинникових) змінних на залежну від них змінну (результативну).

Результати дослідження та їх обговорення. Наші попередні дослідження показали кореляцію між підвищенням рівня протизапальних цитокінів в крові та вагінальному секреті від стадії розвитку дисбіозу [10]. В процесі даного дослідження була побудована логістична модель регресії, яка показала, що ризик розвитку дисбіозу за показником нормобіоти (ПНБ) статистично значуще ($p=0,002$) підвищується при підвищенні рівня в крові IL2 (ВШ=1,22; 95% ВІ 1,08-1,39), на кожну одиницю виміру (нг/мл). Встановлено також підвищення

($p=0,001$) ризику розвитку дисбіозу за ПНБ при підвищенні рівня в крові TNF α (ВШ=1,11; 95% ВІ 1,04-1,18), на кожну одиницю виміру (нг/мл). Для визначення ступеню тяжкості дисбіозу за показником ПНБ була побудована лінійна нейромережева модель, до якої увійшли показники рівня компоненту комплексу С4 та γ -інтерферону (γ - INF) у вагінальному секреті, а також вміст у крові циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та фактору некрозу пухлин (TNF α). Показник згоди каппа Коена для цієї моделі на навчальній множині склав $k=0,87$ (95% ВІ 0,82-0,91), на підтверджувальній множині $k=0,89$ (95% ВІ 0,77-1,00), що свідчило про адекватність побудованої моделі. Таким чином було створено інтерфейс експертної системи прогнозування ступеня тяжкості дисбіозу за ПНБ.

На першому етапі аналізу в якості результуючої ознаки розглядався ПНБ (змінна Y), при цьому у разі нормоценозу змінна Y набувала значення Y=0, у разі дисбіоза I або II ступеню змінна Y набувала значення Y=1.

Такий аналіз було проведено для результатів обстеження 298 пацієток, з яких у 53 був встановлений діагноз нормоценоз, а у 245 – дисбіоз.

В якості факторних ознак при первинному аналізі було піддано 58 показників (таблиця 1).

Для перевірки якості прогнозування моделі усі спостереження (з використанням генератора випадкових чисел) були розділені в три множини: навчальна (використовувалося для розрахунку параметрів моделі, 248 випадків), контрольна (використовувалося для контролю перенавчання моделі, 20 випадків), підтверджувальна множина (використовувалося для перевірки адекватності моделі при прогнозуванні на нових даних, 30 випадків).

Таблиця 1

Вхідні ознаки первинного аналізу показників колоніальної резистентності піхви, імунної системи та системи гормональної регуляції

X1	Вік	X20	IL10	X39	CD22
X2	День МЦ	X21	TNF α	X40	ФАЛ
Показники ВС:		X22	TGF-1 β	X41	Ін. ФАЛ
X3	IgM	X23	pH	X42	ЦІК
X4	IgA	Показники у крові:		X33	С3
X5	IgG	X24	ФСГ	X44	С4
X6	IgG _s	X25	ЛГ	X45	γ -INF
X7	sIgA	X26	E _s	X46	IL1 β
X8	Лізоцим	X27	ПГ	X47	IL2
X9	ФАЛ	X28	ТС	X48	IL4
X10	Ін. ФАЛ	X29	КР	X49	IL6
X11	ІК	X30	ПРЛ	X50	IL8
X12	С3	X31	T ₃ віль.	X51	IL10
X13	С4	X32	T ₄ віль.	X52	TNF α
X14	γ -INF	X33	Лц	X53	TGF-1 β
X15	IL1 β	X34	CD16	X54	IgM
X16	IL2	X35	CD3	X55	IgA
X17	IL4	X36	CD4	X56	IgG
X18	IL6	X37	CD8	X57	IgG _s
X19	IL8	X38	ІРІ	X58	sIgA

Примітки: МЦ – менструальний цикл; ВС – вагінальний секрет; Ін. ФАЛ – індекс ФАЛ; T₃ віль. – вільний T₃; T₄ віль. – вільний T₄; Лц – лімфоцити] підтверджувальній множині статистично значною мірою не розрізнялися ($p=0,15$ і $p>0,99$, відповідно, при порівнянні за критерієм χ^2), що свідчить про адекватність побудованої моделі.

На повному наборі з 58 факторних ознак була побудована і навчена лінійна нейромережева модель. Чутливість моделі, побудованої на повному наборі факторних ознак на навчальній множині, склала 99,4% (95% ВІ 97,6%-100%), специфічність – 100% (95% ВІ 97,7%-100%), на підтверджувальній множині чутливість моделі склала 100% (95% ВІ 88,8%-100%), специфічність – 100% (95% ВІ 87,3%-100%). Як бачимо, чутливість і специфічність на навчальній і підтверджувальній множинах статистично значною мірою не розрізнялися ($p=0,15$ і $p>0,99$, відповідно, при порівнянні за критерієм χ^2), що свідчить про адекватність побудованої моделі.

Для виявлення чинників, найбільшою мірою пов'язаних з ризиком дисбіозу за ПНБ, був проведений відбір значимих ознак з використанням методу генетичного алгоритму. В результаті було відібрано три факторних ознаки: рівні у крові ІL2 (X47), ІL4 (X48) і TNF α (X52).

На виділеному наборі трьох факторних ознак була побудована і навчена лінійна нейромережева модель. Чутливість лінійної нейромережевої моделі, побудованої на трьох факторних ознаках на навчальній множині склала 80,5% (95% ВІ 74,1%-86, 2%), специфічність – 82,1% (95% ВІ 73,1%-89,6%), на підтверджувальній множині чутливість моделі склала 81,3% (95% ВІ 57,1%-96,7%), специфічність – 92,9% (95% ВІ 71,9%-100%). Чутливість і специфічність на навчальній і підтверджувальній множинах статистично значуще не розрізнялися ($p=0,80$ і $p=0,54$, відповідно, при порівнянні за критерієм χ^2), що свідчило про адекватність цієї моделі.

Для виявлення можливих нелінійних зв'язків факторних ознак з ризиком розвитку дисбіозу за ПНБ на виділеному наборі ознак була також побудована нелінійна нейромережева модель (типу багатoshаровий персептрон) прогнозування. Архітектура моделі представлена на рисунку 1.

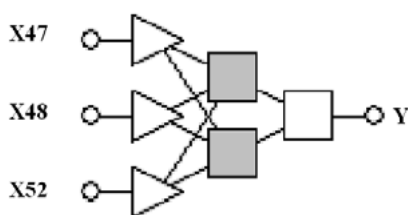


Рис. 1. Архітектура нелінійної нейромережевої моделі прогнозування ризику розвитку дисбіозу за ПНБ (трикутниками позначені нейрони вхідного шару, сірими квадратами – нейрони прихованого шару, білим квадратом – нейрон вихідного шару)

Після оптимізації порогу прийняття/відкидання моделі було отримано наступне: чутливість цієї моделі на навчальній множині склала 100% (95% ВІ 98,8%-100%), специфічність – 69,0% (95% ВІ 58,6%-78, 6%), а на підтверджувальній множині чутливість моделі склала 100% (95% ВІ 88,8%-100%), специфічність – 85,7% (95% ВІ 60,8%-99, 0%).

Таким чином, чутливість і специфічність як на навчальній, так і на тестовій множинах статистично

значуще не розрізнялися ($p>0,99$ і $p=0,34$, відповідно, при порівнянні за критерієм χ^2), що свідчило про адекватність побудованої моделі.

Для прогностичних характеристик моделей використовувався метод побудови кривих операційних характеристик (ROC- кривих – Receiver Operating Characteristic Curve) моделей (рис. 2).

При проведенні аналізу площа під ROC-кривою лінійної нейромережевої моделі, яка побудована на усіх 58 факторних ознаках, AUC1=1,00 (95% ВІ 0,99-1,00), статистично значуще ($p<0,001$) відрізнялася від 0,5. Площа під ROC-кривою лінійної нейромережевої моделі, яка побудована на трьох виділених факторних ознаках AUC2=0,92 (95% ВІ 0,88-0,95), статистично значуще ($p<0,001$) відрізнялася від 0,5. Площа під ROC-кривою нелінійної нейромережевої моделі, яка побудована на трьох виділених факторних ознаках AUC3=0,92 (95% ВІ 0,88-0,95), статистично значуще ($p<0,001$) відрізнялася від 0,5.

Для виявлення сили і спрямованості впливу трьох виділених факторних ознак була побудована логістична модель регресії; модель виявилася адекватною ($\chi^2=221,4$ при $p<0,001$). Результати аналізу коефіцієнтів наведені в таблиці 2.

З аналізу коефіцієнтів логістичної моделі регресії виходить, що ризик розвитку дисбіозу за ПНБ статистично значуще ($p=0,002$) підвищується при підвищенні рівня в крові ІL2 (ВШІ=1,22; 95% ВІ 1,08-1,39), на кожному одиницю виміру (нг/мл). Встановлено також підвищення ($p=0,001$) ризику розвитку дисбіозу за ПНБ при підвищенні рівня в крові TNF α (ВШІ=1,11; 95% ВІ 1,04-1,18), на кожному одиницю виміру (нг/мл).

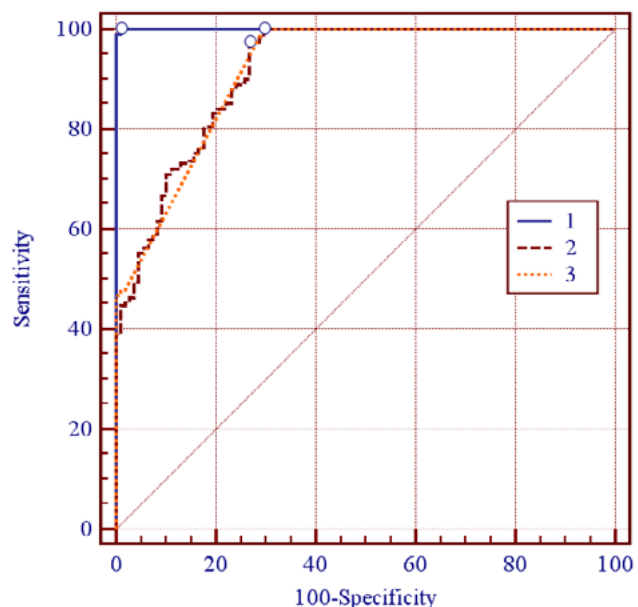


Рис. 2. ROC-криві моделей прогнозування ризику дисбіозу за ПНБ; 1 – модель, побудована на усіх 58 факторних ознаках; 2 – лінійна нейромережева модель, побудована на трьох виділених факторних ознаках, 3 – нелінійна нейромережева модель, побудована на трьох факторних ознаках

Коефіцієнти трьохфакторної моделі прогнозування ризику розвитку дисбіозу за показником нормобіоти (логістична регресійна модель)

Факторна ознака	Значення коефіцієнтів моделі прогнозування, $b \pm m$	Рівень значущості відмінностей від 0	ВШ (95% ВІ ВШ)
X47	0,20 \pm 0,07	0,002*	1,22 (1,08-1,39)
X48	-0,31 \pm 0,17	0,070	–
X52	0,10 \pm 0,03	0,001*	1,11 (1,04-1,18)

Примітки: ВШ – відношення шансів; ВІ – вірогідний інтервал.

Отже, ризик розвитку дисбіозу за ПНБ можна було розрахувати у нелінійній нейромережевій моделі прогнозування ризику розвитку дисбіозу, виходячи з рівнів у крові (пг/мл) IL2, IL4 і TNF α . Раніше ці параметри обговорювалися при аналізі стану імунної системи при дисбіозі [10]. Було встановлено, що рівень у крові всіх прозапальних цитокінів, до яких належать IL2 і TNF α , збільшувався відповідно до поглиблення ступеню дисбіозу, та сягав максимуму при БВ. Тобто показники IL2 і TNF α при дисбіозі підвищувались у 3,6 рази у порівнянні з ростом у 3,0 рази при нормоценозі ($p < 0,001$). Цікаво, що учасники логістичної моделі за ступенем приросту зайняли останні місця у рейтингу приросту рівня прозапальних цитокінів у крові: IL1 β > IL6 > IL8 > TNF α > IL2. При цьому було показано, що активація «інтерлейкінового каскаду» мала як системний, так і локальний характер, причому системний (за приростом рівнів) виявився у 1,5-2 рази більш значимим.

У крові рівень IL4 знижувався по підгрупах відповідно до стадії дисбіозу, що максимальною мірою було виражене при БВ (у 5,5 рази). Загалом рівень прозапальних цитокінів, на противагу прозапальним, при розвитку БВ різко знижувався, причому не тільки у крові, а й у вагінальному секреті. Може саме тому, рівень значущості відмінностей від 0 коефіцієнту логістичної моделі регресії для факторної ознаки X48 (IL4) виявився статистично не значущим ($p=0,07$).

За результатами дискримінантного аналізу рівні у крові IL2, IL4 і TNF α мали зв'язок з розподілом на групи, тобто – із ступенем важкості дисбіозу (відповідно, $F=10,7$; $F=23,6$ і $F=14,2$; $p < 0,001$).

Всі ці факти встановлювали наявність значущого зв'язку учасників трьох факторної моделі прогно-

зування ризику розвитку дисбіозу за ПНБ (IL2, IL4 і TNF α).

Але майже всі ці властивості у тій чи іншій мірі були притаманні й іншим показникам імунної системи при розвитку вагінального дисбіозу. Більш того, вочевидь, що у якості прогностичних показників можна було б очікувати залучення ефекторних чинників колоніальної резистентності піхви, які зв'язують або знищують бактеріальні антигени, такі як лізоцим, компоненти системи комплементу, sIgA, ФАЛ, CD8, CD16 та інше.

З нашої точки зору, таке становище пояснюється формуванням патологічної гормонально-імунної системи, яка активується в умовах прогресування вагінального дисбіозу та підтримує його розвиток. Саме тому показники «інтерлейкінового каскаду», які об'єктивно відображають регуляторні порушення, виходять на перший план, а БВ, відповідно до цього, можна вважати дизрегуляторною патологією. Саме порушення гормональної та імунної регуляції обумовлює прогресування дисбіозу та перехід його у БВ.

Висновки. Таким чином, була розроблена та побудована лінійна нейромережева модель для визначення ступеню тяжкості дисбіозу за показником нормобіоти, до якої увійшли рівні компоненту комплементу C4 та γ -інтерферону у вагінальному секреті, а також вміст у крові циркулюючих імунних комплексів та фактору некрозу пухлин α . Показник згоди каппа Коена для цієї моделі на навчальній множині склав $k=0,87$ (95% ВІ 0,82-0,91), на підтверджувальній множині $k=0,89$ (95% ВІ 0,77-1,00), що свідчить про адекватність побудованої моделі. Створено інтерфейс експертної системи прогнозування ступеня важкості дисбіозу за ПНБ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Луста М.В. Фемофлор скрін як метод діагностики дисбактеріозу урогенітального тракту жінок репродуктивного віку. *Хист : всеукраїнський медичний журнал молодих вчених*. 2018. Вип. 20. С. 212.
2. Ван Нань. Профілактика рецидивуючого бактеріального вагіноза на основі встановлення колонізаційної резистентності лактобактерій естивними фізическими факторами : дисс. канд. мед. наук : 14.01.01. 2017. 94 с.
3. Тертишник А.О. Стан мікробіоценозу піхви у пацієнток з неспецифічним хронічним сальпігофоритом. *Харківський національний медичний університет (м. Харків, Україна). Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2016. Т. VI, № 1(19).
4. Маланчук Л.М. Вагінальна мікробіота: як відновити баланс при дисбіозі. *Здоров'я жінчини*. 2016. № 2. С. 107–111.
5. Прилуцкая А.Б. Современные тенденции в лечении бактеріального вагіноза. *Health of Woman*. 2016. № 5(111). С. 65–66.
6. Нечипоренко Н.М. Мікробіологічні біоплівки в патогенезі резистентності та хронізації інфекцій урогенітального тракту. *Дерматовенерологія. Косметологія. Сексопатологія*. 2016. № 1, Т. 2(3).
7. Цмур О.В. Результати застосування вітчизняного синбіотику Біфіден для терапії бактеріальних вагінозів у вагітних. *Здоров'я жінчини*. 2016. № 6(112). С. 66–72.
8. Ніцович І.Р. Особливості перебігу та лікування бактеріального вагінозу у вагітних / Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет» (Україна, м. Чернівці). 2016. Т. VI, № 3(21). С. 61–64.

9. Ананьева М.М. Этиологические и патогенетические аспекты неспецифического бактериального вагиноза. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 3(108).
10. Грузевський О.А. Стан системи цитокінів при бактеріальному дисбіозі та бактеріальному вагінозі. *Science Rise: Medical Science*. 2020. Vol. 36, № 3. P. 50–56.

REFERENCES

1. Lusta MV. Femoflore screen as a method of diagnosis of dysbiosis in the urogenital tract of women of reproductive age. *Hist: All-Ukrainian medical journal of young scientists*. 2018; 20: 212 (in Ukrainian).
2. Van Nan. Prevention of a recurrent bacterial vaginosis on the basis of restoration of colonization resistance of lactobacilli by natural physical factors. *Candidate's thesis*. 2017 (in Russian).
3. Tertyshnyk AO. The stage of vaginal microbiocenosis in patients with nonspecific chronic salpidogophore. *Neonatology, surgery and perinatal medicine*. (2016): VI 1 (19) (in Ukrainian).
4. Malanchuk LM, Malanchuk SL, & Nebeso TA., Vaginal microbiota: How to restore balance with dysbiosis]. *Health of a Woman*. 2016; (2): 107-111 (in Ukrainian).
5. Prilutskaya AB, Kushch VN, & Lyanenko LA. Current trends in the treatment of bacteriological disease. *Health of Woman*. (2016); 5 (111): 65-66 (in Russian).
6. Nechyporenko NM. Microbiological biofilms in the pathogenesis of resistance and chronic infection of the urogenital tract. *Dermatovenereology. Cosmetology. Sexual Pathology*. 2016; 1-2 (3). (in Ukrainian).
7. Tsmur OV, Levchuk OB, Liashyna KV, & Boiko NV. Results of application of domestic synbiotics Bifitin for the treatment of bacterial vaginosis in pregnant women. *Women's Health*. 2016; (6): 66-72 (in Ukrainian).
8. Nitsovych IR, Semeniak AV. Features of the course and treatment of bacterial vaginosis in pregnant women. *Bukovinian State Medical University*. 2016; (3): 61-64 (in Ukrainian).
9. Ananyeva MM. Etiological and pathogenetic aspects of nonspecific bacterial vaginosis. *Zaporozhye Medical Journal*. 2018; 20 (3). (in Russian).
10. Hruzevskiy OA. The state of the cytokine system in bacterial dysbiosis and bacterial vaginosis. *Science Rise: Medical Science*. 2020; (3): 50–56 (in Ukrainian).

Надійшла до редакції 8.11.2022 р.

Прийнята до друку 30.11.2022 р.

Електронна адреса для листування tatyanagridina1207@gmail.com