

ХАРАКТЕРИСТИКА ВАГИНАЛЬНОГО МИКРОБИОМА ПАЦИЕНТОК С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Зебзева С.Ю.*, Стольников И.И., Червинец Ю.В.,
Червинец В.М.

DOI: 10.25881/20728255_2023_18_2_74

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет», Тверь

Резюме. Обоснование: Частота привычного невынашивания беременности по оценкам различных авторов составляет от 2 до 5% в общей популяции, данная патология не теряет своей актуальности в современном акушерстве. Как известно, инфекционный фактор играет весьма значимую роль в генезе привычного невынашивания. Вопрос об этиологической роли инфекции в привычном невынашивании широко дискутируется в литературе.

Цель: Анализ микробиома влагалища здоровых женщин и женщин с привычным невынашиванием беременности, а также спектра выделяемых лактобациллами газовых сигнальных молекул, играющих важную роль в поддержании здоровой жизнедеятельности организма.

Методы: Забор материала из влагалища производили стерильным тампоном на полистироловой палочке с площади 1 см² и в течение 2-х часов доставляли в бактериологическую лабораторию. Для выделения факультативно анаэробных и аэробных бактерий использовали питательные среды: Эндо агар для энтеробактерий, маннит-солевой агар (M118) для стафилококков, микрококков, для выявления лецитиназной активности — агар Бэрда-Паркера и т.д. Культивирование проводили при температуре 37 °С в течение 24–48 часов. Количество колоний выражали в лг КОЕ/мл. Продукцию газовых сигнальных молекул (H₂, O₂, N₂, CO, CH₄, CO₂, NO, H₂S) определяли с помощью метода газовой хроматографии на приборе Хроматэк-кристалл 5000.2. Количество выделенных газов измеряли в ppm.

Результаты: Спектр основного микробиома влагалища здоровых женщин в возрасте 19–23 лет представлен бактериями нормальной микробиоты родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* (эпидермальные штаммы). Условно-патогенные грибы рода *Candida*, бактероиды, золотистый стафилококк, стрептококки, микрококки, вейлонеллы, гарднереллы и актиномицеты выделялись в редких случаях. Различные штаммы лактобацилл выделялась у 91% здоровых женщин. Среди газовых молекул, продуцируемых лактобациллами, преобладают: CO₂, CO и NO. Установлены дисбиотические нарушения микробиома влагалища у небеременных женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе. Также у данной группы пациенток отмечено снижение продукции газовых сигнальных молекул: CO и NO, и повышение продукции H₂S и CH₄.

Заключение: Полученные результаты свидетельствуют о угнетении иммунного ответа у данной категории больных и необходимости коррекции дисбиотических нарушений еще на этапе прегравидарной подготовки.

Ключевые слова: вагинальный микробиом, газовые сигнальные молекулы, лактобациллы.

Обоснование

Вагинальный микробиом женщины, который содержит примерно 10% женской микробиоты, играет исключительную роль в поддержании в физиологической норме мочеполового тракта, предупреждая развитие в нем патологических изменений.

Вагинальный микробиом, содержащий не менее 50 видов микроорганизмов, находится в тесной симбиотической связи со структурными компонентами влагалища и другими биотопами микробной экологической системы, а также с функциональной активностью всей

CHARACTERISTICS OF THE VAGINAL MICROBIOME OF PATIENTS WITH HABITUAL MISCARRIAGE

Zebzeva S.Yu.*, Stolnikova I.I., Chervinets V.M.,
Chervinets Yu.V.

Tver State Medical University, Tver

Abstract. Background: The frequency of problem of habitual miscarriage is about 2–5%, it's very important in modern obstetrics. Infectious factor plays a very important role in genesis of habitual miscarriage. The question about etiology of infection is widely discussed in literature.

Aims: This article is devoted to the study of vaginal microbiome of healthy women and women with habitual miscarriage as well as to the study of the spectrum of gas signal molecules released by them, which play important role in maintaining a healthy body

Materials and methods: The sample of the material from the vagina was taken with a sterile swab on a polystyrene stick with an area of 1 cm² and within 2 hours was delivered to the bacteriological laboratory. To isolate facultatively anaerobic and aerobic bacteria, nutrient media were used: Endo agar for enterobacteria, mannitol-salt agar (M118) for staphylococci, micrococci, for detection of lecithinase activity — Baird-Parker agar, etc. Cultivation was carried out at a temperature of 37 °C for 24–48 hours. The number of colonies was expressed in lg CFU / ml. The Production of gas signaling molecules (H₂, O₂, N₂, CO, CH₄, CO₂, NO, H₂S) was determined using the gas chromatography method on the Chromatek-crystal 5000.2 instrument. The amount of gases was measured in ppm.

Results: The spectrum of the main vaginal microbiome of healthy women (19–23 years) is represented by bacteria of the normal microbiota of the genera *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* (epidermal strains). Opportunistic fungi of the genus *Candida*, Bacteroides, *Staphylococcus aureus*, Streptococci, Micrococci, *Weylonella*, *Gardnerella* and Actinomycetes were isolated in rare cases. Different strains of lactobacilli were isolated in 91% of healthy women. Lactobacilli produced the most of all the next gas molecules: CO₂, CO and NO. Dysbiotic disorders of the vaginal microbiome in non-pregnant women with a history of habitual miscarriage have been established. Also a decrease in the production of gas signaling molecules: CO and NO, and an increase in the production of H₂S and CH₄ was in this group of patients.

Conclusions: These results indicate the inhibition of the immune response in this category of patients. The correction of dysbiotic disorders is needed before pregnancy.

Keywords: vaginal microbiome, gas signaling molecules, lactobacilli.

мочеполовой системы, особенно ее иммунной и эндокринной деятельностью.

Эстрогенные гормоны способствуют насыщению эпителия гликогеном, который используют в качестве основного питательного субстрата микроорганизмы, способные к его метаболизму [1–3]. Это одна из причин доминирующего положения в составе вагинального микробиома здоровой женщины репродуктивного возраста штаммов лактобацилл, для которых гликоген является оптимальным субстратом для обеспечения жизнедеятельности.

* e-mail: snegaru1@mail.ru

Дополнительными факторами селективных преимуществ вагинальных лактобацилл по сравнению с другими микроорганизмами является высокая скорость размножения во влагалищной слизи, адгезия к поверхности эпителиоцитов с формированием биопленки, синтез перекиси водорода, лизоцима, бактериоцинов, стимуляция местного иммунитета [4]. Благодаря этим свойствам лактобациллы в процессе эволюции оказались наиболее приспособлены к колонизации влагалища и конкурентному вытеснению из него других микроорганизмов. Об этом свидетельствует высокая концентрация лактобацилл в вагинальном секрете (до 10^9 КОЕ/см³).

Помимо лактобацилл, в составе вагинального микробиома всегда присутствуют факультативные микроорганизмы. Их популяционный уровень в норме не превышает 3–4%, однако видовой состав достаточно разнообразен [1; 5]. Все эти микроорганизмы являются условно-патогенными, и при снижении активности и популяционного уровня нормальной микробиоты могут вызывать различные заболевания.

При нормальном состоянии микробиома они непродолжительно персистируют в вагинальном биотопе, не увеличивая уровень своих популяций выше 10^4 КОЕ/см³ и не вызывая патологических изменений.

Коммуникации между микроорганизмами реализуются посредством регуляторной системы, получившей название quorum sensing, в которой механизм авторегуляции развития микробных популяций осуществляется при достижении развивающейся культурой определенной плотности популяции [5]. Микроорганизмы в биопленке непрерывно обмениваются между собой сигнальными молекулами, активирующими или приостанавливающими развитие сообщества.

Цель

Целью данной работы являлся анализ состава и функциональной активности микробиома влагалища здоровых женщин и женщин с привычным невынашиванием беременности, а также выявление продукции простых сигнальных молекул у лактобацилл.

Методы

Дизайн исследования

Одномоментное наблюдательное проспективное исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения:

- небеременные женщины с привычным невынашиванием беременности на этапе прегравидарной подготовки
- небеременные женщины в возрасте от 18 до 40 лет без репродуктивных потерь.

Критерии исключения: наличие тяжелой соматической патологии, психических расстройств, инфекций, передаваемых половым путем, антифосфолипидного синдрома.

Условия проведения

Клиническая база кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО Тверского ГМУ Минздрава РФ ГБУЗ «Областной родильный дом» отделение патологии беременности, гинекологическое отделение, а также база кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии ФГБОУ ВО Тверского ГМУ Минздрава РФ.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось с 2019 по 2020 гг.

Описание медицинского вмешательства

Забор материала из влагалища производили в первую фазу менструального цикла утром до мочеиспускания стерильным тампоном на полистироловой палочке с площади 1 см² и в течение 2-х часов доставляли в бактериологическую лабораторию.

Основной исход исследования: Количество колоний выражали в lg КОЕ/мл. Идентификация осуществлялась по биохимической активности с применением API систем (bioMereux). В работе был использован программно-аппаратный комплекс Диаморф Цито (Диаморф, Россия).

Дополнительные исходы исследования: Количество выделенных газов измеряли в ppm (от англ. *parts per million*, — «частей на миллион»), млн⁻¹ или мд. $1 \text{ mg/mL} = 1000 \text{ ppm}$, $1 \text{ ppm} = 0.001 \text{ mg/mL}$.

Анализ в подгруппах:

Обследуемый контингент мы разделили на группы:

1. Основная группа — небеременные женщины, страдающие привычным невынашиванием (ПНБ) в анамнезе на этапе прегравидарной подготовки
2. Группа контроля — здоровые небеременные женщины в возрасте 19–23 лет.

Методы регистрации исходов

Для выделения факультативно анаэробных и аэробных бактерий использовали следующие среды — Эндо агар для энтеробактерий, маннит-солевой агар (M118) для стафилококков, микрококков, для выявления лецитиназной активности — агар Бэрда-Паркера, M 304 — стрептококковый агар, МРС — лактоагар, Сабуро декстроза агар — для дрожжевых грибов, Колумбия кровяной агар — для энтерококков, бацилл, а также хромогенные среды фирмы «HiMedia». Для культивирования анаэробов использовали среды бифидоагар и кровяной Шедлер агар. Анаэробные условия создавались в анаэростатах при помощи газогенераторных пакетов BBL. Культивирование проводили при температуре 37 °С в течение 24–48 часов.

Производство газовых сигнальных молекул (H₂, O₂, N₂, CO, CH₄, CO₂, NO, H₂S) определяли с помощью метода газовой хроматографии на приборе Хроматэк-кристалл 5000.2, оснащенного детектором по теплопроводности (ДТП), пламенно-ионизационным детектором (ПИД) и электронозахватным детектором (ЭЗД), подключенны-

ми последовательно, что обеспечивает одновременный анализ горючих и негорючих компонентов. ПИД используется для детекции углеродсодержащих газов (CO , CO_2 , CH_4), ЭЗД для определения NO , H_2S , H_2O , а ДТП — для H_2 , O_2 , N_2 . Разделение газовой смеси проводится на трехметровой надосадочной и капиллярной хроматографической колонках, заполненной полимером MN270, фракции 100–125 мкм. В качестве эталона для калибровочных кривых используются чистые газы (CO , CH_4 , CO_2 , N_2 , H_2S , Ar , H_2 , N_2 , NO) с объемной долей компонентов (производитель ООО «Мониторинг» Санкт-Петербург). Анализ проводится в режиме программирования температуры в течение от 6 до 15 минут.

Этическая экспертиза

Заключение этического комитета ФГБОУ ВО Тверского ГМУ МЗ России от 28.03.2019 (протокол №3): члены ЭК одобрили предоставленные документы без замечаний. Проведение исследования одобрено единогласно.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных и все расчеты производились с использованием пакетов программы IBM SPSS Statistics version 22 (Официальная лицензия от 21.02.2018 г.) и WINPEPI version 11.65 (J.H. Abramson, 2016).

Результаты

Объекты (участники) исследования

Обследовано 60 женщин фертильного возраста, которые были разделены на 4 группы:

1 группа — небеременные женщины с привычным невынашиванием беременности на этапе прегравидарной подготовки — 30 человек.

2 группа — небеременные женщины без репродуктивных потерь (группа контроля) — 30 человек.

Основные результаты исследования

В материале из влагалища 33 здоровых женщин (Рис. 1) чаще выделялись лактобациллы (63,6% выявлений), энтерококки (57,6%), бифидобактерии (48,5%). Реже выделялись эпидермальные стафилококки, пептококки (36,4%), пептострептококки (33,3%), бациллы (27,3%), грибы рода *Candida* (21,2%), бактериоиды (18,2%) и менее 10% проходило на золотистый стафилококк, стрептококки, микрококки, вейлонеллы, гарднереллы, актиномицеты.

Количество микроорганизмов варьировало (Рис. 2) от 2,2 lg КОЕ/см² у золотистого стафилококка до 6,77 lg КОЕ/см² у гарднерелл. Количество лактобацилл в среднем составляло 3,8 lg КОЕ/см², количество энтерококков, бифидобактерий, пептококков, пептострептококков, бактериоидов, микрококков, вейлонелл — более 4 lg КОЕ/см².

Микроорганизмы выделялись в ассоциации от 2-х до 6-ти, чаще лактобациллы, энтерококки, пептококки, пептострептококки, бифидобактерии, бактериоиды.

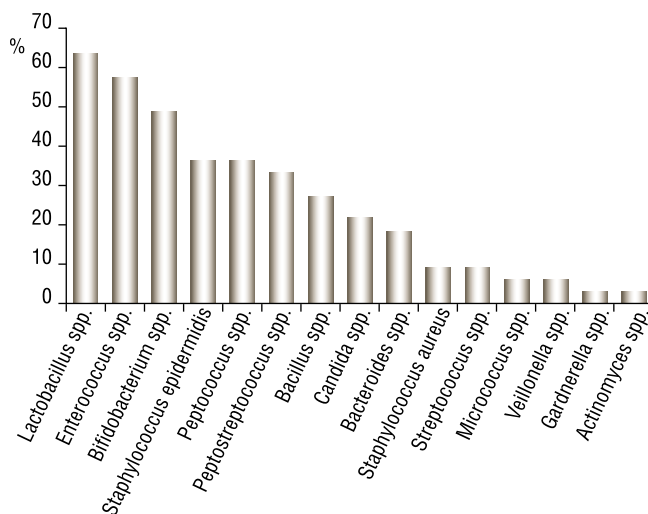


Рис. 1. Спектр и частота встречаемости микроорганизмов влагалища у здоровых девушек.

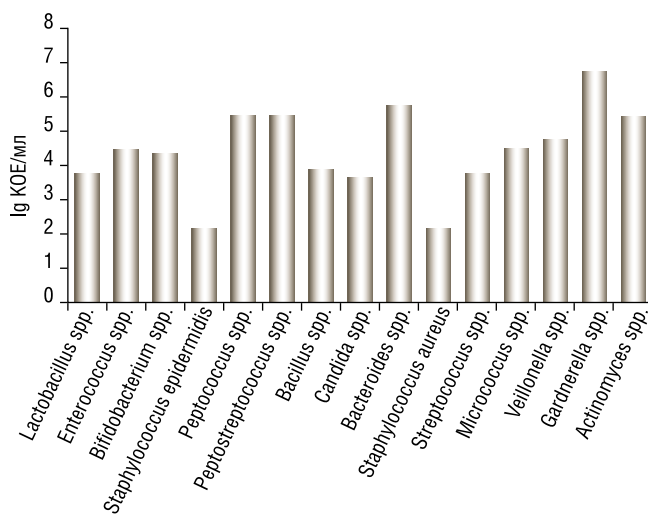


Рис. 2. Количество микроорганизмов влагалища у здоровых девушек.

Из исследуемого материала выделено 30 штаммов лактобацилл. С помощью API систем идентифицированы различные их виды: *L.rhamnosus*, *L.salivarius*, *L.acidophilus*, *L.fermentum*, *L.plantarum*, *L.buchneri*, *L.paracasei* spp.*paracasei*.

В 1-й группе небеременных с ПНБ (Рис. 3) энтерококки встречались у 60% женщин, в 40% — стрептобациллы и *Bacillus subtilis*, в 26,7% — эпидермальный стафилококк и *Klebsiella pneumoniae*, в 20% — пептострептококки, в 13,3% — кишечная палочка и вейлонеллы и в 6,7% — золотистый стафилококк, стоматококки, протей, клостридии, бактериоиды, гарднереллы и лактобациллы.

В количестве более 4 lg КОЕ/см² (от 4,02 до 6,95) выделялись *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*, пептококки, пептострептококки, клостридии, вейлонеллы, стрептобациллы и гарднереллы. В количестве ниже 4 lg КОЕ/см² (от 2,63 до 3,83) высевались

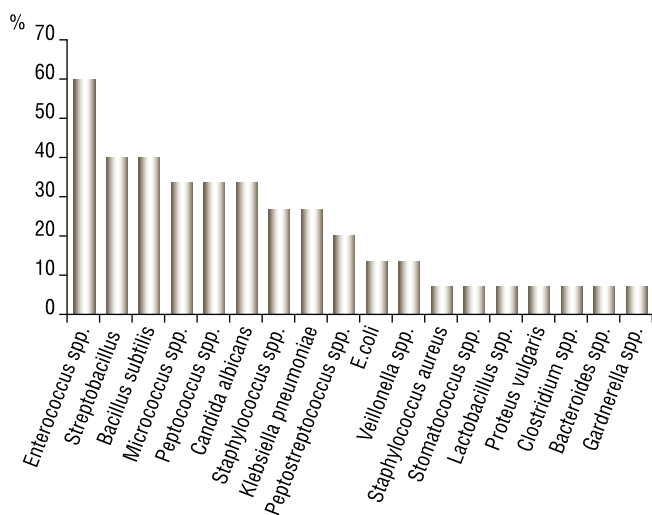


Рис. 3. Частота встречаемости микроорганизмов влагалища у небеременных женщин с ПНБ.

эпидермальный стафилококк, микрококки, энтерококки, стоматококки, бактероиды, кандиды, бациллы и лактобациллы.

Дополнительные результаты исследования

В процессе своей жизнедеятельности лактобациллы вырабатывают разнообразные газовые сигнальные молекулы, но наиболее значимыми в группе здоровых женщин были результаты по трем газам: CO_2 , CO и NO . Все выделенные штаммы лактобациллы выделяют большую концентрацию CO_2 (Me -35543 ppm), и активно потребляют O_2 (-7 ppm) и N_2 (-18 ppm).

Продукция CO была зарегистрирована у 23 штаммов лактобацилл (76,7%), Me — 218,5 ppm. У 7 штаммов (23,3%) обнаружены отрицательные результаты, т.е. они потребляют этот газ. Окись азота вырабатывают 27 штаммов лактобацилл в разных концентрациях, в основном относящимся к видам *Lactobacillus fermentum* и *L.plantarum*. У 9 штаммов (30%) концентрация NO колебалась от 100 до 23752 ppm, Me составила 3568 ppm. У 18 штаммов бактерий (60%) концентрация окиси азота варьировала от 10 до 100 ppm (в среднем 45,3 ppm), и 3 штамма этот газ не выделяли.

Продукция других газов (H_2 , CH_4 , H_2S) была очень низкой, составляя не более 3 ppm.

Что касается пациенток с привычным невынашиванием беременности, то наиболее значимые результаты были получены также по трем газовым сигнальным молекулам — CO , NO и CO_2 . Однако данные цифры оказались значительно ниже, чем в группе контроля: продукция NO составила в Me — 322 ppm, в то время как у здоровых женщин — Me 3568 ppm. Данные различия являются статистически достоверными ($p = 0,005$ Критерий Манна-Уитни 262). Также гораздо ниже оказалась продукция CO : Me — 51,3 ppm, что является статистически достоверным

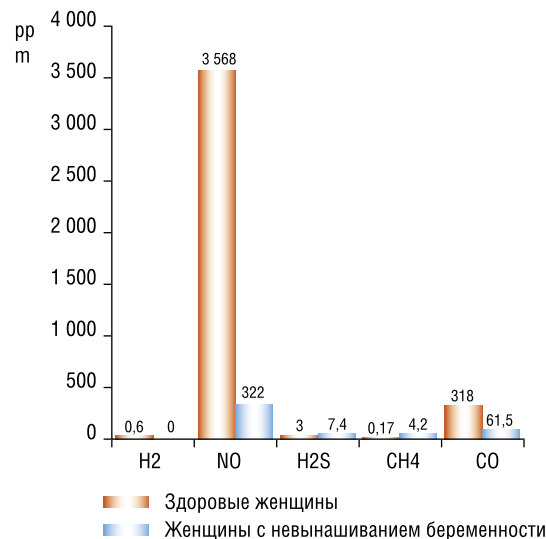


Рис. 4. Продукция газовых сигнальных молекул лактобациллами в основной и контрольной группах.

($p = 0,026$, критерий Манна-Уитни — 289). Продукция же двух других газов H_2S и CH_4 в основной группе была выше, что также является достоверным (для H_2S Me = 7,4, критерий Манна-Уитни 13,5, $p = 0,01$, для CH_4 Me = 2,81, $p < 0,0001$, критерий Манна-Уитни — 100).

За последние годы проведены многочисленные исследования, показывающие чрезвычайно важную роль данных газообразных веществ в организме человека. Так, окись азота способствует поддержанию гомеостаза сосудов, вызывая расслабление гладких мышц стенок сосудов и угнетая их рост и утолщение интимы сосудов (гипертензивное ремоделирование сосудов), а также угнетая адгезию и агрегацию тромбоцитов, адгезию лейкоцитов к эндотелию сосудов. Кроме того, данный газ секретируется фагоцитами в процессе иммунного ответа в качестве одного из свободных радикалов и является высокотоксичным для бактерий и внутриклеточных паразитов. Эндогенный угарный газ (CO) — также одна из важных эндогенных сигнальных молекул, модулирует функции ЦНС и сердечно-сосудистой системы, ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию к стенкам сосудов. Углекислый газ является одним из важнейших медиаторов ауторегуляции кровотока. Он является мощным вазодилататором, оказывает положительное хронотропное и инотропное действие на миокард, а также влияет на деятельность иммунной системы, повышает сопротивляемость организма к бактериальным и вирусным инфекциям, участвует в обмене биологически активных веществ, влияет на проницаемость клеточных мембран и активность ферментов. CO_2 регулирует возбудимость нервных клеток, стабилизирует интенсивность продукции гормонов и степень их эффективности, участвует в процессе связывания белками ионов кальция и железа [4; 7–9]. Нежелательные явления отмечены не были.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Во влагалище женщин с привычным невынашиванием беременности доминируют не лактобациллы, а энтерококки, которые встречаются в 60% случаев и более. Лактобациллы выявлялись у 27–33% пациенток. На фоне снижения содержания лактобацилл, патогенные и условно-патогенные микроорганизмы поддерживают воспалительные процессы в генитальном тракте у женщин, оказывая неблагоприятное влияние на наступление и течение беременности, приводя к развитию различных осложнений (угроза прерывания, самопроизвольный выкидыш, преждевременный разрыв плодных оболочек и преждевременные роды, плацентарные нарушения, врожденная пневмония у новорожденных и т.д.). Выявленные дисбиотические нарушения микробиома влагалища у пациенток с привычным невынашиванием беременности, (уменьшение содержания лакто- и бифидобацилл, преобладание условно-патогенных микроорганизмов), сопровождаются изменениями выделения и поглощения газовых сигнальных молекул, поддерживающих воспалительный процесс (NO, H₂S и CO).

Обсуждение основного результата исследования

Учитывая неоспоримую роль инфекционного фактора в генезе привычного невынашивания, что было доказано многочисленными работами как отечественных, так и зарубежных исследователей, а также различные осложнения гестации у данного контингента больных, выявленные нарушения требуют обязательной коррекции еще на этапе прегравидарной подготовки с использованием антибактериальной, провоспалительной терапии, с последующим применением пробиотиков и метабиотиков для восстановления и поддержания нормальной микрофлоры генитального тракта.

Ограничения исследования

Факторы, способствующие существенным образом повлиять на все этапы исследования, отсутствовали.

Заключение

Таким образом, установлено, что спектр основного микробиома влагалища здоровых женщин в возрасте 19–23 лет представлен бактериями нормальной микрофлоры родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* (эпидермальные штаммы). Условно-патогенные грибы рода *Candida*, бактериоиды, золотистый стафилококк, стрептококки, микрококки, вейлонеллы, гарднереллы и актиномицеты выделялись в редких случаях. Различные штаммы лактобацилл выделялась у 91% здоровых женщин. Среди газовых молекул, продуцируемых лактобациллами, преобладают: CO₂, CO и NO.

Установлены дисбиотические нарушения микробиома влагалища у небеременных женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе. Также у

данной группы пациенток отмечено снижение продукции газовых сигнальных молекул: CO и NO, и повышение продукции H₂S и CH₄. На фоне уменьшения встречаемости лактобацилл, которые должны обеспечивать регуляторную функцию различных сторон жизнедеятельности организма женщин, условно-патогенные бактерии своими метаболитами могут играть отрицательную роль, не только поддерживая воспалительные процессы во влагалище, но и оказывая негативное воздействие на плод. Полученные результаты свидетельствуют о угнетении иммунного ответа у данной категории больных и необходимости коррекции дисбиотических нарушений еще на этапе прегравидарной подготовки.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Анкирская А.С. Бактериальный вагиноз // Акушерство и гинекология. — 2005. — №3. — С.10-13. [Ankirkirskaya AS. Bacterial vaginosis. *Obstetrics and gynecology*. 2005; 3: 10-13. (In Russ.)]
2. Кира Е.Ф., Берлев И.В., Молчанов О.Л. Особенности течения беременности, родов и послеродового периода у женщин с дисбиотическими нарушениями влагалища // Журнал акушерства и женских болезней. — 1999. — №XLVII(2). — С.8-11. [Kira EF, Berlev IV, Molchanov OL. Features of the course of pregnancy, childbirth and the postpartum period in women with vaginal dysbiotic disorders. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 1999; XLVII(2): 8-11. (In Russ.)]
3. Плотко Е.Э., Донников А.Е., Ворошилина Е.С., Хаютин Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? // Акушерство и гинекология. — 2011. — №1. — С.66-70. [Plotko EE, Donnikov AE, Voroshilina ES, Khayutin L.V. Vaginal biocenosis from the point of view of quantitative PCR: what is the norm? *Obstetrics and gynecology*. 2011; 1: 66-70. (In Russ.)]
4. Aleshkin VA, Voropaeva EA, Shenderov BA. Vaginal microbiota in healthy women and patients with bacterial vaginosis and nonspecific vaginitis. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2006; 18: 71-74.
5. Гинцбург А.Л., Ильина Т.С., Романова Ю.М. "Quorum sensing" или социальная жизнь бактерий // Ж. микробиол., эпидемиол., иммунол. — 2003. — №5. — С.86-93. [Ginzburg AL., Ilyina TS, Romanova YuM. "Quorum sensing" or the social life of bacteria. *J. microbiol., epidemiol., immunol.* 2003; 5: 86-93. (In Russ.)]
6. Янковский Д.С., Дымент Г.С. Улучшение репродуктивного здоровья женщины путем оптимизации микробиологии пищеварительного и урогенитального тракта // Репродуктивное здоровье женщины. — 2007. — №3. — С.148-154. [Yankovsky DS, Dyment GS. Improving a woman's reproductive health by optimizing the microecology of the digestive and urogenital tract. *Reproduction. women's health*. 2007; 3:148-154. (In Russ.)]
7. Li L, Moore PK. An overview of the biological significance of endogenous gases: new roles for old molecules. *Biochemical Society Transactions. Great Britain*. 2007; 35(5): 1138-1141.
8. Wang R. Gasotransmitters: growing pains and joys. *Trends Biochemical Science*. 2014; 39(5): 227-232.
9. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology*. 2004; 256:2565-2573.
10. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Миронов А.Ю. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта. Тверь: РИЦ Твер. гос. мед. ун-та, 2016. — 214 с. [Chervinets YuV, Chervinets VM, Mironov AYU. Symbiotic relationships of lactobacilli and microorganisms of the gastrointestinal tract. Tver, 2016. 214 p. (In Russ.)]