

## ИММУНОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 612.018:616.832-004.2

doi: 10.17072/1994-9952-2023-1-76-82

### Гормональная и бактериальная регуляция фенотипических изменений врожденных лимфоидных клеток (ILC) у больных рассеянным склерозом и здоровых доноров

И. В. Некрасова<sup>1✉</sup>, Н. С. Глебездина<sup>1</sup>, И. Л. Масленникова<sup>1</sup>, И. Ю. Данченко<sup>2</sup>,  
С. В. Ширшев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

<sup>2</sup> Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ирина Валерьевна Некрасова, nirina5@mail.ru

**Аннотация.** Рассеянный склероз (РС) – это аутоиммунное нейродегенеративное заболевание, при котором иммунная система атакует собственный белок миелиновой оболочки нервных аксонов. В последнее время возрастает интерес к изучению роли в патогенезе данного заболевания недавно выделенной популяции клеток врожденного иммунитета – врожденных лимфоидных клеток (ILC). При этом установлено, что при беременности наблюдается ослабление проявлений Th1-опосредованных аутоиммунных патологий, в том числе РС. В данной работе исследовали фенотипические характеристики ILC клеток больных РС в сравнении со здоровыми донорами через 48 ч. после инкубации с гормоном беременности эстриолом (Е3) и клетками комменсальной микрофлоры. Для активации ILC использовались штаммы *Escherichia coli* K12 и *Lactobacillus plantarum* 8R-A3. Фенотип ILC оценивали методом проточной цитометрии с использованием окрашивания моноклональными антителами. Установлено, что Е3 и бактериальные факторы способны по-разному регулировать созревание подтипов ILC. В частности, клетки больных РС более подвержены гормональной модуляции, а здоровых доноров – бактериальной. В целом, исследуемые факторы оказывают влияние на фенотипические изменения ILC клеток, приводя к переходу из одного типа в другой, как у здоровых доноров, так и при РС.

**Ключевые слова:** врожденные лимфоидные клетки (ILC), рассеянный склероз, эстриол, *E. coli*, *L. plantarum*

**Для цитирования:** Гормональная и бактериальная регуляция фенотипических изменений врожденных лимфоидных клеток (ILC) у больных рассеянным склерозом и здоровых доноров / И. В. Некрасова, Н. С. Глебездина, И. Л. Масленникова, И. Ю. Данченко, С. В. Ширшев // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 1. С. 76–82. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-1-76-82>.

**Благодарности:** исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00787, <https://rscf.ru/project/22-25-00787>.

## IMMUNOLOGY

Original article

### Hormonal and bacterial regulation of innate lymphoid cells phenotypic changes in multiple sclerosis patients and healthy donors

I. V. Nekrasova<sup>1</sup>, N. S. Glebezdina<sup>1</sup>, I. L. Maslennikova<sup>1</sup>, I. Yu. Danchenko<sup>2</sup>,  
S. V. Shirshv<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Perm Federal Research Center UB RAS, Perm, Russia

<sup>2</sup> E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Corresponding author: Irina V. Nekrasova, nirina5@mail.ru

**Abstract.** Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune neurodegenerative disease in which the immune system attacks myelin basic protein of nerve axons. Recently, there has been growing interest in studying the role of a newly described population of innate immunity cells – innate lymphoid cells (ILCs) in the pathogenesis of the disease. At the same time, it was found that during pregnancy there is a weakening of Th1-mediated autoimmune pathologies manifestations, including MS. In this work, we studied phenotypic characteristics of ILC cells in MS patients in comparison with healthy donors after 48 h incubation with pregnancy hormone estriol (E<sub>3</sub>) and commensal microflora cells. To activate ILC, strains of *Escherichia coli* K12 and *Lactobacillus plantarum* 8R-A3 were used. ILC phenotype was assessed by flow cytometry using monoclonal antibody staining. It has been es-

established that E<sub>3</sub> and bacterial factors are able to regulate the maturation of ILC subtypes in different ways. In particular, MS patients' cells are more susceptible to hormonal modulation, while those of healthy donors are more susceptible to bacterial modulation. In general, the studied factors influence the phenotypic changes in ILC cells, leading to the transition from one type to another, both in healthy donors and in MS.

**Keywords:** innate lymphoid cells; multiple sclerosis; estriol; *E. coli*; *L. plantarum*

**For citacion:** Nekrasova I. V., Glebezdina N. S., Maslennikova I. L., Danchenko I. Yu., Shirshv S. V. [Hormonal and bacterial regulation of innate lymphoid cells phenotypic changes in multiple sclerosis patients and healthy donors]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2023): pp. 76-82. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-1-76-82>.

**Acknowledgments:** the work was carried out within the Russian Science Foundation project № 22-25-00787, <https://rscf.ru/project/22-25-00787>.

## Введение

Рассеянный склероз (РС) является воспалительным дегенеративным заболеванием центральной нервной системы [Dolati et al., 2017; Gharibi et al., 2015]. Несмотря на то, что этиология РС неизвестна, ясно, что аутореактивные Т-клетки управляют иммуноопосредованным нарушением миелиновой оболочки вокруг нервных аксонов, вызывая со временем неврологические потери [Jadidi-Niaragh et al., 2011]. В последнее время возрастает количество публикаций о роли в патогенезе РС недавно выделенной популяции клеток врожденного иммунитета – врожденных лимфоидных клеток (ILC) [Spits et al., 2013; Elemam et al., 2017; Ebbo et al., 2017].

ILC представляют собой группу иммунных клеток, которые обеспечивают первую линию защиты от различных патогенов, а также участвуют в восстановлении тканей и воспалении. Данные клетки характеризуются несколькими признаками, включая отсутствие антигенных рецепторов, зависящих от рекомбиназы RAG, лимфоидную морфологию, а также отсутствие миелоидных фенотипических маркеров, поэтому их называют клетками, негативными по маркеру клеточной линии (Lin<sup>-</sup>) [Neill et al., 2010]. Классификация ILC основана на факторах транскрипции и профиле продуцируемых цитокинов. При этом в основном выделяется 3 группы: ILC1, ILC2 и ILC3 [Spits et al., 2013]. ILC1 состоят из NK-клеток, а также нецитотоксических ILC1, секретирующих IFN-γ и экспрессирующих T-bet. ILC2 определяются экспрессией GATA3 и обладают способностью продуцировать цитокины Th2 типа. ILC3 экспрессируют RORγt и включают ILC3 и лимфоидные тканевые индукторы (LTi), которые секретируют IL-17 и/или IL-22 [Ebbo et al., 2017]. Данные клетки способны к взаимодействиям как с комменсальной, так и с патогенной флорой [Satoh-Takayama et al., 2008; Herpworth et al., 2015].

Известно, что частота заболеваний РС у женщин гораздо выше, чем у мужчин [Harbo H.F. et al., 2013]. При этом установлено, что при беременности наблюдается ослабление проявлений Th1-опосредованных аутоиммунных патологий, в том числе РС [Pelfrey C.M. et al., 2005; Neuteboom R.F. et al., 2012]. Учитывая, что гестационный процесс сопровождается существенной гормональной перестройкой, можно предположить, что гормоны плаценты являются теми факторами, которые ослабляют течение РС. Одним из возможных кандидатов на роль регулятора функций иммунных клеток при РС является эстриол (E<sub>3</sub>) [Sicotte, 2002; Voskuhl et al., 2016]. Его уровень возрастает с 7-й недели беременности вплоть до родов практически в 10 раз, в то время как у небеременных женщин E<sub>3</sub> продуцируется в очень малых количествах и практически не определяется. Показано, что данный гормон способен эффективно регулировать функции лейкоцитов как здоровых доноров, так и больных РС [Некрасова, Ширшев, 2013; Ширшев, Некрасова, 2011; Ширшев и др., 2017, 2018; Nekrasova, Shirshv, 2020; Soldan et al., 2003; Papenfuss et al., 2011].

Цель данной работы – исследовать фенотипические характеристики ILC клеток больных РС в сравнении со здоровыми донорами через 48 ч. после инкубации с E<sub>3</sub> и клетками комменсальной микрофлоры.

## Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали кровь больных РС, согласно модифицированным диагностическим критериям МакДональда [McDonald et al., 2021], с ремитирующим типом течения заболевания, не подвергавшихся терапии препаратами, изменяющими течение РС, а также иммуномодулирующей терапии и находящихся в стадии клинической ремиссии, и здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста.

В градиенте плотности фиколл-верографина (1.077 г/мл) выделяли мононуклеары периферической крови (МПК). Затем МПК инкубировали с E<sub>3</sub> в концентрациях, соответствующих уровням данного гормона во время I и III триместров физиологически протекающей беременности – 2 и 20 нг/мл [Kase, Rejniak, 1985], в течение 48 ч. при 37°C в условиях 5%-ного CO<sub>2</sub> в среде RPMI 1640 с добавлением 1 mM NEPES и 2 mM L-глутамина. В контрольные пробы вместо гормона вносили соответствующий растворитель.

В ряде проб для активации ILC использовались штаммы *Escherichia coli* K12 и *Lactobacillus plantarum* 8R-A3. Бактерии ( $1 \times 10^6$ ) выращивали в течение 18 ч. на LB и MRS бульоне, соответственно, при 37°C. Ночные культуры центрифугировали при 13 000 об/мин, бактерии ресуспендировали в 0.9%-ном NaCl. Срок контакта с МПК составлял 30 мин., после чего добавляли гентамицин (конечная концентрация 100 мкг/мл).

Субпопуляционный состав ILC клеток оценивали на проточном цитофлюориметре CytoFlex S («Beckman Coulter», США). Для окрашивания проб использовали моноклональные антитела («Biolegend», США): FITC anti-human Lineage Cocktail, Pacific Blue anti-human CD45, Alexa Fluor 700 anti-human CD127, PE/Сyanine7 anti-human CD117(c-kit), PE/Dazzle 594 anti-human CD294(CRTH2). Общий фенотип всех трех групп ILC определяли как CD45<sup>+</sup>Lin<sup>-</sup>CD127<sup>+</sup>. Затем в данном гейте ILC1 идентифицировали как CD117<sup>-</sup>CD294<sup>-</sup> клетки, ILC2 – CD117<sup>-</sup>CD294<sup>+</sup>, ILC3 – CD117<sup>+</sup>CD294<sup>-</sup> [Spits et al., 2013].

Статистический анализ проводили с использованием парного и непарного t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде среднего и его стандартной ошибки (M±m).

## Результаты и их обсуждение

Установлено, что после 48 ч. инкубации под действием обеих концентраций E<sub>3</sub> количество ILC1 у здоровых доноров увеличивалось, однако достоверных отличий не обнаружено. При добавлении в клеточные культуры бактерий *E. coli* и *L. plantarum* они обладали самостоятельным активирующим воздействием на уровень данных клеток, которое также сохранялось и при совместном влиянии с E<sub>3</sub> (табл. 1).

Таблица 1

**Влияние E<sub>3</sub> и бактериальных штаммов на изменение процентного соотношения ILC клеток у здоровых доноров**

[E<sub>3</sub> and bacterial strains influence on ILC percentage in healthy donors]

Воздействие	ILC1	ILC2	ILC3
Контроль	26.61±7.24	47.31±10.20	26.07±3.84
E <sub>3</sub> (2нг/мл)	31.36±7.56	46.57±10.05	22.05±3.62
E <sub>3</sub> (20нг/мл)	31.10±4.92	42.07±7.66	26.83±4.32
<i>L. plantarum</i>	49.60±8.26*	33.13±9.13	17.29±5.46
<i>L. plantarum</i> + E <sub>3</sub> (2нг/мл)	38.39±9.58	45.84±10.86	15.76±4.28*
<i>L. plantarum</i> + E <sub>3</sub> (20нг/мл)	55.28±8.06*	27.58±6.74*	17.13±2.18*
<i>E. coli</i>	41.28±10.41*	42.67±10.55	15.47±2.59*
<i>E. coli</i> +E <sub>3</sub> (2нг/мл)	45.56±8.50*	35.25±8.85	19.69±3.88
<i>E. coli</i> +E <sub>3</sub> (20нг/мл)	38.70±8.66*	43.20±9.75	18.09±1.75*

Примечание: \* – p < 0.05 по сравнению с контролем.

Процент ILC1 клеток больных РС превышал таковой у здоровых доноров более чем в 2 раза (табл. 1, 2). Под влиянием E<sub>3</sub> в концентрации, соответствующей I триместру беременности, их количество снижалось. Однако в комбинации с *E. coli* гормон в этой же дозе обладал стимулирующим эффектом на процентное соотношение данных клеток. При добавлении в культуры *L. plantarum* уровень ILC1 имел тенденцию к увеличению, однако статистически достоверного действия данный штамм бактерий не оказал (табл. 2). Поскольку ILC1 ответственны в основном за элиминацию внутриклеточных патогенов, о возможности их взаимодействия с комменсальной микрофлорой практически ничего не известно, кроме того факта, что грамотрицательные бактерии способны повышать продукцию IFN-γ данным типом клеток [Gury-BenAri et al., 2016]. В данном исследовании использовались не выделенные ILC, а МПК в целом, вследствие чего исключить влияние других клеток было невозможно, поэтому представляется вероятной активация ILC1 комменсальной микрофлорой не напрямую, а опосредованно при участии дендритных клеток, которые при бактериальном воздействии способны продуцировать IL-12, необходимый для стимуляции ILC1 [Moro, Kooyasu, 2015].

E<sub>3</sub> и оба используемых штамма бактерий не оказали статистически значимого влияния на изменение уровня ILC2 здоровых доноров. Однако совместная инкубация с E<sub>3</sub> в концентрации, соответствующей III триместру беременности, и *L. plantarum* привела к снижению количества данных клеток (табл. 1). Уровень ILC2 у больных РС был более чем в 2 раза ниже, чем у здоровых доноров (табл. 1, 2). Под воздействием E<sub>3</sub> в концентрации, соответствующей III триместру беременности, процент этих клеток увеличился (табл. 2). Штаммы *E. coli* и *L. plantarum* не оказали выраженного влияния на исследуемый параметр. Известно, что ILC2 играют потенциально протективную роль при аутоиммунном нейровоспалении, в отличие от подтипов ILC1 и ILC3 [Russi et al., 2018]. Недавно было установлено, что при аллергическом иммунном ответе агонист эстрогенового рецептора α способен повышать как количество альвео-

лярных ILC2, так и продукцию ключевого для их дифференцировки цитокина IL-33 [Cephus et al., 2021]. Возможно, E<sub>3</sub> именно при патологических условиях способен проявлять свой потенциал в отношении стимуляции ILC2.

Таблица 2

**Влияние E<sub>3</sub> и бактериальных штаммов на изменение процентного соотношения ILC клеток у больных РС**

**[E<sub>3</sub> and bacterial strains influence on ILC percentage in MS patients]**

Воздействие	ILC1	ILC2	ILC3
Контроль	56.63±6.49#	20.05±5.54#	23.32±3.86
E <sub>3</sub> (2нг/мл)	47.83±3.59*	23.45±7.91	28.72±5.80
E <sub>3</sub> (20нг/мл)	51.59±10.13	31.20±9.47*	17.18±6.66
<i>L. plantarum</i>	70.78±13.22	20.09±12.86	9.12±4.34*
<i>L. plantarum</i> + E <sub>3</sub> (2нг/мл)	62.74±15.04	24.03±17.45	13.23±5.64
<i>L. plantarum</i> + E <sub>3</sub> (20нг/мл)	57.60±12.13	26.20±14.74	16.23±6.93
<i>E. coli</i>	50.44±15.05	27.72±18.71	21.85±8.87
<i>E. coli</i> +E <sub>3</sub> (2нг/мл)	62.73±8.28*	21.23±9.21	16.06±2.45
<i>E. coli</i> +E <sub>3</sub> (20нг/мл)	62.22±14.51	24.60±11.10	13.17±4.71

Примечание: \* – p < 0.05 по сравнению с контролем; # – p < 0.05 по сравнению со здоровыми донорами.

При исследовании процентного содержания ILC3 клеток здоровых доноров установлено, что E<sub>3</sub> не влияет на их количество вне зависимости от используемой концентрации. Штамм *L. plantarum* также не обладал самостоятельным статистически достоверным эффектом, однако при совместном действии с E<sub>3</sub> (в обеих исследуемых дозах) снижал уровень данных клеток. Инкубация МПК с *E. coli* также приводила к уменьшению процента ILC3, причем данное влияние бактерий проявлялось как при самостоятельном действии на клетки, так и при совместном влиянии с E<sub>3</sub> в концентрации, соответствующей III триместру беременности (табл. 1). Уровни ILC3 клеток больных РС и здоровых доноров в контрольной пробе статистически значимо не отличались (табл. 1, 2). E<sub>3</sub> также не изменял исследуемый показатель. Наиболее выраженный угнетающий эффект выявлен при воздействии на МПК штамма *L. plantarum*. При совместном влиянии с гормоном данное действие бактерий нивелировалось, хотя тенденция к снижению количества ILC3 сохранялась. Штамм *E. coli* K12 достоверно не влиял на данный показатель, а при дополнительном воздействии E<sub>3</sub> также обнаруживалась тенденция к уменьшению числа исследуемых клеток (табл. 2). Основная роль ILC3 в норме сводится к защите кишечника от патогенных бактерий [Satoh-Takayama et al., 2008]. Кроме того, они способствуют формированию толерантности CD4<sup>+</sup> лимфоцитов к комменсальной микрофлоре [Herworth et al., 2015]. Исходя из вышесказанного, снижение количества ILC3 под воздействием симбиотической флоры, установленное в данном исследовании, кажется закономерным. При РС ILC3 клетки в основном проявляют свое негативное провоспалительное действие непосредственно в мозговых структурах, где они презентуют антигены аутоиммунным Т-лимфоцитам [Grigg et al., 2021].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что гормон беременности E<sub>3</sub> и штаммы комменсальной микробиоты способны к регуляции фенотипических изменений подтипов ILC клеток. При этом ILC1 здоровых доноров оказались наиболее чувствительны к стимуляции бактериальными штаммами, что приводит к увеличению численности данной субпопуляции. С другой стороны, эта же флора способствует снижению количества ILC3. В отношении клеток больных РС выявлен самостоятельный эффект E<sub>3</sub>, чего не наблюдалось у здоровых доноров. Поскольку показано, что ILC клетки обладают пластичностью [Dolati et al., 2017] и один подтип может переходить в другой в зависимости от условий и микроокружения, можно предположить, что E<sub>3</sub> и комменсальная микрофлора могут служить факторами регуляции данного процесса как у здоровых доноров, так и при РС.

### Список источников

1. Некрасова И.В., Ширшев С.В. Женские половые стероидные гормоны в регуляции ферментативной активности нейтрофилов // Доклады Академии наук. 2013. Т. 453, № 6. С. 690–693.
2. Ширшев С.В., Некрасова И.В. Комплексное исследование иммуномодулирующей активности эстриола // Иммунология. 2011. Т. 32, № 2. С. 72–74.
3. Ширшев С.В. и др. Участие микроРНК в гормональных механизмах регуляции функций NK-клеток // Доклады Академии наук. 2017. Т. 474, № 1. С. 123–127.
4. Ширшев С.В. и др. Гормональная регуляция дифференцировки дендритных клеток тимуса // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 165, № 2. С. 193–197.

5. Bal S.M., Golebski K., Spits H. Plasticity of innate lymphoid cell subsets // *Nature Reviews Immunology*. 2020. Vol. 20, № 9. P. 552–565.
6. Cephys J.Y. et al. Estrogen receptor- $\alpha$  signaling increases allergen-induced IL-33 release and airway inflammation // *Allergy*. 2021 Vol. 76, № 1. P. 255–268.
7. Dolati S. et al. Multiple sclerosis: Therapeutic applications of advancing drug delivery systems // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2017. Vol. 86. P. 343–353.
8. Ebbo M. et al. Innate lymphoid cells: major players in inflammatory diseases // *Nature Reviews Immunology*. 2017. Vol. 17, № 11. P. 665–678.
9. Elemam N.M., Hannawi S., Maghazachi A.A. Innate Lymphoid Cells (ILCs) as Mediators of Inflammation, Release of Cytokines and Lytic Molecules // *Toxins*. 2017. Vol. 9, № 12. P. 398.
10. Gharibi T. et al. Immunomodulatory characteristics of mesenchymal stem cells and their role in the treatment of multiple sclerosis // *Cellular Immunology*. 2015. Vol. 293, № 2. P. 113–121.
11. Grigg J.B. et al. Antigen-Presenting Innate Lymphoid Cells Orchestrate Neuroinflammation // *Nature*. 2021. Vol. 600, № 7890. P. 707–712.
12. Gury-BenAri M. et al. The spectrum and regulatory landscape of intestinal innate lymphoid cells are shaped by the microbiome // *Cell*. 2016. Vol. 166, № 5. P. 1231–1246. e13.
13. Harbo H.F., Gold R., Tintore M. Sex and gender issues in multiple sclerosis // *Archive of Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2013. Vol. 6, № 4. P. 237–248.
14. Hepworth M.R. et al. Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4<sup>+</sup> T cells // *Science*. 2015. Vol. 348, № 6238. P. 1031–1035.
15. Jadidi-Niaragh F., Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis // *Scandinavian Journal of Immunology*. 2011. Vol. 74, № 1. P. 1–13.
16. Kase N.G., Reyniak J.V. Endocrinology of pregnancy // *Mount Sinai Journal of Medicine* 1985. Vol. 52, № 1. P. 11–34.
17. McDonald W.I. et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for the International Panel on diagnosis of multiple sclerosis // *Annals of Neurology*. 2001. Vol. 50, № 1. P. 121–127.
18. Moro K., Koyasu S. Innate lymphoid cells, possible interaction with microbiota // *Seminars in Immunopathology*. 2015. Vol. 37, № 1. P. 27–37.
19. Nekrasova I., Shirshov S. Estriol in regulation of cell-mediated immune reactions in multiple sclerosis // *Journal of Neuroimmunology*. 2020. Vol. 349(7). P. 577421.
20. Neill D.R. et al. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity // *Nature*. 2010. Vol. 464, № 7293. P. 1367–1370.
21. Neuteboom R.F. et al. Pregnancy in multiple sclerosis: clinical and self-report scales // *Journal of Neurology*. 2012. Vol. 259. P. 311–317.
22. Papenfuss T.L. et al. Estriol generates tolerogenic dendritic cells in vivo that protect against autoimmunity // *Journal of Immunology*. 2011. Vol. 186, № 6. P. 3346–3355.
23. Pelfrey C.M. et al. Effects of sex hormones on costimulatory molecule expression in multiple sclerosis // *Journal of Neuroimmunology*. 2005. Vol. 167, № 1–2. P. 190–203.
24. Russi A.E. et al. Male-Specific IL-33 Expression Regulates Sex-Dimorphic EAE Susceptibility // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018. Vol. 115, № 7. P. E1520–E1529.
25. Satoh-Takayama N. et al. Microbial flora drives interleukin 22 production in intestinal NKp46<sup>+</sup> cells that provide innate mucosal immune defense // *Immunity*. 2008. Vol. 29, № 6. P. 958–970.
26. Sicotte N.L. et al. Treatment of multiple sclerosis with the pregnancy hormone estriol // *Annals of Neurology*. 2002. Vol. 52, № 4. P. 421–428.
27. Soldan S.S. et al. Immune modulation in multiple sclerosis patients treated with the pregnancy hormone estriol // *Journal of Immunology*. 2003. Vol. 171. P. 6267–6274.
28. Spits H. et al. Innate lymphoid cells—a proposal for uniform nomenclature // *Nature Reviews Immunology*. 2013. Vol. 13, № 2. P. 145–149.
29. Voskuhl R.R. et al. Estriol combined with glatiramer acetate for women with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial // *Lancet Neurology*. 2016. Vol. 15, № 1. P. 35–46.

## References

1. Nekrasova I.V., Shirshov S.V. Female sex steroid hormones in regulation of neutrophil enzymatic activity. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. V. 453, No 1 (2013): pp. 312–315.
2. Shirshov S.V., Nekrasova I.V. [The complex study of estriol immunomodulating activity]. *Immunologiya*. V. 32, No 2 (2011): pp. 72–74. (In Russ.).
3. Shirshov S.V., Nekrasova I.V., Gorbunova O.L., Orlova E.G., Maslennikova I.L. MicroRNA in hormonal mechanisms of regulation of NK cell function. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. V. 474, No 1 (2017): pp. 168–172.

4. Shirshv S.V., Orlova E.G., Loginova O.A., Nekrasova I.V., Gorbunova O.L., Maslennikova I.L. Hormonal regulation of dendritic cell differentiation in the thymus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. V. 165, No 2 (2018): pp. 230-234.
5. Bal S.M., Golebski K., Spits H. Plasticity of innate lymphoid cell subsets. *Nature Reviews Immunology*. V. 20, No 9 (2020): pp. 552-565.
6. Cephus J.Y., Gandhi V.D., Shah R., Brooke Davis J., Fuseini H., Yung J.A. et al. Estrogen receptor- $\alpha$  signaling increases allergen-induced IL-33 release and airway inflammation. *Allergy*. V. 76, No 1 (2021): pp. 255-268.
7. Dolati S., Babaloo Z., Jadidi-Niaragh F., Ayromlou H., Sadreddini S., Yousefi M. Multiple sclerosis: Therapeutic applications of advancing drug delivery systems. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. V. 86 (2017): pp. 343-353.
8. Ebbo M., Crinier A., Vely F., Vivier E. Innate lymphoid cells: major players in inflammatory diseases. *Nature Reviews Immunology*. V. 17, No 11 (2017): pp. 665-678.
9. Elemam N.M., Hannawi S., Maghazachi A.A. Innate Lymphoid Cells (ILCs) as Mediators of Inflammation, Release of Cytokines and Lytic Molecules. *Toxins*. V. 9, No 12 (2017). P. 398.
10. Gharibi T., Ahmadi M., Seyfizadeh N., Jadidi-Niaragh F., Yousefi M. Immunomodulatory characteristics of mesenchymal stem cells and their role in the treatment of multiple sclerosis. *Cellular Immunology*. V. 293, No 2 (2015): pp. 113-121.
11. Grigg J.B., Shanmugavadivu A., Regen T., Parkhurst C.N., Ahmed A., Joseph A.M. et al. Antigen-Presenting Innate Lymphoid Cells Orchestrate Neuroinflammation. *Nature*. V. 600, No 7890 (2021): pp. 707-712.
12. Gury-BenAri M., Thaïss C.A., Serafini N., Winter D.R., Giladi A., Lara-Astiaso D. et al. The spectrum and regulatory landscape of intestinal innate lymphoid cells are shaped by the microbiome. *Cell*. V. 166, No 5 (2016): pp.1231-1246.e13.
13. Harbo H.F., Gold R., Tintore M. Sex and gender issues in multiple sclerosis. *Archive of Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. V. 6, No 4 (2013): pp. 237-248.
14. Hepworth M.R., Fung T.C., Masur S.H., Kelsen J.R., McConnell F.M., Dubrot J. et al. Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4<sup>+</sup> T cells. *Science*. V. 348, No 6238 (2015): pp. 1031-1035.
15. Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis. *Scandinavian Journal of Immunology*. V. 74, No 1 (2011): pp. 1-13.
16. Kase N.G., Reyniak J.V. Endocrinology of Pregnancy. *Mount Sinai Journal of Medicine*. V. 52, No 1 (1985): pp. 11-34.
17. McDonald W.I., Compston A., Edan G., Goodkin D., Hartung H.P., Lublinet F.D. et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for the International Panel on diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of Neurology*. V. 50, No 1 (2001): pp. 121-127.
18. Moro K., Koyasu S. Innate lymphoid cells, possible interaction with microbiota. *Seminars in Immunopathology*. V. 37, No 1 (2015): pp. 27-37.
19. Nekrasova I., Shirshv S. Estrinol in regulation of cell-mediated immune reactions in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. V. 349(7) (2020): P. 577421.
20. Neill D.R., Wong S.H., Bellosi A., Flynn R.J., Daly M., Langford T.K.A. et al. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature*. V. 464, No 7293 (2010): pp. 1367-1370.
21. Neuteboom R.F., Janssens A.C.J.W., Siepmann T.A.M., Hoppenbrouwers I.A., Ketelslegers I.A., Jafari N. et al. Pregnancy in multiple sclerosis: clinical and self-report scales. *Journal of Neurology*. V. 259 (2012): pp. 311-317.
22. Papenfuss T.L., Powell N.D., McClain M.A., Bedarf A., Singh A., Gienapp I.E. et al. Estrinol generates tolerogenic dendritic cells in vivo that protect against autoimmunity. *Journal of Immunology*. V. 186, No 6 (2011): pp. 3346-3355.
23. Pelfrey C.M., Moldovan I.R., Coteleur A.C., Zamor N., Rudick R.A. Effects of sex hormones on costimulatory molecule expression in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. V. 167, No 1-2 (2005): pp. 190-203.
24. Russi A.E., Ebel M.E., Yang Y., Brown M.A. Male-Specific IL-33 Expression Regulates Sex-Dimorphic EAE Susceptibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. V. 115, No 7 (2018): pp. E1520-E1529.
25. Satoh-Takayama N., Vosshenrich C.A., Lesjean-Pottier S., Sawa S., Lochner M., Rattis F. et al. Microbial flora drives interleukin 22 production in intestinal NKp46<sup>+</sup> cells that provide innate mucosal immune defense. *Immunity*. V. 29, No 6 (2008): pp. 958-970.
26. Sicotte N.L., Liva S.M., Klutch R., Pfeiffer P., Bouvier S., Odesa S. et al. Treatment of multiple sclerosis with the pregnancy hormone estrinol. *Annals of Neurology*. V. 52, No 4 (2002): pp. 421-428.

27. Soldan S.S., Alvarez-Retuerto A.I., Sicotte N.L., Voskuhl R.R. Immune modulation in multiple sclerosis patients treated with the pregnancy hormone estriol. *Journal of Immunology*. V. 171 (2003): pp. 6267-6274.

28. Spits H., Artis D., Colonna M., Diefenbach A., Di Santo J.P., Eberl G. et al. Innate lymphoid cells – a proposal for uniform nomenclature. *Nature Reviews Immunology*. V. 13, No 2 (2013): pp. 145-149.

29. Voskuhl R.R., Wang H., Wu T.C., Sicotte N.L., Nakamura K., Kurth F. et al. Estriol combined with glatiramer acetate for women with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurology*. V. 15, No 1 (2016): pp. 35-46.

Статья поступила в редакцию 01.12.2022; одобрена после рецензирования 12.12.2022; принята к публикации 22.02.2023.

The article was submitted 01.12.2022; approved after reviewing 12.12.2022; accepted for publication 22.02.2023.

#### **Информация об авторах**

Ирина Валерьевна Некрасова – nirina5@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6706-5912>, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Наталья Сергеевна Глебездина – glebezdina\_n@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9891-0509>, канд. биол. наук, младший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Ирина Леонидовна Масленникова – i.maslennikova1974@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2776-8023>, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Ирина Юрьевна Данченко – irene-dan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9101-7569>, канд. медицинских наук, ассистент кафедры неврологии и медицинской генетики;

Сергей Викторович Ширшев – shirshev@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5766-7496>, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией иммунорегуляции.

#### **Information about the authors**

Irina V. Nekrasova – nirina5@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6706-5912>, candidate of biology, researcher of laboratory of immunoregulation;

Natalia S. Glebezdina – glebezdina\_n@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9891-0509>, candidate of biology, junior researcher of laboratory of immunoregulation;

Irina L. Maslennikova – i.maslennikova1974@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2776-8023>, candidate of biology, senior researcher of laboratory of immunoregulation;

Irina Yu. Danchenko – irene-dan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9101-7569>, candidate of medicine, doctor of medicine, assistant of the department of neurology and medical genetics;

Sergei V. Shirshv – shirshev@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5766-7496>, doctor of medicine, professor, head of laboratory of immunoregulation.

#### **Вклад авторов:**

Некрасова И. В. – проведение экспериментов, обработка материалов, написание текста статьи.

Глебездина Н. С. – проведение экспериментов, доработка текста статьи.

Масленникова И. Л. – работа с бактериальными культурами.

Данченко И. Л. – подбор доноров, сбор неврологического анамнеза.

Ширшев С. В. – научное руководство работой на всех этапах.

#### **Contribution of the authors:**

Nekrasova I. V. – conducting experiments, materials processing, writing the article.

Glebezdina N. S. – conducting experiments, revision of the article.

Maslennikova I. L. – work with bacterial cultures.

Danchenko I. L. – selection of donors, collection of neurological anamnesis.

Shirshv S. V. – scientific management of the work at all stages.