

ИММУНОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 612.018:616.832-004.2

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-107-112

НК-клетки, преобработанные эстриолом и клетками комменсальной флоры, регулируют созревание Treg и Th17 из CD4⁺ лимфоцитов у больных рассеянным склерозом и здоровых доноров

И. В. Некрасова¹, Н. С. Глебздина¹, И. Л. Масленникова^{1, 2}, И. Ю. Данченко²,
С. В. Ширшев¹

¹ Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

² 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 воспалительное хроническое заболевание центральной нервной системы, одним из патогенетических механизмов которого является иммуноопосредованная атака миелиновой оболочки нервных аксонов под управлением аутореактивных Т-клеток. НК-клетки, один из подтипов ILC клеток, обладают способностью регулировать аутоиммунные механизмы посредством продукции цитокинов или цитотоксического действия непосредственно против эффекторных клеток, таких как аутореактивные Т-клетки или антигенпрезентирующие клетки. В то же время они могут лизировать клетки микроглии, астроцитов и олигодендроцитов, что указывает на двойную функцию НК-клеток при РС. В данной работе исследовали влияние гормона беременности эстриола (Е₃) и комменсальной микрофлоры на способность НК-клеток модулировать уровень Т-регуляторных (Treg) и IL-17-продуцирующих (Th17) лимфоцитов больных рассеянным склерозом (РС) в сравнении со здоровыми донорами. Для активации НК-клеток использовались штаммы *Escherichia coli* K12 и *Lactobacillus plantarum* 8R-A3. Фенотип Treg и Th17 клеток оценивали методом проточной цитометрии с использованием окрашивания моноклональными антителами. Установлено, что НК-клетки, проинкубированные с Е₃ и *E.coli*, стимулируют образование Treg, а преобработка НК-клеток *L. plantarum* угнетает формирование Th17 из CD4⁺ лимфоцитов. В целом, регуляторные лимфоциты больных РС оказались более чувствительны к влиянию НК-клеток, чем клетки здоровых доноров.

Ключевые слова: НК-клетки, Treg, Th17, рассеянный склероз, эстриол, *E. coli*, *L. plantarum*

Для цитирования: НК-клетки, преобработанные эстриолом и клетками комменсальной флоры, регулируют созревание Treg и Th17 из CD4⁺ лимфоцитов у больных рассеянным склерозом и здоровых доноров / И. В. Некрасова, Н. С. Глебздина, И. Л. Масленникова, И. Ю. Данченко, С. В. Ширшев // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 107–112. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-107-112>.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-25-00787, <https://rscf.ru/project/22-25-00787>.

IMMUNOLOGY

Original article

NK cells pretreated with estriol and commensal flora cells regulate the maturation of Treg and Th17 from CD4⁺ lymphocytes in multiple sclerosis patients and healthy donors

I. V. Nekrasova¹, N. S. Glebezdina¹, I. L. Maslennikova^{1, 2}, I. Yu. Danchenko²,
S. V. Shirshv¹

¹ Perm Federal Research Center UB RAS, Perm, Russia

² E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia
Corresponding author: Irina V. Nekrasova, nirina5@mail.ru

Abstract. Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory chronic disease of the central nervous system, one of the pathogenetic mechanisms of which is an immune-mediated attack to the myelin sheath of nerve axons under the control of autoreactive T cells. NK cells, one of subtypes of ILC cells, have the ability to regulate autoimmune mechanisms through the production of cytokines or cytotoxic effects directly against effector cells, such as

autoreactive T cells or antigen-presenting cells. At the same time, they can also lyse microglial, astrocyte, and oligodendrocyte cells, indicating a dual function of NK cells in MS. The influence of the pregnancy hormone estradiol (E_3) and commensal microflora on the ability of NK cells to modulate the level of T regulatory (Treg) and IL-17-producing (Th17) lymphocytes from patients with multiple sclerosis (MS) in comparison with healthy donors was studied. To activate NK cells, *Escherichia coli* K12 and *Lactobacillus plantarum* 8R-A3 strains were used. The phenotype of Treg and Th17 cells was assessed by flow cytometry using monoclonal antibody staining. It was found that NK cells incubated with E_3 and *E. coli* stimulate the formation of Tregs, and pretreatment of NK cells with *L. plantarum* inhibits the formation of Th17 from $CD4^+$ lymphocytes. In general, regulatory lymphocytes from MS patients turned out to be more sensitive to the influence of NK cells than cells from healthy donors.

Keywords: NK cells, Treg, Th17, multiple sclerosis, estradiol, *E. coli*, *L. plantarum*

For citation: Nekrasova I. V., Glebezdina N. S., Maslennikova I. L., Danchenko I. Yu., Shirshov S. V. [NK cells pretreated with estradiol and commensal flora cells regulate the maturation of Treg and Th17 from $CD4^+$ lymphocytes in multiple sclerosis patients and healthy donors]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 107-112. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-107-112>.

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) – это воспалительное хроническое заболевание центральной нервной системы, одним из патогенетических механизмов которого является иммуноопосредованная атака миелиновой оболочки нервных аксонов под управлением аутореактивных Т-клеток [Jadidi-Niaragh, Mirshafiey, 2011]. NK-клетки, один из подтипов ИЛС клеток, обладают способностью регулировать аутоиммунные механизмы посредством продукции цитокинов или цитотоксического действия непосредственно против эффекторных клеток, таких как аутореактивные Т-клетки или антигенпрезентирующие клетки. В то же время они также могут лизировать лиганды NKG2D микроглии, астроцитов и олигодендроцитов, что указывает на двойную функцию NK-клеток при РС. Кроме того, установлено, что NK-опосредованный контроль активности Т-клеток нарушен при РС, но может быть восстановлен путем лечения даклизумабом [Gross et al., 2016]. Также в одной из недавних работ показано, что ИЛС клетки презентуют Т-лимфоцитам пептидные фрагменты антигенов бактериального происхождения в комплексе с молекулами МНС II класса. Однако по причине того, что на мембране ИЛС клеток нет костимулирующих молекул, эта презентация носит толерогенный, а не активирующий характер. То есть ИЛС клетки учат Т-лимфоциты «не трогать» симбиотическую флору [Herworth et al., 2015]. При этом метаболиты бактерий, а также их пробиотические штаммы способны оказывать влияние на функциональные характеристики ИЛС [von Burg et al., 2015; Aziz, Bonavida, 2016].

Известно, что частота РС у женщин гораздо выше, чем у мужчин [Harbo, Gold, Tintore, 2013]. Установлено, что при беременности наблюдается ослабление проявлений Th1-опосредованных аутоиммунных патологий, в том числе РС [Pelfrey et al., 2005; Neuteboom 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_3) [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_3 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 [Soldan et al., 2003; Ширшев, Некрасова, 2011; Papenfuss et al., 2011; Некрасова, Ширшев, 2013; Ширшев и др., 2017, 2018; Nekrasova, Shirshov, 2020].

Цель данной работы – исследовать влияние обработанных E_3 , а также стимулированных клетками комменсальной микрофлоры NK-клеток на регуляцию баланса Treg/Th17 лимфоцитов.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали кровь больных РС, согласно модифицированным диагностическим критериям МакДональда [McDonald et al., 2001], с ремитирующим типом течения заболевания, не подвергавшихся терапии препаратами, изменяющими течение РС, а также иммуномодулирующей терапии и находящихся в стадии клинической ремиссии (n=10), и здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста (n=10).

В градиенте плотности фиколл-верографина (1.077 г/мл) выделяли мононуклеары периферической крови (МПК), из которых затем методом иммуномагнитной сепарации выделяли NK-клетки и $CD4^+$ лимфоциты. Полученные NK-клетки инкубировали с E_3 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% CO₂ в среде RPMI 1640 с добавлением 1 mM HEPES и 2 mM L-глутамин. В контрольные пробы вместо гормона вносили соответствующий растворитель.

В ряде проб для активации NK-клеток использовались штаммы *Escherichia coli* K12 и *Lactobacillus plantarum* 8R-A3. Бактерии (1×10⁶) 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% NaCl. Срок контакта с NK-клетками составлял 30 мин., после чего добавляли гентамицин (конечная концентрация 100 мкг/мл).

После обработки гормоном и/или бактериями NK-клетки культивировали в течение 48 ч. совместно с сингенными сепарированными лимфоцитами CD4⁺, у которых затем методом проточной цитометрии определяли экспрессию маркеров FOXP3 и RORγt (все антитела «Biolegend», США).

Статистический анализ проводили с использованием W критерия Вилкоксона. Результаты представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей Me (LQ; UQ).

Результаты и обсуждение

При исследовании влияния NK-клеток здоровых доноров на образование Treg установлено, что предобработка *E. coli*, в том числе в комбинации с E₃ вне зависимости от концентрации, способствовала генерации Treg при взаимодействии с NK-клетками. При этом предобработка E₃ и *L. plantarum* не приводила к статистически значимому изменению уровня данной субпопуляции регуляторных лимфоцитов (таблица).

Влияние NK-клеток, обработанных E₃ и бактериальными штаммами, на изменение процентного соотношения Treg и Th17 клеток у здоровых доноров и больных РС [Effect of NK cells treated with E₃ and bacterial strains on Treg and Th17 percentage in healthy donors and MS patients]

Воздействие	Здоровые доноры		Больные РС	
	CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	CD4 ⁺ RORγt ⁺	CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	CD4 ⁺ RORγt ⁺
Контроль	1.10 (0.65;1.72)	0.98 (0.60;1.23)	0.85 (0.51;1.00)	0.81 (0.23;2.96)
E ₃ (2 нг/мл)	1.85 (1.15;2.17)	0.67 (0.32;0.95)	1.98 (1.00;2.85)*	0.72 (0.22;1.60)
E ₃ (20 нг/мл)	1.23 (0.71;2.33)	1.79 (0.84;1.92)	1.97 (0.65;3.09)*	0.42 (0.20;0.76)
<i>L. plantarum</i>	1.70 (0.93;2.99)	0.47 (0.34;0.81)	1.05 (0.46;2.79)	0.27 (0.16;0.37)*
<i>L. plantarum</i> + E ₃ (2 нг/мл)	1.40 (0.47;2.44)	0.54 (0.40;0.72)	1.01 (0.63;1.50)	0.38 (0.11;0.56)*
<i>L. plantarum</i> + E ₃ (20 нг/мл)	1.48 (0.86;3.16)	0.96 (0.49;1.43)	0.88 (0.54;2.37)	0.31 (0.13;0.45)*
<i>E. coli</i>	2.90 (1.61;3.03)*	1.02 (0.58;1.30)	1.80 (0.92;3.87)*	0.35 (0.18;0.98)
<i>E. coli</i> +E ₃ (2 нг/мл)	2.82 (1.37;5.09)*	0.73 (0.27;1.18)	1.47 (0.92;2.54)*	0.27 (0.20;0.78)*
<i>E. coli</i> +E ₃ (20 нг/мл)	2.41 (1.93;4.57)*	0.90 (0.38;1.58)	1.54 (0.71;2.51)*	0.43 (0.18;0.60)

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

В отношении способности NK-клеток больных РС влиять на изменение процентного соотношения Treg выявлено стимулирующее действие E₃ вне зависимости от используемой концентрации. Ранее нами показано, что E₃ способен стимулировать продукцию TGF-β сепарированными NK-клетками [Ширшев и др., 2016]. Известно, что данный цитокин способствует дифференцировке в направлении Treg [Xu, Kitani, Strober, 2010]. Как и в случае здоровых доноров, бактерии *E. coli* также способствовали увеличению количества Treg при взаимодействии с NK-клетками больных РС. В комбинации с E₃ вне зависимости от концентрации данное влияние бактериального штамма сохранялось (таблица).

При исследовании влияния NK-клеток здоровых доноров на образование Th17 значимых изменений не обнаружено. Статистически достоверный эффект получен только на клетках больных РС. Так, предобработка NK-клеток штаммом *L. plantarum*, в том числе в комбинации с E₃, способствует угнетению формирования Th17. Аналогичным действием обладает штамм *E. coli*, но лишь при совместном действии с E₃ (2 нг/мл). Сам гормон значимого влияния на изменение процента Th17 лимфоцитов не оказал (таблица).

Известно, что децидуальные NK-клетки способны как индуцировать Treg (при участии CD14⁺ клеток) [Vassa et al., 2010], так и угнетать образование Th17 [Fu et al., 2013]. По-видимому, гормон беременности E₃, как и клетки комменсальной микрофлоры, являются факторами, приводящими к формированию толерантного фенотипа NK-клеток, которые в свою очередь смещают баланс Th17/Treg в сторону последних.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что НК-клетки, преобработанные гормоном беременности E_3 и штаммами комменсальной микробиоты, способны к регуляции баланса Treg/Th17. При этом выявлены различия в действии исследуемых факторов. Так, НК-клетки, проинкубированные с E_3 и *E. coli* стимулируют образование Treg, а преобработка НК-клеток *L. plantarum* угнетает формирование Th17 из $CD4^+$ лимфоцитов. В целом, регуляторные лимфоциты больных РС оказались более чувствительны к влиянию НК-клеток, чем клетки здоровых доноров.

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. DOI: 10.7868/S0869565213360231.
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. Влияние хорионического гонадотропина и эстриола на фенотип и функциональную активность НК-клеток // Физиология человека. 2016. Т. 42, № 5. С. 102–107. DOI: 10.7868/S0131164616050143.
4. Ширшев С.В. и др. Участие микроРНК в гормональных механизмах регуляции функций НК-клеток // Доклады Академии наук. 2017. Т. 474, № 1. С. 123–127. DOI: 10.7868/S0869565217130254.
5. Ширшев С.В. и др. Гормональная регуляция дифференцировки дендритных клеток тимуса // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 165, № 2. С. 193–197.
6. Aziz N., Bonavida B. Activation of Natural Killer Cells by Probiotics // For Immunopathol. Dis. Therap. 2016. Vol. 7, № 1–2. P. 41–55. DOI: 10.1615/ForumImmunDisTher.2016017095.
7. Fu B. et al. Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. Vol. 110, № 3. P. E231–240. DOI: 10.1073/pnas.1206322110.
8. Gross C.C. et al. Alemtuzumab treatment alters circulating innate immune cells in multiple sclerosis // Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm. 2016. Vol. 3, № 6. P. e289. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000289.
9. 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. DOI: 10.1177/1756285613488434.
10. Hepworth M.R. et al. Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific $CD4^+$ T cells // Science. 2015. Vol. 348, № 6238. P. 1031–1035. DOI: 10.1126/science.aaa4812.
11. 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. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2011.02536.x.
12. Kase N.G., Reyniak J.V. Endocrinology of pregnancy // Mount Sinai Journal of Medicine. 1985. Vol. 52, № 1. P. 11–34.
13. 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. DOI: 10.1002/ana.1032.
14. Nekrasova I., Shirshov S. Estriol in regulation of cell-mediated immune reactions in multiple sclerosis // Journal of Neuroimmunology. 2020. Vol. 349C. P. 577421. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2020.577421.
15. Neuteboom R.F. et al. Pregnancy in multiple sclerosis: clinical and self-report scales // Journal of Neurology. 2012. Vol. 259. P. 311–317. DOI: 10.1007/s00415-011-6186-7.
16. 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. DOI: 10.4049/jimmunol.1001322.
17. 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. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2005.06.014.
18. Sicotte N.L. et al. Treatment of multiple sclerosis with the pregnancy hormone estriol // Annals of Neurology. 2002. Vol. 52, № 4. P. 421–428. DOI: 10.1002/ana.10301.
19. 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. DOI: 10.4049/jimmunol.171.11.6267.
20. Vacca P. et al. Crosstalk between decidual NK and $CD14^+$ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107, № 26. P. 11918–11923. DOI: 10.1073/pnas.1001749107.
21. von Burg N. et al. Maintenance of Immune Homeostasis through ILC/T Cell Interactions // Front Immunol. 2015. Vol. 6. P. 1–13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00416>.

22. 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. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00322-1.

23. Xu L., Kitani A., Strober W. Molecular mechanisms regulating TGF- β -induced Foxp3 expression // *Mucosal Immunology*. 2010. Vol. 3, № 3. P. 230–238. DOI: 10.1038/mi.2010.7.

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. doi: 10.1134/S1607672913060100.

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. The influence of chorionic gonadotropin and estriol on NK cell phenotype and functional activity. *Human Physiology*. V. 42. No. 5 (2016). pp. 554-558. doi: 10.1134/S0362119716050145.

4. 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.

5. Shirshov 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. doi: 10.1007/s10517-018-4136-4.

6. Aziz N., Bonavida B. Activation of Natural Killer Cells by Probiotics. *Forum on Immunopathological Diseases and Therapeutics*. V. 7, No. 1-2 (2016): pp. 41-55. doi: 10.1615/ForumImmunDisTher.2016017095.

7. Fu B., Li X., Sun R., Tong X., Ling B., Tian Z. et al. Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. V. 110, No. 3 (2013): pp. E231-240. doi: 10.1073/pnas.1206322110.

8. Gross C.C. Ahmetspahic D., Ruck T., Schulte-Mecklenbeck A., Schwarte K., Jörgens S. et al. Alemtuzumab treatment alters circulating innate immune cells in multiple sclerosis. *Neurology Neuroimmunology and Neuroinflammation*. 2016. V. 3, No. 6 (2016): pp. e289. doi: 10.1212/NXI.0000000000000289.

9. 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. doi: 10.1177/1756285613488434.

10. 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⁺ T cells. *Science*. V. 348, No. 6238 (2015): pp. 1031-1035. doi: 10.1126/science.aaa4812.

11. 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. doi: 10.1111/j.1365-3083.2011.02536.x.

12. Kase N.G., Reyniak J.V. Endocrinology of Pregnancy. *Mount Sinai Journal of Medicine*. V. 52, No. 1 (1985): pp. 11-34.

13. 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. doi: 10.1002/ana.1032.

14. Nekrasova I., Shirshov S. Estriol in regulation of cell-mediated immune reactions in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. V. 349C (2020): p. 577421. doi: 10.1016/j.jneuroim.2020.577421.

15. 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. doi: 10.1007/s00415-011-6186-7.

16. Papenfuss T.L., Powell N.D., McClain M.A., Bedarf A., Singh A., Gienapp I.E. et al. Estriol generates tolerogenic dendritic cells in vivo that protect against autoimmunity. *Journal of Immunology*. V. 186, No. 6 (2011): pp. 3346-3355. doi: 10.4049/jimmunol.1001322.

17. Pelfrey C.M., Moldovan I.R., Cotleur 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. doi: 10.1016/j.jneuroim.2005.06.014.

18. Sicotte N.L., Liva S.M., Klutch R., Pfeiffer P., Bouvier S., Odesa S. et al. Treatment of multiple sclerosis with the pregnancy hormone estriol. *Annals of Neurology*. V. 52, No. 4 (2002): pp. 421-428. doi: 10.1002/ana.10301.

19. 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. doi: 10.4049/jimmunol.171.11.6267.

20. Vacca P., Cantoni C., Vitale M., Prato C., Canegallo F., Fenoglio D. et al. Crosstalk between decidual NK and CD14⁺ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America. 2010. V. 107, No. 26 (2010). pp. 11918-11923. doi: 10.1073/pnas.1001749107.

21. von Burg N., Turchinovich G., Finke D. Maintenance of Immune Homeostasis through ILC/T Cell Interactions. *Frontiers in Immunology*. V. 6 (2015): p. 416. doi: 10.3389/fimmu.2015.00416.

22. 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. *The Lancet Neurology*. V. 15, No. 1 (2016): pp. 35-46. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00322-1.

23. Xu L., Kitani A., Strober W. Molecular mechanisms regulating TGF- β I-induced Foxp3 expression. *Mucosal Immunology*. V. 3, No. 3 (2010). pp. 230-238. doi: 10.1038/mi.2010.7.

Статья поступила в редакцию 21.11.2023; одобрена после рецензирования 27.12.2023; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 21.11.2023; approved after reviewing 27.12.2023; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

Ирина Валерьевна Некрасова – nirina5@mail.ru, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Наталья Сергеевна Глебездина – glebezdina_n@mail.ru, канд. биол. наук, младший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Ирина Леонидовна Масленникова – i.maslennikova1974@gmail.com, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Ирина Юрьевна Данченко – irene-dan@mail.ru, канд. мед. наук, ассистент кафедры неврологии и медицинской генетики;

Сергей Викторович Ширшев – shirshev@iegm.ru, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией иммунорегуляции.

Information about the authors

Irina V. Nekrasova – nirina5@mail.ru, candidate of biology, researcher of laboratory of immunoregulation;

Natalia S. Glebezdina – glebezdina_n@mail.ru, candidate of biology, junior researcher of laboratory of immunoregulation;

Irina L. Maslennikova – i.maslennikova1974@gmail.com, candidate of biology, senior researcher of laboratory of immunoregulation;

Irina Yu. Danchenko – irene-dan@mail.ru, candidate of medicine, assistant of the department of neurology and medical genetics;

Sergey V. Shirshov – shirshev@iegm.ru, 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.

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