

## МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 612.018

Н. С. Глебездина<sup>a</sup>, А. А. Олина<sup>b</sup>, И. В. Некрасова<sup>a</sup>, Е. М. Куклина<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

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

### ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭНДОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Представлены данные о способности гормона мелатонина регулировать дифференцировку Т-клеточной субпопуляции в период гестации. Объектами исследования служили лейкоциты женщин, находящихся в I и III триместрах беременности, а также лейкоциты здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста. Уровень и активность Трег оценивали *ex vivo* и *in vitro*, в ответ на поликлональную активацию (анти-CD3/CD28), – по экспрессии маркера дифференцировки Трег – транскрипционного фактора FoxP3, методом проточной цитометрии, а также по продукции ключевого цитокина этих клеток – TGFβ, иммуноферментным анализом. Вклад эндогенного мелатонина в регуляцию Трег определяли при культивировании лимфоцитов в присутствии аутологичной сыворотки на фоне блокады мелатонин-зависимых сигналов с использованием ингибитора мембранных мелатониновых рецепторов (MT1/MT2). Показано, что процесс дифференцировки по-разному регулируется эндогенным мелатонином у беременных и небеременных женщин. В условиях поликлональной активации (анти-CD3/CD28) наблюдалось увеличение процента CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Т-клеток только у небеременных, и блокада мелатонин-зависимых сигналов это повышение не отменяла. У беременных дифференцировка Трег зависела от MT1/MT2-опосредованных сигналов.

**Ключевые слова:** Трег; дифференцировка; беременность; мелатонин; мелатониновые рецепторы.

N. S. Glebezdina<sup>a</sup>, A. A. Olina<sup>b</sup>, I. V. Nekrasova<sup>a</sup>, E. M. Kuklina<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

<sup>b</sup> Perm State Academy of Medicine named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation

### THE EVALUATION OF THE ENDOGENOUS MELATONIN IMPACT ON REGULATORY T CELLS FUNCTIONAL ACTIVITY DURING PREGNANCY

Regulatory T lymphocytes (Treg) play an important role in the physiological course of pregnancy providing the formation of peripheral tolerance. The paper presents data of the ability of the epiphyseal hormone melatonin to regulate the differentiation of this T cell subpopulation during gestation. The subjects of the study were leukocytes of women in I and III trimester of pregnancy as well as leukocytes of healthy non-pregnant women of reproductive age. The level and activity of Treg were evaluated *ex vivo* and *in vitro* in response to polyclonal activation (anti-CD3/CD28) by expression of the differentiation marker of the Treg - transcription factor FoxP3 by flow cytometry and by the production of the key cytokine of these cells - TGFβ by ELISA. The contribution of endogenous melatonin in the regulation of Treg was determined by cultivation of lymphocytes in the presence of autologous serum against the background of blockade of melatonin-dependent signals using the inhibitor of membrane melatonin receptors (MT1 / MT2). It was shown that the differentiation process was differently regulated by endogenous melatonin in pregnant and non-pregnant women. An increase of the percentage of CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T cells was observed only in non-pregnant cells under the polyclonal activation (anti-CD3/CD28), and this increase did not cancel by the blockade of melatonin-dependent signals. In pregnant women Treg differentiation depended on MT1/MT2-mediated signals.

**Key words:** Treg, differentiation, pregnancy, melatonin, melatonin receptors.

#### Введение

Регуляторные Т-лимфоциты (Трег), как центральные медиаторы иммунологической толерант-

ности, играют решающую роль во многих аспектах иммунных реакций. Они участвуют в контроле иммунного гомеостаза, предупреждая избыточную активацию иммунной системы, и, как следствие,

препятствуют развитию аутоиммунных и аллергических процессов, реакций отторжения трансплантата [Saito et al., 2010; Shevach, Thornton, 2014; Kanamori et al., 2016; Jeffery et al., 2016]. Важную роль регуляторные Т-лимфоциты играют и в развитии беременности: эффективная дифференцировка и активация этой клеточной субпопуляции является одним из ключевых механизмов формирования толерантности материнского организма к генетически чужеродному для нее (полуаллогенному) плоду [Wu et al., 2014]. Со снижением численности и активности Тreg ассоциированы различные патологии гестационного периода, такие как невынашивание беременности или развитие преэклампсии [Steinborn et al., 2012]. В связи с этим регуляция данной клеточной субпопуляции привлекает пристальное внимание исследователей.

Одним из потенциальных регуляторов Тreg является эпифизарный гормон мелатонин. С одной стороны, данная субпопуляция должна быть чувствительна к действию мелатонина: известно, что Тreg, как и другие лимфоциты, экспрессируют специфические мембранные рецепторы для гормона, MT1 и MT2 [Slominski et al., 2012], а ключевой дифференцировочный фактор и маркер Тreg, FoxP3 находятся под контролем внутриклеточного рецептора для мелатонина, ROR $\alpha$  [Lardone et al., 2011]. С другой стороны, уровень мелатонина существенно возрастает в ходе беременности [Tamura et al., 2008]. Такое возрастание неизбежно должно сказываться на развитии и функционировании Тreg, особенно учитывая, что все мелатониновые рецепторы имеют разную аффинность связывания гормона и, следовательно, мелатонин-зависимая регуляция Т-клеток чувствительна к концентрации гормона. Связь мелатонина с активностью Тreg показана в настоящее время для онкологических заболеваний [Carrillo-Vico et al., 2013], а также для аутоиммунных патологий, в частности, у пациентов с системной красной волчанкой [Medrano-Campillo et al., 2015] или у животных в модели экспериментальных аутоиммунных энцефаломиелитов [Alvarez-Sanchez et al., 2015].

Данных по влиянию мелатонина на дифференцировку Тreg при беременности нет, несмотря на очевидную актуальность этой проблемы, определяемую чувствительностью Тreg к действию мелатонина и изменением концентрации гормона в ходе гестации. В связи с этим целью исследования было сопоставление содержания в периферической крови Тreg и основного продукта данной клеточной субпопуляции с уровнем мелатонина, и экспрессией мелатониновых рецепторов, а также, в эксперименте *in vitro*, определение вклада эндогенного мелатонина в дифференцировку Тreg в условиях поликлональной активации CD4<sup>+</sup>Т-лимфоцитов.

## Материал и методы исследования

В работе использовали лейкоциты женщин, находящихся в I (средний возраст 28.05 $\pm$ 4.70 лет, n=20) и III (средний возраст 33.10 $\pm$ 6.61 лет, n=10) триместрах беременности, и лейкоциты здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста (средний возраст 31.80 $\pm$ 6.43 лет, n=10). Указанные сроки гестации выбраны как наиболее критичные в плане индукции спонтанных аборт [Ширшев, 1999] и развития преэклампсии [Payne, Magee, von Dadelszen, 2011], соответственно. Кроме того, эти периоды отличны друг от друга по уровню мелатонина в крови [Tamura et al., 2008]. От всех доноров получено информированное согласие на участие в исследовании. Учитывая суточные колебания уровня мелатонина в крови, забор крови во всех исследуемых группах осуществлялся в одно и то же время (с 8 до 9 утра). Лейкоциты выделяли из гепаринизированной венозной крови центрифугированием в градиенте плотности фикола-верографина (1.077 г/см<sup>3</sup>) («Pharmacia», Швеция). В работе использовали суспензию мононуклеарных клеток, а также CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты, фракционированные на иммуномагнитных бусах с помощью соответствующей системы для выделения («R&D Systems», США). CD4<sup>+</sup> Т-клетки культивировали 48 ч. в присутствии аутологичной сыворотки (как источника эндогенного мелатонина) в среде RPMI 1640 («Gibco. Thermo Fisher Scientific», США) с добавлением 1 mM HEPES («Sigma-Aldrich», США), 2 mM L-глутамин («Serva», Германия) и 40 ед/мл гентамицина («Pharmacia», Швеция) при 37 $^{\circ}$ C и 5% CO<sub>2</sub> в условиях поликлональной активации (система для активации на основе моноклональных антител к CD3/CD28, «Invitrogen», США). За час до активации в культуру вносили ингибитор мембранных мелатониновых рецепторов (MT1/MT2) – лузиндол («R&D Systems», США). Блокада ядерного рецептора для мелатонина ROR $\alpha$  на данном этапе не использовалась, поскольку аффинность его с мелатонином на 2.5 порядка ниже аффинности мембранных мелатониновых рецепторов [Slominski et al., 2012] и, теоретически, он не должен быть чувствителен к физиологическим концентрациям мелатонина. Уровень мелатонина в сыворотке крови оценивали иммуноферментным анализом («IBL International», Германия). Экспрессия клетками транскрипционного фактора FoxP3 определялась *ex vivo* и по окончании 48-часового культивирования (проточной цитометрией с использованием моноклональных антител: анти-CD4\*FITC, анти-FoxP3\*PE («Novus Biologicals», «R&D Systems», США)). Синтез ключевого цитокина исследуемой субпопуляции – TGF $\beta$ , оценивался по его уровню в культуральных супернатантах (иммуноферментным анализом, «Biolegend», США). Также *ex vivo* определялась

экспрессия ключевых рецепторов для мелатонина: мембранного MT1 и внутриклеточного ROR $\alpha$  (точной цитометрией, с использованием соответствующих моноклональных антител: анти-CD3\*PerCP, анти-Melatonin Receptor 1B\*Alexa Fluor, анти-CD4\*FITC, анти-ROR $\alpha$ \*PE (“Novus Biologicals”, “R&D Systems”, США)). Для контроля неспецифического связывания и выделения негативного по флюоресценции лимфоцитарного окна использовали соответствующие изотипические контроли. Жизнеспособность лимфоцитов, определяемая в тесте с эозином после 48 ч. культивирования, составляла 95–98%. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических T-критерия Вилкоксона и U-критерия Манн-Уитни, поскольку выборочное распределение данных не соответствовало нормальному. Описательные характеристики количественных признаков представлены в виде медианы с нижней и верхней квартилью – Me (LQ; UQ). Степень взаимосвязи признаков оценивалась с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r).

### Результаты и их обсуждение

Исследование *ex vivo* выявило повышение уровня CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T-клеток и концентрации сывороточного TGF $\beta$  в ходе беременности (табл. 1).

Таблица 1

#### Оценка уровня Treg и сывороточного TGF $\beta$ при беременности *ex vivo* (Me (LQ; UQ))

Показатель	Небеременные женщины	I триместр беременности	III триместр беременности
Процент CD4 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> T-клеток, %	0.16 (0.05; 0.24)	0.21 (0.15; 0.27)	0.46 (0.34; 0.62)*#
Концентрация TGF $\beta$ в сыворотке крови, пг/мл	5309.89 (4135.67; 8832.55)	12 355.21 (10 277.75; 15 697.22)*	11 948.75 (10 277.75; 12 626.19)*

Примечание. \* $p < 0.05$  в сопоставлении с показателем у небеременных женщин, # $p < 0.05$  в сопоставлении с показателем в I триместре.

Наряду с этим наблюдалось увеличение концентрации мелатонина в сыворотке крови в III триместре (табл. 2). В целом, полученные результаты согласуются с имеющимися литературными данными: отмечено значительное увеличение циркулирующих клеток Treg во время беременности как у человека [Somerset et al., 2004], так и у мышей [Aluvihare, Kallikourdis, Betz, 2004], с последующим снижением после родов. Подобные закономерности в ходе гестации продемонстрированы и для сывороточной концентрации мелатонина [Tamura et al. 2008]. При оценке связей между уровнями мелатонина и Treg в крови достоверной корреляции не выявлено, что может быть связано с относительно небольшим размером исследуемой группы, однако важно отметить, что тенденция

изменения у этих факторов при беременности одна.

Анализ уровня экспрессии рецептора MT1 не выявил различий в группах беременных и небеременных женщин (табл. 2). Однако установлено достоверное снижение в течение беременности процента CD4<sup>+</sup> T-клеток, экспрессирующих транскрипционный фактор ROR $\alpha$  (табл. 2). Возможно, ингибирование ROR-опосредованной активации транскрипции генов-мишеней происходит за счет взаимодействия ROR $\alpha$  с FoxP3, что, в конечном итоге, оказывает влияние на регуляцию воспалительных реакций и развитие лимфоцитов [Ziegler, Buckner, 2009]. Помимо этого, косвенное влияние на ROR $\alpha$  может оказывать и мелатонин.

Таблица 2

#### Уровень сывороточного мелатонина, экспрессия мелатонинового рецептора и ROR $\alpha$ *ex vivo* (Me (LQ; UQ))

Показатель	Небеременные женщины	I триместр беременности	III триместр беременности
Концентрация мелатонина в сыворотке крови, пг/мл	21.37 (18.69; 38.47)	19.55 (17.70; 34.90)	48.59 (42.41; 135.85)*#
Процент CD3 <sup>+</sup> MT1 <sup>+</sup> - клеток, %	1.48 (0.96; 5.22)	1.57 (1.03; 4.22)	3.45 (2.38; 5.49)
Процент CD4 <sup>+</sup> ROR $\alpha$ <sup>+</sup> - клеток, %	1.03 (0.50; 1.58)	0.94 (0.76; 1.35)	0.50 (0.44; 0.78)#

Примечание. \* $p < 0.05$  в сопоставлении с показателем у небеременных женщин, # $p < 0.05$  в сопоставлении с показателем в I триместре.

Оценка непосредственного вклада эндогенного мелатонина в индукцию Treg проводилась *in vitro* в условиях поликлональной активации (анти-CD3/CD28) в присутствии аутологичной сыворотки с помощью блокады мелатониновых рецепторов. При этом наблюдалось увеличение процента CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T-клеток только у небеременных, и блокада мелатонин-зависимых сигналов это повышение не отменяла (табл. 3). При беременности же процент CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T-клеток не менялся в ответ на активацию, однако в присутствии ингибитора мелатониновых рецепторов наблюдалось достоверное снижение процентного содержания этих клеток по сравнению с уровнем активированной культуры (табл. 3). Аналогичные закономерности выявлены для небеременных и беременных III триместра при исследовании супернатантов культур активированных CD4<sup>+</sup>T-клеток. В то же время, у небеременных женщин выявлена отрицательная корреляционная связь между процентным содержанием рецептора ROR $\alpha$  и концентрацией TGF $\beta$  в культуральных супернатантах: и *in vitro* ( $r_s =$

0.734,  $p < 0.05$ ), и на фоне ингибитора ( $r_s = -0.734$ ,  $p < 0.05$ ).

Таким образом, проведенные исследования показали, что в крови уровень и активность Treg изменяются односторонне с мелатонином, а в ответ на активацию в культуре – противоположно.

Это может означать, что мелатонин не играет ведущей роли в контроле Treg на системном уровне, или его эффекты *in vivo* опосредуются и нивелируются другими гормонами гипоталамо-гипофизарно-адренальной и/или гонадальной осей, многие из которых сами являются эффективными иммуномодуляторами [Gupta, Halder, 2013]. В то же время, если речь идет о непосредственном воздействии на Treg *in vitro*, эффекты мелатонина обратные: причем, позитивные обусловлены MT1/MT2-опосредованными сигналами, а отрицательные – ROR $\alpha$ .

Таблица 3

**Роль эндогенного мелатонина в контроле дифференцировки Treg *in vitro* в ответ на поликлональную активацию (Me (LQ; UQ))**

Показатель	Небеременные женщины	I триместр беременности	III триместр беременности
Процент CD4 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> T-клеток в 48-часовой культуре, %	0.68 (0.56; 1.03)	0.24 (0.21; 0.34)*	0.45 (0.35; 0.57)#
	с блокадой MT1/MT2		
	0.68 (0.53; 0.97)	0.18 (0.12; 0.25)* <sup>a</sup>	0.34 (0.23; 0.42) *# <sup>a</sup>
Концентрация TGF $\beta$ в культуральных супернатантах, пг/мл	без блокады MT1/MT2		
	88 589.17 (43 697.85; 135 016.01)	63 569.26 (49 749.59; 90 124.69)	33 671.82 (25 813.58; 70 253.28)*
	с блокадой MT1/MT2		
	69 891.98 (41 620.38; 127 519.07) <sup>a</sup>	71 337.17 (50 381.87; 93 557.02)	27 800.72 (23 103.84; 58 962.70)*# <sup>a</sup>

Примечания: MT1/MT2 – мембранные рецепторы мелатонина, \* $p < 0.05$  в сопоставлении с показателем у небеременных женщин, # $p < 0.05$  в сопоставлении с показателем в I триместре, <sup>a</sup> в сопоставлении с показателем без блокады MT1/MT2.

В целом, результаты работы указывают на возможную негативную роль мелатонина в развитии популяции Treg, которая играет ключевое значение для физиологического течения беременности. Принимая во внимание, что в настоящее время экзогенный мелатонин рассматривается как перспективный препарат для предупреждения ряда осложнений в развитии беременности, в частности, преэклампсии, важно учитывать иммунорегуляторные эффекты гормона.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-60094 мол\_а\_дк.

### Библиографический список

- Шуршев С.В. Механизмы иммунного контроля процессов репродукции. Екатеринбург, 1999. 381 с.
- Aluvihare V.R., Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus // *Nature Immunology*. 2004. Vol. 5 (3). P. 266–271.
- Alvarez-Sanchez N. et al. Melatonin controls experimental autoimmune encephalomyelitis by altering the T effector/regulatory balance // *Brain Behavior and Immunity*. 2015. Vol. 50. P. 101–114.
- Carrillo-Vico A. et al. Melatonin: Buffering the Immune System // *International Journal of Molecular Sciences*. 2013. Vol. 14 (4). P. 8638–8683.
- Gupta S., Halder C. Physiological crosstalk between melatonin and glucocorticoid receptor modulates T-cell mediated immune responses in a wild tropical rodent, *Funambulus pennant* // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2013. Vol. 134. P. 23–36.
- Jeffery H.C. et al. Clinical Potential of Regulatory T Cell Therapy in Liver Diseases: An Overview and Current Perspectives // *Frontiers in Immunology Journal*. 2016. Vol. 7. P. 334.
- Kanamori M. et al. Induced Regulatory T Cells: Their Development, Stability, and Applications // *Trends in Immunology*. 2016. Vol. 37 (11). P. 803–811.
- Lardone P.J. et al. Melatonin synthesized by T lymphocytes as a ligand of the retinoic acid-related orphan receptor // *Journal of Pineal Research*. 2011. Vol. 51 (4). P. 454–462.
- Medrano-Campillo P. et al. Evaluation of the immunomodulatory effect of melatonin on the T-cell response in peripheral blood from systemic lupus erythematosus patients // *Journal of Pineal Research*. 2015. Vol. 58. P. 219–226.
- Payne B., Magee L.A., von Dadelszen P. Assessment, surveillance and prognosis in pre-eclampsia // *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2011. Vol. 25 (4). P. 449–462.
- Saito S. et al. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy // *American Journal of Reproductive Immunology*. 2010. Vol. 63. P. 601–610.
- Shevach E.M., Thornton A.M. tTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences // *Immunological Reviews*. 2014. Vol. 259 (1). P. 88–102.
- Slominski R.M. et al. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions // *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2012. Vol. 351 (2). P. 152–166.
- Somerset D.A. et al. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T-cell subset // *Immunology*. 2004. Vol. 112 (1). P. 38–43.

- Steinborn A. et al. Pregnancy-associated diseases are characterized by the composition of the systemic regulatory T cell (Treg) pool with distinct subsets of Tregs // *Clinical and Experimental Immunology*. 2012. Vol. 167 (1). P. 84–98.
- Tamura H. et al. Melatonin and pregnancy in the human // *Reproductive Toxicology*. 2008. Vol. 25 (3). P. 291–303.
- Wu L. et al. Alteration of Th17 and Treg cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after lymphocyte immunization therapy // *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2014. Vol. 12. P. 74.
- Ziegler S.F., Buckner J.H. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation // *Microbes and Infection*. 2009. Vol. 11 (5). P. 594–598.
- References**
- Shirshov S.V. *Mechanizmy immunogo kontrolja processov reprodukcii* [Mechanisms of immune control of reproduction processes]. Ekaterinburg, UrO RAN Publ., 1999, 382 p. (In Russ.).
- Aluvihare V.R., Kallikourdis M., Betz A.G. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nature Immunology*. V. 5, N 3 (2004): pp. 266–271.
- Alvarez-Sanchez N., Cruz-Chamorro I., Lopez-Gonzalez A., Utrilla J.C., Fernandez-Santos J.M., Martinez-Lopez A., Lardone P.J., Guerrero J.M., Carrillo-Vico A. Melatonin controls experimental autoimmune encephalomyelitis by altering the T effector/regulatory balance. *Brain Behavior and Immunity*. V. 50 (2015): pp. 101–114.
- Carrillo-Vico A., Lardone P.J., Alvarez-Sanchez N., Rodriguez-Rodríguez A., Guerrero J.M. Melatonin: Buffering the Immune System. *International Journal of Molecular Sciences*. V. 14, N 4 (2013): pp. 8638–8683.
- Gupta S., Haldar C. Physiological crosstalk between melatonin and glucocorticoid receptor modulates T-cell mediated immune responses in a wild tropical rodent, *Funambulus pennant*. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. V. 134 (2013): pp. 23–36.
- Jeffery H.C., Braitch M.K., Brown S., Oo Y.H. Clinical Potential of Regulatory T Cell Therapy in Liver Diseases: An Overview and Current Perspectives. *Frontiers in Immunology Journal*. V. 7 (2016): p. 334.
- Kanamori M., Nakatsukasa H., Okada M., Lu Q., Yoshimura A. Induced Regulatory T Cells: Their Development, Stability, and Applications. *Trends in Immunology*. V. 37, N 11 (2016): pp. 803–811.
- Lardone P.J., Guerrero J.M., Fernandez-Santos J.M., Rubio A., Martín-Lacave I., Carrillo-Vico A. Melatonin synthesized by T lymphocytes as a ligand of the retinoic acid-related orphan receptor. *Journal of Pineal Research*. V. 51, N 4 (2011): pp. 454–462.
- Medrano-Campillo P., Sarmiento-Soto H., Alvarez-Sanchez N., Alvarez-Rios A.I., Guerrero J.M., Rodriguez-Prieto I., Castillo-Palma M.J., Lardone P.J., Carrillo-Vico A. Evaluation of the immunomodulatory effect of melatonin on the T-cell response in peripheral blood from systemic lupus erythematosus patients. *Journal of Pineal Research*. V. 58 (2015): pp. 219–226.
- Payne B., Magee L.A., von Dadelszen P. Assessment, surveillance and prognosis in pre-eclampsia. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. V. 25, N 4 (2011): pp. 449–462.
- Saito S., Nakashima A., Shima T., Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*. V. 63 (2010): pp. 601–610.
- Shevach E.M., Thornton A.M. tTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences. *Immunological Reviews*. V. 259, N 1 (2014): pp. 88–102.
- Slominski R.M., Reiter R.J., Schlabritz-Loutsevitch N., Ostrom R.S., Slominski A.T. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Molecular and Cellular Endocrinology*. V. 351, N 2 (2012): pp. 152–166.
- Somerset D.A., Zheng Y., Kilby M.D., Sansom D.M., Drayson M.T. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T-cell subset. *Immunology*. V. 112, N 1 (2004): pp. 38–43.
- Steinborn A., Schmitt E., Kisielewicz A., Rechenberg S., Seissler N., Mahnke K., Schaier M., Zeier M., Sohn C. Pregnancy-associated diseases are characterized by the composition of the systemic regulatory T cell (Treg) pool with distinct subsets of Tregs. *Clinical and Experimental Immunology*. V. 167, N 1 (2012): pp. 84–98.
- Tamura H., Nakamura Y., Terron M.P., Flores L.J., Manchester L.C., Tan D.X., Sugino N., Reiter R.J. Melatonin and pregnancy in the human. *Reproductive Toxicology*. V. 25, N 3 (2008): pp. 291–303.
- Wu L., Luo L.H., Zhang Y.X., Li Q., Xu B., Zhou G.X., Luan H.B., Liu Y.S. Alteration of Th17 and Treg cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after lymphocyte immunization therapy. *Reproductive Biology and Endocrinology*. V. 12 (2014): p. 74.
- Ziegler S.F., Buckner J.H. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes and Infection*. V. 11, N 5 (2009): pp. 594–598.

**Об авторах**

Глебездина Наталья Сергеевна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0002-9891-0509  
614081, Пермь, ул. Голева, 13;  
glebezdina\_n@mail.ru; (342)2808431

Олина Анна Александровна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России  
**ORCID:** 0000-0001-9101-7569  
614000, г. Пермь, ул. Екатерининская, 85;  
olina29@mail.ru; (342) 236-44-72

Некрасова Ирина Валерьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0002-6706-5912  
614081, г. Пермь, ул. Голева, 13;  
nirina5@mail.ru

Куклина Елена Михайловна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
**ORCID:** 0000-0002-2173-2724  
614081, г. Пермь, ул. Голева, 13;  
ibis\_07@mail.ru

**About the authors**

Glebezdina Natalya Sergeevna, candidate of biology, junior researcher of laboratory immunoregulation  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.  
**ORCID:** 0000-0002-9891-0509  
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;  
glebezdina\_n@mail.ru; (342)2808431

Olina Anna Alexandrovna, doctor of medical Sciences, professor of the Department of Obstetrics and Gynecology  
Perm State Medical University named after academician E.A Wagner.  
**ORCID:** 0000-0001-9101-7569  
85, Ekaterininskaya str., Perm, Russia, 614081; olina29@mail.ru; (342) 236-44-72

Nekrasova Irina Valeryevna, candidate of biology, researcher of laboratory immunoregulation  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.  
**ORCID:** 0000-0002-6706-5912  
13, Goleva str., Perm, Russia, 614081;  
nirina5@mail.ru

Kuklina Elena Michajlovna, doctor of biology, leading researcher of laboratory immunoregulation  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.  
**ORCID:** 0000-0002-2173-2724  
13, Goleva str., Perm, Russia, 614081;  
ibis\_07@mail.ru

