

ЭСТРИОЛ В МОДУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Некрасова И.В.¹, Ширшев С.В.¹, Данченко И.Ю.²

¹ ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов» УрО РАН, г. Пермь, Россия

² Пермская государственная медицинская академия им. академика Е.А.Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия

Резюме. Исследовано влияние эстриола (E₃) в концентрациях, соответствующих I и III триместрам беременности, на уровень функционально активных Т-регуляторных (Treg) и Th17-продуцирующих (Th17) лимфоцитов, а также продукцию соответствующих цитокинов клетками больных рассеянным склерозом (РС) в сравнении со здоровыми донорами. Установлено, что уровень CD4⁺FoxP3⁺CTLA-4⁺ (Treg) лимфоцитов пациентов с РС был изначально ниже, чем у здоровых доноров. Процент CD4⁺RORγt⁺IL-17A⁺ (Th17) лимфоцитов статистически достоверно не отличался от такового у здоровых доноров, но имел тенденцию к увеличению. Исходные уровни цитокинов IL-17 и IL-6 в супернатантах клеточных культур больных РС были выше, чем у здоровых доноров, а концентрация противовоспалительного цитокина IL-10, напротив, понижена. Под влиянием E₃ процент Treg увеличивался, а Th17 – снижался. Причем данные эффекты гормона реализуются как на клетках здоровых доноров, так и больных РС. При этом E₃ стимулировал продукцию IL-10 и угнетал секрецию IL-6 и IL-17. Таким образом, наблюдаемое снижение проявлений РС при беременности может быть обусловлено влиянием E₃, что открывает перспективы для дальнейшего использования данного гормона в комплексной терапии РС.

Ключевые слова: рассеянный склероз, эстриол, Т-регуляторные лимфоциты, Th17-продуцирующие лимфоциты, цитокины

Адрес для переписки:

Некрасова Ирина Валерьевна
к.б.н., научный сотрудник, лаборатория
иммунорегуляции, ФГБУН «Институт экологии
и генетики микроорганизмов» УрО РАН
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-84-31.
Факс: 8 (342) 280-92-11.
E-mail: nirina5@mail.ru

Авторы:

Некрасова И.В. – к.б.н., научный сотрудник,
лаборатория иммунорегуляции Института
экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,
г. Пермь, Россия
Ширшев С.В. – д.м.н., профессор, заведующий
лабораторией иммунорегуляции Института
экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,
г. Пермь, Россия
Данченко И.Ю. – заочный аспирант кафедры
неврологии лечебного факультета Пермской
государственной медицинской академии
им. академика Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь,
Россия

Поступила 01.11.2013

Отправлена на доработку 10.11.2013

Принята к печати 15.11.2013

ESTRIOL IN FUNCTIONAL MODULATION OF REGULATORY LYMPHOCYTES IN MULTIPLE SCLEROSIS

Nekrasova I.V.^a, Shirshov S.V.^a, Danchenko I.Yu.^b

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

^b Perm State Medical Academy, Perm, Russian Federation

Abstract. We studied effects of estriol (E₃), at the doses corresponding to the I and III trimesters of pregnancy, upon expression of functional markers on T-regulatory (Treg) and Th17-producing (Th17) lymphocytes, as well as the production of relevant cytokines by the cells of patients with multiple sclerosis (MS), as compared with healthy donors. It was found that the levels of CD4⁺FoxP3⁺CTLA-4⁺ (Treg) lymphocytes in MS patients were initially lower than those of healthy donors. Percentages of CD4⁺RORγt⁺IL-17A⁺ (Th17) lymphocytes did not significantly differ from those in healthy donors, still showing a tendency for increase. Baseline levels of IL-17 and IL-6 in cell culture supernates of MS patients were higher than in healthy donors, along with reduced contents of the anti-inflammatory IL-10 cytokine. Percentage of Tregs was increased under the influence of estriol, whereas Th17 proportion was diminished. These hormonal effects upon lymphocytes were reproducible both for healthy donors, and MS patients. Moreover, estriol stimulated IL-10 production and inhibited secretion of IL-6 and IL-17. Therefore, a sufficient release of MS symptoms observed during pregnancy may be explained by influence of estriol, thus extending opportunities for rational use of this steroid hormone in MS treatment. (*Med. Immunol.*, 2014, vol. 16, N 1, pp 53-60)

Keywords: multiple sclerosis, estriol, T regulatory lymphocytes, Th17 lymphocytes, cytokines

Address for correspondence:

Nekrasova Irina V.
PhD, Research Associate, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm
614081, Russian Federation, Perm, Goleva str., 13.
Phone: 7 (342) 280-84-31.
Fax: 7 (342) 280-92-11.
E-mail: nirina5@mail.ru

Authors:

Nekrasova I.V., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Immune Regulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation
Shirshov S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Immune Regulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation
Danchenko I.Y., Postgraduate Student, Perm State Medical Academy, Perm, Russian Federation

Received 01.11.2013

Revision received 10.11.2013

Accepted 15.11.2013

Введение

Рассеянный склероз (РС) – это аутоиммунное заболевание, при котором происходит активация иммунного ответа по Th1-типу, сопровождающаяся разрушением лейкоцитами миелиновых волокон. Субтип IL-17-продуцирующих лимфоцитов (Th17) является одним из ведущих в патогенезе РС [31]. В последние годы на эти клетки обращают особое внимание, поскольку они играют ключевую роль в индукции ряда аутоиммунных и воспалительных реакций [32]. В то же время для развития аутоиммунного процесса активации только Th17-клеток недостаточно, требуется также существенное снижение T-регуляторных лимфоцитов (Treg), поддерживающих аутоотолерантность [16, 21].

При беременности наблюдается ослабление проявлений Th1-опосредованных аутоиммунных патологий, в том числе и РС [6, 24]. Учитывая, что беременность сопровождается существенной гормональной перестройкой, можно предположить, что гормоны плаценты являются теми факторами, которые ослабляют течение РС. Эстриол (E_3) является одним из возможных кандидатов на роль регулятора баланса Th17/Treg в период беременности. Так, при применении E_3 (8 мг/день в течение шести месяцев) у пациентов с РС наблюдалось существенное улучшение течения данного заболевания [30]. Pelfrey с соавт. полагают, что ослабление симптомов РС при беременности может быть опосредовано действием половых стероидных гормонов, регулирующих уровень костимулирующих молекул, таких как CD80/CD86 и лиганда CD40 [27]. Кроме того, показано, что эстрогены в высоких концентрациях оказывают положительное влияние на течение экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ) у мышей, являющегося моделью хронического рецидивирующего РС [15]. При этом у экспериментальных животных снижается продукция провоспалительных цитокинов [18, 25]. В исследованиях на лимфоидных клетках здоровых доноров *in vitro* нами продемонстрирована способность E_3 повышать уровень индуцибельных (i) Treg [1, 2].

Целью данной работы явилось исследование влияния E_3 (в концентрациях, характерных для беременности) на уровень функционально активных Treg- и Th17-клеток здоровых небеременных женщин и больных РС, а также продукцию соответствующих цитокинов.

Материалы и методы

В работе исследовали мононуклеары периферической крови (МПК) здоровых доноров и женщин с РС. Группа больных подбиралась согласно

модифицированным диагностическим критериям McDonald [22], с ремитирующим типом течения заболевания, не подвергавшихся терапии препаратами, изменяющими течение РС, а также иммуномодулирующей терапии, и находящихся в стадии клинической ремиссии. Средний возраст пациентов – $36,3 \pm 2,52$ лет, средний стаж заболевания – $3,67 \pm 1,61$ лет, с показателем по расширенной шкале оценки инвалидизации EDSS (Expanded Disability Status Scale) от 1,5 до 3,5 баллов. Группа здоровых женщин имела средний возраст $32,7 \pm 2,68$ лет.

Суспензию МПК получали центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографи-на ($1,077 \text{ г/см}^3$) в течение 40 мин при 1750 об/мин.

Выделенные клетки (5×10^6 /мл) инкубировали в пластиковых пробирках «Эппендорф» в полной питательной среде (среда RPMI-1640, содержащая 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 1 мМ HEPES, 2 мМ L-глутамин, 100 мкг/мл гентамицина) в течение 72 часов при 37°C в условиях 5% CO_2 . E_3 вносили в культуру клеток в концентрациях, соответствующих уровням данного гормона во время физиологически протекающей беременности (2 нг/мл – I триместр и 20 нг/мл – III триместр [17]). В контрольные пробы вносили растворитель гормона. По окончании инкубации снимали супернатант и оценивали фенотип лимфоцитов на проточном цитофлюориметре («Becton Dickinson», США). Жизнеспособность клеток, определяемая в тесте с эозином после 72 ч инкубации с E_3 , составляла 95-98%.

Окрашивание поверхностных и внутриклеточных маркеров осуществляли согласно методике производителя моноклональных антител («Bioscience», США). Для контроля неспецифического связывания и выделения негативного по флюоресценции лимфоцитарного окна использовали соответствующие изотипические контроли. Определяли экспрессию внутриклеточного фактора FoxP3 (forkhead box P3, маркер Treg-клеток [9]) и поверхностной молекулы CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CD152) – одного из показателей функциональной активности Treg, участвующей в реализации ингибиторной функции регуляторных лимфоцитов [5]. Treg-клетки оценивали как процент CD4^+ лимфоцитов (Anti-human CD4 FITC), экспрессирующих FoxP3 (Anti-Human FoxP3 PE) и CTLA-4 (Anti-human CTLA-4 APC).

Th17-клетки оценивали как процент CD4^+ лимфоцитов (Anti-human CD4 FITC), экспрессирующих внутриклеточный транскрипционный фактор ROR γ t (RAR-related orphan receptor γ t), специфичный для субпопуляции Th17 [20] (Anti-mouse/human ROR-gamma-t PE), и внутриклеточный IL-17A (Anti-Human IL-17A PE-Cy7).

В супернатантах культур МПК иммуноферментным методом оценивали концентрацию цитокинов IL-6, IL-10 и IL-17 согласно методике производителя («Вектор-Бест», Новосибирская обл., Россия).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием парного и непарного t-критерия Стьюдента.

Результаты

Влияние E₃ на функциональную активность Treg- и Th17-лимфоцитов

Установлено, что уровень CD4⁺FoxP3⁺CTLA-4⁺ лимфоцитов у больных РС был статистически значимо ниже, чем у здоровых доноров. Под влиянием E₃ в концентрации, соответствующей III триместру беременности, повышался процент данных клеток у здоровых доноров и вне зависимости от концентрации – у больных РС (табл. 1).

Вне зависимости от концентрации E₃ снижался процент CD4⁺RORγt⁺IL-17A⁺ лимфоцитов в культурах клеток больных РС и в низкой концентрации – здоровых доноров (табл. 2).

Влияние E₃ на продукцию цитокинов

Уровень противовоспалительного цитокина IL-10 был достоверно ниже у больных РС в сравнении со здоровыми донорами. В низкой концентрации, соответствующей I триместру беременности, E₃ усиливал продукцию IL-10 в культурах клеток больных РС, а в высокой концентрации – в клеточных культурах здоровых доноров (табл. 3).

В низкой концентрации гормон угнетал продукцию IL-17 как клетками больных РС, так и здоровых доноров. При этом исходный уровень цитокина был статистически значимо выше у больных РС (табл. 4).

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЦЕНТНОГО СОДЕРЖАНИЯ Treg-ЛИМФОЦИТОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ E₃

Гормональное воздействие	Процент CD4 ⁺ FoxP3 ⁺ CTLA-4 ⁺ лимфоцитов	
	Здоровые доноры	Больные РС
Контроль	1,54±0,358	0,82±0,180 [#]
Эстриол, 2 нг/мл	1,59±0,339	1,935±0,501 [*]
Эстриол, 20 нг/мл	2,51±0,596 [*]	1,46±0,332 [*]

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с контролем; [#] – p < 0,05 по сравнению со здоровыми донорами.

ТАБЛИЦА 2. ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЦЕНТНОГО СОДЕРЖАНИЯ Th17-ЛИМФОЦИТОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ E₃

Гормональное воздействие	Процент CD4 ⁺ RORγt ⁺ IL-17 ⁺ лимфоцитов	
	Здоровые доноры	Больные РС
Контроль	1,74±0,738	2,16±0,753
Эстриол, 2 нг/мл	0,43±0,149 [*]	1,607±0,697 ^{*,#}
Эстриол, 20 нг/мл	1,31±0,417	0,36±0,146 ^{*,#}

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с контролем; [#] – p < 0,05 по сравнению со здоровыми донорами.

ТАБЛИЦА 3. ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ IL-10 ПОД ВЛИЯНИЕМ E₃

Гормональное воздействие	Концентрация IL-10, пг/мл	
	Здоровые доноры	Больные РС
Контроль	85,14±13,193	53,83±3,808 [#]
Эстриол, 2 нг/мл	81,58±16,332	65,42±8,848 [*]
Эстриол, 20 нг/мл	108,22±2,750 [*]	81,75±14,948 [#]

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с контролем; [#] – p < 0,05 по сравнению со здоровыми донорами.

ТАБЛИЦА 4. ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ IL-17 ПОД ВЛИЯНИЕМ E₃

Гормональное воздействие	Концентрация IL-17, пг/мл	
	Здоровые доноры	Больные РС
Контроль	20,88±8,504	39,70±3,245 [#]
Эстриол, 2 нг/мл	9,98±4,804 [*]	16,39±2,388 ^{*,#}
Эстриол, 20 нг/мл	17,8±7,545	27,38±2,275

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с контролем; # – p < 0,05 по сравнению со здоровыми донорами.

ТАБЛИЦА 5. ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ IL-6 ПОД ВЛИЯНИЕМ E₃

Гормональное воздействие	Концентрация IL-6, пг/мл	
	Здоровые доноры	Больные РС
Контроль	77,48±1,464	81,14±0,792 [#]
Эстриол, 2 нг/мл	79,04±0,989	81,12±1,143
Эстриол, 20 нг/мл	74,11±3,276	78,21±0,623 [*]

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с контролем; # – p < 0,05 по сравнению со здоровыми донорами.

Установлено, что исходный уровень IL-6 в супернатантах клеточных культур больных РС был выше в сравнении со здоровыми донорами. E₃ в высокой концентрации угнетает продукцию данного цитокина клетками больных РС. На синтез IL-6 клетками здоровых доноров гормон влияния не оказал (табл. 5).

Обсуждение

Как и ожидалось, количество Treg CTLA-4⁺ клеток у больных РС было статистически значимо ниже, чем у здоровых доноров, что подтверждает ключевую роль этой субпопуляции в патогенезе РС. Процент Th17-лимфоцитов достоверно не отличался у здоровых доноров и больных РС, но имел тенденцию к увеличению у последних. При этом Th17-клетки больных РС секретировали повышенные уровни цитокина IL-17. Известно, что данный цитокин вызывает синтез IL-1, TNFα, IL-6, IL-8, G-CSF, GM-CSF [13, 29] и повышает экспрессию ICAM-1, что способствует разрушению гематоэнцефалического барьера [3].

Помимо снижения количества Treg и повышения секреции IL-17 клетки больных РС продуцировали достоверно более высокие уровни IL-6, который индуцирует развитие Th17 из наивных T-клеток и угнетает дифференцировку в направлении Treg-лимфоцитов [19, 28, 34]. Ранее полагалось, что основным цитокином для инициации образования Th17, по крайней мере, у мышей является IL-23 [11, 26]. Однако результаты по-

следних исследований показали, что, скорее всего, данный цитокин играет роль в поддержании функциональной активности уже дифференцированных Th17, так как рецепторы к нему (IL-23R) экспрессируются только на активированных клетках [4]. Возможно, именно присутствие IL-6 является тем критическим фактором, благодаря которому TGF-β стимулирует дифференцировку Th17, а не Treg. Повышение концентрации IL-6 также может быть обусловлено тем, что клетки больных РС продуцируют повышенные уровни IL-17, который, в свою очередь, способен индуцировать синтез IL-6 [29].

Под влиянием E₃ в обеих исследуемых концентрациях процент Treg в клеточных культурах больных РС повышался до такового у здоровых доноров. Увеличение пула CD4⁺FoxP3⁺CTLA-4⁺T-клеток в периферической крови может происходить как за счет пролиферации естественных Treg, так и за счет трансформации Th0 в iTreg – посредством индукции экспрессии молекулы FoxP3 [12]. Учитывая, что в представленном исследовании время культивирования (3 сут.) недостаточно для полноценной пролиферации nTreg [8], можно полагать, что E₃ усиливает процессы генерации активных iTreg (CD4⁺FoxP3⁺CTLA-4⁺). Ранее нами показано, что E₃ через активацию протеинкиназы A уже через сутки инкубации стимулирует экспрессию FoxP3 в CD4⁺ клетках [1, 2]. Известно, что Treg способны подавлять функции цитотоксических лимфоцитов как бла-

годаря контактному взаимодействию посредством CTLA-4, так и путем секреции противовоспалительного цитокина IL-10 [33], уровень которого также возрастал под действием E₃ в культуре лимфоцитов больных РС. Важно подчеркнуть, что статистически значимый эффект на Treg здоровых доноров E₃ реализует только в высокой концентрации, тогда как клетки больных РС, демонстрирующие исходно более низкие уровни IL-10, оказываются чувствительнее к действию гормона. Кроме того, под влиянием низкой концентрации E₃ снижался уровень внутриклеточного IL-17A, а также его секреция, как в культурах здоровых доноров, так и больных РС. В высокой концентрации гормон способствовал снижению количества CD4⁺RORγt⁺IL-17A⁺ клеток больных РС и ключевого цитокина IL-6.

Таким образом, E₃ одновременно повышает количество активных iTreg и снижает процент Th17-лимфоцитов (уровень данных субпопуляций оценивался одновременно в одной клеточной культуре). Учитывая то, что в данной экспериментальной модели не использовались цитокины, стимулирующие образование iTreg и Th17, можно предположить, что E₃ либо напрямую способствует экспрессии FoxP3, либо

индуцирует секрецию цитокинов, приводящих к генерации активных iTreg. Первое предположение, на наш взгляд, более реалистично, поскольку известно, что эстрогены могут опосредовать свое действие через разные типы рецепторов: мембранный и ядерный ER, а также рецептор семейства GPCR – GPER1 [23], сигнальные пути с которых приводят к активации FoxP3 [10]. Поскольку FoxP3 способен либо напрямую связываться с транскрипционным фактором RORγt, либо ингибировать его экспрессию, действуя через таргетный ген [14], E₃, усиливая экспрессию FoxP3, одновременно снижает уровень и активность Th17-лимфоцитов.

Таким образом, гормон беременности E₃ способен не только модулировать функциональную активность регуляторных субтипов лимфоцитов здоровых доноров, но и реализовывать подобный эффект на лимфоциты больных РС, которые оказываются даже более чувствительны к действию данного эстрогена, чем клетки здоровых доноров. Наблюдаемое снижение проявлений РС при беременности может быть обусловлено влиянием E₃, что открывает перспективы для дальнейшего использования данного гормона в комплексной терапии РС.

Список литературы

1. Некрасова И.В., Ширшев С.В. Формирование толерогенных свойств мононуклеарных клеток под действием эстриола // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6 (15), № 1. – С. 45-50.

2. Ширшев С.В., Некрасова И.В. Комплексное исследование иммуномодулирующей активности эстриола // Иммунология. – 2011. – Т. 32, № 2. – С. 72-74.

Ссылки 3-35 см. в References (стр. 58-60). See References for numbers 3-35 at pp. 58-60.

References

1. Nekrasova I.V., Shirshov S.V. Formirovanie tolerogennykh svoystv mononuklearnykh kletok pod deystviem estriola [Forming of mononuclear cells toleragenic features under the estriol influence]. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal – Russian Journal of Immunology*, 2012, vol. 6 (15), no. 1, pp. 45-50.

2. Shirshov S.V., Nekrasova I.V. Kompleksnoe issledovanie immunomoduliruyushchey aktivnosti estriola [The complex study of estriol immunomodulating activity]. *Immunologiya – Immunology*, 2011, vol. 32, no. 2, pp. 72-74.

3. Afzali B., Lombardi G., Lecher R.I., Lord G.M. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 2007, vol. 148, pp. 32-46.

4. Aggarwal S., Ghilardi N., Xie M.-H., de Sauvage F.J., Gurney A.L. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, pp. 1910-1914.

5. Brunner M.C., Chambers C.A., Chan F.K., Hanke J., Winoto A., Allison J.P. CTLA-4-mediated inhibition of early events of T cell proliferation. *J. Immunol.*, 1999, vol. 162, pp. 5813-5820.

6. Buyon J.P. The effects of pregnancy on autoimmune diseases. *J. Leu. Biol.*, 1998, vol. 63, pp. 281-287.

7. Chaouat G., Assal M., Mortal J. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBA x DBA/2 mating combination, and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by *in vivo* injection of IFN- τ . *J. Immunol.*, 1995, vol. 154, pp. 4261-4268.

8. De Rosa V., Procaccini C., Cali G., Pirozzi G., Fontana S., Zappacosta S., La Cava A., Matarese G. A key role of leptin in the control of regulatory T cell proliferation. *Immunity*, 2007, vol. 26, no. 2, pp. 241-255.
9. Fontenot J.D., Rasmussen J.P., Williams L.M., Dooley J.L., Farr A.G., Rudensky A.Y. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor Foxp3. *Immunity*, 2005, vol. 22, pp. 329-341.
10. Haiqi H., Yong Z., Yi L. Transcriptional regulation of Foxp3 in regulatory T cells. *Immunobiology*, 2011, vol. 216, pp. 678-685.
11. Harrington L.E., Hatton R.D., Mangan P.R. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.*, 2005, vol. 6, pp. 1123-1132.
12. Heikkinen J., Möttönen M., Alanen A., Lassila O. Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004, vol. 136, no. 2, pp. 373-378.
13. Hirata T., Osuga Y., Hamasaki K. et al. Interleukin (IL)-17A stimulates IL-8 secretion, cyclooxygenase-2 expression, and cell-proliferation of endometriotic stromal cells. *Endocrinol.*, 2008, vol. 149, no. 3, pp. 1260-1267.
14. Ivanov I.I., Zhou L., Littman D.R. Transcriptional Regulation of Th17 Cell Differentiation. *Semin. Immunol.*, 2007, vol. 19, no. 6, pp. 409-417.
15. Jansson L., Olsson T., Holmdahl R. Estrogen induces a potent suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis and collagen-induced arthritis in mice. *J. Neuroimmunol.*, 1994, vol. 53, pp. 203-207.
16. Jonuleit H., Schmitt E., Kakirman H., Stassen M., Knop J., Enk A.H. Infectious tolerance: human CD25(+) regulatory T cells convey suppressor activity to conventional CD4(+) T helper cells. *J. Exp. Med.*, 2002, vol. 196, pp. 255-260.
17. Kase N. G., Reyniak J. V. Endocrinology of pregnancy. Mount Sinai J. Med., 1985, vol. 52, pp. 11-34.
18. Kim S., Liva S.M., Dalal M.A., Verity M.A., Voskuhl R.R. Estriol ameliorates autoimmune demyelinating disease: implications for multiple sclerosis. *Neurology*, 1999, vol. 52, pp. 1230-1238.
19. Kimura A., Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur. J. Immunol.*, 2010, vol. 40, pp. 1830-1835.
20. Korn T., Bettelli E., Oukka M., Kuchroo V.K. IL-17 and Th17 Cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2009, vol. 27, pp. 485-517.
21. Malay K.J., Powrie F. Regulatory T Cells in the Control of Immune Pathology. *Nat. Immunol.*, 2001, vol. 2, pp. 816-822.
22. McDonald W.I., Compston A., Edan G., Goodkin D., Hartung H.P., Lublin F.D., McFarland H.F., Paty D.W., Polman C.H., Reingold S.C., Sandberg-Wollheim M., Sibley W., Thompson A., van den Noort S., Weinshenker B.Y., Wolinsky J.S. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for the International Panel on diagnosis of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 2001, vol. 50, pp. 121-127.
23. Moggs J.G., Orphanides G. Estrogen receptors: orchestrators of pleiotropic cellular responses. *EMBO Rep.*, 2001, vol. 2, no. 9, pp. 775-781.
24. Neuteboom R.F., Janssens A.C.J.W., Siepman T.A.M. Pregnancy in multiple sclerosis: clinical and self-report scales. *J. Neurol.*, 2012, vol. 259, pp. 311-317.
25. Palaszynski K.M., Liu H., Loo K.K., Voskuhl R.R. Estriol treatment ameliorates disease in males with experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2004, vol. 149, no. 1-2, pp. 84-89.
26. Park H., Li Z., Yang X.O., Chang S.H., Nurieva R., Wang Y.H., Wang Y., Hood L., Zhu Z., Tian Q., Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat. Immunol.*, 2005, vol. 6, pp. 1133-1141.
27. 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. *J. Neuroimmunol.*, 2005, vol. 167, pp. 190-203.
28. Schneider A., Long S.A., Cersaletti K., Ni C.T., Samuels P., Kita M., Buckner J.H. In active relapsing-remitting multiple sclerosis, effector T cell resistance to adaptive T(regs) involves IL-6-mediated signaling. *Sci. Transl. Med.*, 2013, vol. 5, no. 170, pp. 170ra15.
29. Schulz S.M., Köhler G., Holscher C., Iwakura Y., Alber G. IL-17A is produced by Th17, $\gamma\delta$ T cells and other CD4-lymphocytes during infection with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and has a mild effect in bacterial clearance. *Int. Immunol.*, 2008, vol. 9, no. 9, pp. 1129-1138.
30. Sicotte N.L., Liva S.M., Klutch R., Pfeiffer P., Bouvier S., Odesa S., Wu T.C., Voskuhl R.R. Treatment of multiple sclerosis with the pregnancy hormone estriol. *Ann. Neurol.*, 2002, vol. 52, pp. 421-428.

31. Smith A.W., Doonan B.P., Tyor W.R., Abou-Fayssal N., Haque A., Banik N.L. Regulation of Th1/Th17 cytokines and IDO gene expression by inhibition of calpain in PBMCs from MS patients. *J. Neuroimmunol.*, 2011, vol. 232, no. 1-2, pp. 179-185.
32. Tesmer L.A., Lundy K., Sarkar S., Fox D.A. Th17 cells in human disease. *Immunol. Rev.*, 2008, vol. 223, pp. 87-113.
33. Vignali D.A., Collison L.W., Workman C.J. How regulatory T cells work. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, vol. 8, no. 7, pp. 523-532.
34. Volpe E., Servant N., Zollinger R., Bogiatzi S.I., Hupé P., Barillot E., Soumelis V. A critical function for transforming growth factor beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human Th-17 responses. *Nat. Immunol.*, 2008, vol. 9, pp. 650-657.
35. Yang X.O., Nurieva R., Martinez G.J., Kang H.S., Chung Y., Pappu B.P., Shah B., Chang S.H., Schluns K.S., Watowich S.S., Feng X.H., Jetten A.M., Dong C. Molecular antagonism and plasticity of regulatory and inflammatory T cell programs. *Immunity*, 2008, vol. 29, pp. 44-56.