

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В СИСТЕМЕ ПРОЯВЛЕНИЙ ИММУННОГО ОТВЕТА (обзор)

А.Ф. ЯКОВЛЕВ

Гетерогенность популяций по иммунному ответу формируется благодаря генетическому контролю и сложной генетической регуляции функций иммунной системы. Целью статьи был анализ молекулярных механизмов клеточно-опосредованного и гуморального иммунного ответа и маркирования этих признаков для их включения в геномные показатели отбора. Доказано наличие генотипических различий между особями по восприимчивости и толерантности к инфекционным заболеваниям (S.C. Bishop с соавт., 2014). Результаты исследований свидетельствуют о многочисленных однонуклеотидных полиморфизмах (single nucleotide polymorphisms, SNP), модифицирующих степень проявления иммунного ответа у животных, что позволяет рассчитать геномные коэффициенты племенной ценности для этого признака. Существует необходимость в оценке дисперсии косвенных генетических эффектов, которые помогают открыть новые возможности для борьбы с инфекционными заболеваниями посредством отбора. Вместе с тем следует отметить, что на сегодняшний день генетический подход, основанный на количественном анализе индивидуальных проявлений патологии у особи, позволяет охватить только часть полной наследственной изменчивости, влияющей на динамику инфекционных заболеваний. Наиболее перспективным направлением в этих исследованиях представляется оценка характера экспрессии генов, в особенности генов иммунного ответа (В.В. Фирстова с соавт., 2010). Использование SNP-чипов высокой плотности для анализа геномной области главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС-В), которая охватывает у птиц 209296 п.н., позволило определить 45 основных генов с эффектами увеличения разнообразия посредством рекомбинаций. Полученные данные расширяют представление о вкладе рекомбинаций в формирование разнообразия по гаплотипам МНС-В, включая возможность выявления горячих точек таких рекомбинаций и оценки их частоты (J.E. Fulton с соавт., 2016). На хромосомах кур картированы каузативные мутации, которые вызывают генетическую изменчивость врожденных и адаптивных иммунных реакций (A. Slawinska с соавт., 2013). Поиск ключевых мутаций, ответственных за изменчивость иммунного ответа, можно рассматривать как подход в диагностике восприимчивости к заболеваниям. Так, выявлены ассоциации мононуклеотидного полиморфизма с восприимчивостью к туберкулезу (M.L. Bermingham с соавт., 2014). Иммунные реакции попадают в категорию сложных количественных признаков и находятся под контролем нескольких генов, при этом заметное влияние оказывает окружающая среда. Очевидно, в формировании врожденного и адаптивного иммунитета могут принимать участие некоторые гены общего, универсального действия. Можно считать, что для таких иммунных реакций характерен преимущественно аддитивный тип наследования (M. Siwek с соавт., 2015). Селекция на резистентность к заболеваниям представляет серьезные сложности из-за низкой наследуемости. Возможности классического генетического анализа недостаточны для оценки изменчивости этого признака и практического применения в селекции, однако развитие методов молекулярного маркирования создает новые перспективы для отбора на повышение устойчивости животных к заболеваниям. Проведенные исследования ассоциаций различных геномных элементов и общего адаптивного иммунного ответа у разных видов сельскохозяйственных животных дают отправную точку для реализации таких планов. Определение кандидатных генов и биологических путей, связанных с иммунной реактивностью, может помочь в понимании важных процессов, лежащих в основе резистентности или восприимчивости животных к инфекционным болезням.

Ключевые слова: иммунный ответ, антитела, геном, однонуклеотидный полиморфизм, SNP, заболевания, резистентность, селекция, количественные признаки, рецепторы, животные, наследуемость, ассоциации, мутации.

Инфекционные заболевания представляют серьезную экономическую проблему для животноводства и формируют зоонозные угрозы для здоровья человека. Изменение характера иммунного ответа в соответствии с особенностями действия патогена обеспечивает основную защиту животных. Обнаружены генотипические различия между особями в отношении восприимчивости и толерантности к инфекционным заболеваниям (1, 2). Однако по-прежнему стоит вопрос о возможности включения характеристик иммунного ответа в селекционные индексы для снижения частоты

и тяжести заболеваний животных.

В последнее десятилетие разработана технология геномной оценки животных посредством полногеномного скрининга однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms, SNPs). Технология позволяет выявлять до нескольких миллионов полиморфных нуклеотидов, из которых сотни и тысячи могут служить маркерами изменчивости в проявлении количественных признаков. Геномная селекция успешно внедрена в племенную службу многих стран мира (3).

Этот обзор обобщает данные о генах-кандидатах, локусах количественных признаков (QTL), каузативных мутациях, вовлеченных в контроль иммунитета, и ассоциированных с ними однонуклеотидных полиморфизмах (SNPs) в связи с перспективами геномной селекции на устойчивость животных к болезням. Исследования ассоциаций полиморфизма некоторых геномных элементов и общего адаптивного иммунного ответа у разных видов сельскохозяйственных животных позволяют создать базу для реализации таких планов. Определение потенциальных генов и биологических механизмов, связанных с иммунореактивностью, поможет разобраться в формировании резистентности или восприимчивости животных к болезням, обнаружить маркеры признаков иммунного ответа для их включения в геномные показатели отбора.

Цель обзора — проанализировать возможности и способы оценки не которых характеристик иммунного ответа с помощью молекулярных маркеров для отбора особей с повышенной резистентностью к заболеваниям.

Известны две основные категории иммунных реакций — врожденного и приобретенного (адаптивного) иммунитета. Изучение генетических основ иммунного ответа основано на выявлении соответствующих QTL (quantitative trait loci) и единичных мутаций в структурных генах-кандидатах, участвующих в контроле иммунного ответа. Для поиска ассоциаций с SNPs в определенных QTL-регионах и генах-кандидатах такие гены и SNPs отбирают в базах данных секвенированных последовательностей (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и оценивают связь между SNPs и изменчивостью количественных признаков. Разработана обобщенная линейная модель для оценки относительных эффектов генов в формировании восприимчивости и резистентности к инфекционным заболеваниям (4). Ее можно использовать при изучении ассоциаций маркеров и генов с заболеваемостью и распространением инфекционных болезней. Тем не менее, следует иметь в виду, что классический количественный генетический анализ, выполненный применительно к одной патологии, отразит только часть наследственной популяционной изменчивости, влияющей на динамику инфекционных заболеваний (5). Подтвердилась применимость линейной модели для вероятностной оценки восприимчивости индивидуума к инфекции, однако эта модель не дает полной характеристики анализируемых параметров, а ее инфекционный компонент не всегда линеен (6). Разработана модель на основе уравнения, описывающего вероятность заражения индивидуума в зависимости от его генетически обусловленной восприимчивости и генотипических особенностей инфицированных членов группы. Предложенные модели полезны при изучении изменчивости полигенных признаков, для которых оцениваются эффекты всех генов одновременно с целью предсказания племенной ценности генотипа (например, в геномном прогнозировании), а также при выявлении генов, способствующих распространению инфекций (7).

Использование SNP-чипов высокой плотности для анализа геномного региона главного комплекса гистосовместимости В-типа (major histo-

compatibility complex, МНС-В), протяженность которого у птиц 209296 п.н., позволило определить 45 основных генов с возможностью увеличения разнообразия посредством рекомбинаций (8). SNP-генотипирование идентифицировало 122 гаплотипа по МНС-В, в том числе новые рекомбинантные гаплотипы, возникшие благодаря кроссинговеру в пределах региона. Кроме того, получены доказательства дупликации и делеции генов. Показано, что SNP-панель достаточна для идентификации известных и новых рекомбинантных гаплотипов. Изменились представления о вкладе рекомбинаций в разнообразие гаплотипов МНС-В, включая возможность выявления горячих точек рекомбинаций и оценки частот рекомбинаций (8).

Иммунные реакции относятся к сложным количественным признакам и находятся под контролем ряда генов, на проявление которых влияет окружающая среда. Поиск ключевых мутаций, ответственных за генетически детерминированную изменчивость признака, можно рассматривать как подход к диагностике резистентности, а также к профилактике и лечению заболеваний. М. Siwek с соавт. (9) исследовали адаптивный иммунитет при воздействии гемоцианином и врожденный иммунный ответ на липосахариды и липотейхоевую кислоту. Регистрировали гены-кандидаты и мутации у кур, выявляя ассоциации с SNPs в определенных QTL-регионах. При генотипировании с помощью чипов («Illumina», США) наиболее значимые SNPs, ассоциированные с реакцией на гемоцианин, обнаружили в гене, кодирующем JMJD6 (Jumonji domain-containing 6 protein, деметилаза аргинина и лизина гистонов) и локализованном на 18-й хромосоме. Четыре SNPs расположены в генах-кандидатах *FOXJ1* (транскрипционный фактор 1) на 18-й хромосоме, *EPHB1* (рецептор тирозиназы B1) — на 9-й хромосоме, *PTGER4* (рецептор 4 простагландина E) — на Z-хромосоме, *PRKCB* (β-изоформа протеинкиназы C) — на 14-й хромосоме. Для всех них показана ассоциация с выработкой антител против липосахаридов. Один SNP в гене *ITGB4* (интегрин β4), расположенный на 18-й хромосоме, тоже связан с врожденным иммунитетом против липосахаридов. Характеристика продуктов этих генов выводит их в кандидаты на участие в иммунных реакциях против липосахаридов, в контроле функций Т-клеток и их пролиферации. Так, ген *FOXJ1* вовлечен в регуляцию Т-клеточной толерантности и ингибирование спонтанных аутоиммунных заболеваний; ген *PTGER4* модулирует иммунный ответ, усиливая продукцию простагландина E2 при воспалении; ген *ITGB4* связан с иммунной реакцией на липотейхоевую кислоту, которая инициирует иммунный ответ через распознавание толл-подобных рецепторов 2 (toll-like receptor, TLR), взаимодействующих с макрофагами или антигенпрезентирующими дендритными клетками.

Таким образом, SNPs, ассоциированные с наиболее значимыми проявлениями иммунных реакций на гемоцианин и липотейхоевую кислоту, расположены не QTL-регионах, которые изначально (на основании анализа групп сцепления) предлагались в качестве главных по влиянию на иммунный ответ. Подобный анализ может служить лишь предварительным инструментом при поиске ключевых мутаций в генах-кандидатах. В формировании врожденного и приобретенного иммунитета могут принимать участие некоторые гены универсального действия. Можно считать, что тот и другой иммунитет преимущественно имеет аддитивный тип наследования.

Подтверждено наличие QTL, связанных с иммунным ответом, на 9-й, 4-й и 18-й хромосомах кур (10). Дополнительный статистический анализ QTL (с сужением доверительных интервалов) показал, что выбранные области на 9-й, 4-й, 18-й и Z хромосомах несут каузальные мутации, связанные с основной генетически детерминированной изменчивостью

врожденных и адаптивных иммунных реакций. Гены-кандидаты, ассоциированные с синтезом антител против липотейхоевой кислоты, расположены на 9-й (гены *EPHB1*, *KLHL6*, *PROCR*) и 18-й хромосомах (гены *ITGB4*, *UNC13D*, *MAP2K4*, *FOXJ1*, *JMJD6*). Отмечали ассоциацию SNP-полиморфизма в области генов *MAPK8IP3*, *IL9R*, *SOC1*, *PRKCB* на 14-й хромосоме с проявлением иммунной реакции на липосахариды. Гены-кандидаты антигеногенеза в ответ на воздействие липотейхоевой кислоты расположены на хромосомах 9-й (*KLHL6*), 8-й (*FOXJ1*, *ITGB4*, *JMJD6*) и Z (*PTGER4*).

Известно, что геномную оценку рассматривают как перспективный инструмент повышения эффективности селекции по экономически важным количественным признакам животных — молочной и мясной продуктивности, качеству продукции (3, 11, 12). Х. Лу с соавт. (13) на выборке из 657 свиной изучали SNPs, ассоциированные с иммунным ответом. В 21-суточном возрасте поросят вакцинировали модифицированной живой вакциной против классической чумы свиной, кровь брали в возрасте 20 и 35 сут. Регистрировали содержание γ -интерферона ($IFN\gamma$) и интерлейкина 10 (IL-10), их количественное соотношение, степень нейтрализации вируса иммуноглобулином G (IgG). При генотипировании использовали чип Illumina porcine SNP60 BeadChip. После контроля качества отобрали 46079 SNPs для выявления ассоциаций на основе регрессионной модели по каждому SNP. Для получения достоверных результатов выполнили 10000 итераций. На статистически значимом уровне отобрали 32 SNPs, на которые приходилось от 3,23 до 13,81 % общей фенотипической дисперсии. Фенотипическая дисперсия по $IFN\gamma$, IL-10, $IFN\gamma/IL-10$ и IgG составила соответственно 37,52; 82,94; 26,74 и 24,16 %. Не исключено, что несколько существенных SNPs локализованы на участках, которые содержат ряд известных генов, связанных с иммунитетом. Это исследование заложило основу для выявления мутаций, влияющих на иммунный потенциал свиной. Были обнаружены ассоциации SNP гена *PANE1* (Proliferation Associated Nuclear Element 1, минорный антиген гистосовместимости) с иммунологическими показателями крови и живой массой поросят при рождении (14). Позднее определили частоту аллелей этого гена у домашних свиной и диких кабанов и его ассоциацию с показателями репродукции (15). По частоте полиморфных вариантов *PANE1* дикие свиной достоверно не отличались от домашних, однако у свиноматок с заменой C→G в первом интроне гена *PANE1* снижалась численность помета и живая масса гнезда.

Новые методы позволили выявить гены и геномные области с высокой степенью сопряженности с ответом на вакцины и резистентностью к определенным патогенам. Эти результаты помогают картировать гены, связанные с устойчивостью к болезням, для последующего использования в геномном отборе. Особое внимание необходимо уделить вирусным заболеваниям, многие возбудители которых непрерывно мутируют и эволюционируют, что требует молекулярно-генетического контроля за изменением ассоциаций, значимых для проявления иммунитета.

Геномная оценка кроссов корейских и йоркширских свиной показала в F₂ 46865 SNPs (16). Регрессионный анализ выявил 54 SNPs, предположительно связанных с функциями нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, иммуноглобулинов, инсулина и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1). Каждый набор SNPs объяснял от 24 до 42 % фенотипической дисперсии соответствующего признака. Несколько плейотропных SNPs обнаружили на 4-й, 13-й, 14-й и 15-й хромосомах. Сообщается о QTL, найденных с помощью SNP-микрочипов высокой плотности, для компонентов крови, связанных с иммунным ответом (17, 18).

Показано, что генетические характеристики играют важную роль в подверженности репродуктивно-респираторному синдрому свиней (PPCC) и течению этого заболевания, наносящему значительный экономический ущерб (19). На 4-й хромосоме свиней имеется QTL, который объясняет значительную часть генетической изменчивости по чувствительности к PPCC. Сделана попытка определить гаплотипы, связанные с желательным фенотипом, исследовать дополнительные участки генома, ассоциированные с реакцией свиней на PPCC, а также определить прогностическое значение геномных оценок по QTL на 4-й и других хромосомах для селекции (19, 20). Выборка состояла из 200 свиней, которых исследовали с помощью чипа Illumina porcine SNP60 BeadChip. Признаки, связанные с ответом на инфекцию, в значительной степени контролировались участком 4-й хромосомы, хотя небольшие эффекты были связаны с другими хромосомами. Опыты показали, что селекция по SNP-генотипам QTLs на 4-й хромосоме может уменьшить последствия от PPCC, в том числе экономические. Рассматривается ключевая роль мутации rs340943904 в 4-й хромосоме в контроле ответа на PPCC. Полученные результаты помогут разработке селекционных методов для борьбы с PPCC.

Имеются статистически достоверные данные о полногеномных ассоциациях SNPs с восприимчивостью к инфекционным заболеваниям. У крупного рогатого скота выявлены такие ассоциации в случае туберкулеза (возбудитель *Mycobacterium bovis*), который наносит существенный экономический урон и сопровождается риском зоонозов (21-25). Локусы резистентности к туберкулезу определены с помощью чипа Illumina BovineHD BeadChip. Использование линейных и логистических смешанных моделей, а также регрессий позволило выявить два новых локуса резистентности, включающих гены *PTPRT* (Receptor-type tyrosine-protein phosphatase T) и *MYO3B* (миозин IIIB). Информативными SNPs объяснялся 21 % фенотипической дисперсии резистентности к туберкулезу, из них на регион, включающий ген *PTPRT*, приходилось 6,2 % дисперсии и еще 3,6 % было связано с предполагаемыми копиями вариантов гена *MYO3B*.

Повторим, что современные методы количественного генетического анализа проявлений патологии у особи выявляют только часть наследственной изменчивости (26), а селекцию на резистентность к болезням серьезно осложняет низкая наследуемость признака. Отбор на резистентность, выполняемый с помощью индекса оценочных значений прямых и косвенных селекционных признаков, эффективнее традиционного, но для его использования нужно исследовать модели проявления косвенных генетических эффектов, совершенствовать статистические модели, определить требования к сбору данных и планированию экспериментов, необходимых для достоверной оценки генетических параметров восприимчивости хозяина и патогенности инфекционного агента (27). Различия в характере передачи инфекции могут быть вызваны наследственными изменениями как физиологических, так и поведенческих реакций. Следует также иметь в виду, что нерегламентированное применение антибиотиков индуцирует устойчивость патогенов и требует дополнительных мер по борьбе с болезнями (28, 29).

Канадские исследователи показали, что разведение животных с учетом признаков иммунного ответа позволяет повысить устойчивость к болезням у молочного скота. Регистрация клеточно-опосредованной реакции и ответа через антитела позволила разделить животных на группы с сильным, средним и слабым иммунным ответом (30). Коэффициент наследования признаков иммунного ответа составлял от 0,19 до 0,29, что свидетельствует о возможности селекции по этому признаку. Высокий

иммунитет позволял снижать частоту маститов, метритов и кетозов (31). У коров со слабым иммунным ответом, опосредованным антителами, как правило, самые тяжелые формы мастита. Эти исследования показывают возможность использовать данные о характере иммунного ответа для снижения частоты и тяжести ряда заболеваний у сельскохозяйственных животных, а также вести селекцию на повышение иммунитета. В геноме коров идентифицированы SNPs, которые связаны с иммунным ответом, опосредованным антителами, выявлены гены-кандидаты и биологические механизмы, вовлеченные в контроль этих процессов (32). С достоверностью $P < 0,05$ 4045 из 54609 зарегистрированных SNPs были связаны с гуморальным иммунным ответом. После исключения ложных аллелей с низкой частотой получили 402 SNPs. Большинство из них локализовались на 23-й хромосоме (на ней находятся гены главного комплекса гистосовместимости крупного рогатого скота *Bola*). Выполненное исследование свидетельствует о наличии у молочного скота многочисленных SNPs, связанных с разной способностью к выработке антител при иммунном ответе, что позволяет использовать этот признак в селекции.

Распространение многих хронических аутоиммунных заболеваний может быть связано с изменениями в генах врожденного иммунитета. Отбор на генетически детерминированную степень иммунореактивности влияет на частоту возникновения и тяжесть заболеваний у молочного скота. Была попытка использовать лабораторную технологию *in vitro* для характеристики иммунного ответа в связи с фенотипическими признаками молочного скота (33, 34). Лимфоциты крови коров, классифицированные по силе иммунного ответа, стимулировали конканавалином А и регистрировали показатели генной экспрессии. У животных с высоким иммунным статусом продукция IL-4 (интерлейкин 4), IFN γ и интерферона (ген *IFNG*) была выше, чем у особей с низким, хотя по ряду показателей группы не различались. Ожидается, что будут разработаны лабораторные тесты для отбора животных по иммунореактивности.

Как и QTL, вовлеченные в контроль тех или иных иммунных механизмов, гены эффекторных белков (например, цитокинов, противовирусных интерферонов), которые участвуют в формировании иммунного ответа на конкретный патоген, могут быть картированы.

Показано, что устойчивость мышей при заражении *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* связана с появлением молекул CD69 на поверхности Т-хелперов и синтезом IFN γ и IL-17 спленоцитами (35). Под влиянием капсульного антигена F1 чумной палочки *Yersinia pestis* при иммунизации мышей живой чумной вакциной маркер поздней активации HLA-DR (human leukocyte antigen) появляется на поверхности Т-хелперов (CD69+ и CD45RO+) и цитотоксических лимфоцитов (36). Показаны особенности активации Т- и В-лимфоцитов, экспрессии их поверхностных маркеров и синтеза цитокинов под влиянием специфических антигенов *Y. pestis* и *F. tularensis* (37). Выполнено сравнение эффектов рекомбинантного продуцента капсульного антигена F1 *Y. pestis* KM 277, его очищенного продукта (F1), химической чумной вакцины и препаратов протективного антигенного комплекса разных подвидов туляремийного микроба на экспрессию Toll-подобных рецепторов 2-го и 4-го типов (38). Рекомбинантный штамм *Y. pestis* KM 277, очищенный капсульного антигена F1 и химическая вакцина повышали экспрессию иРНК TLR2 уже в первые часы после введения экспериментальным животным с последующим усилением пролиферативной активности в центральном (тимус) и периферическом (селезенка) органах иммунной системы и формированием напряженного протек-

тивного иммунитета.

Сравнительная оценка спонтанной и индуцированной митогеном (конконавалин А) или антигеном (убитые клетки чумного микроба) продукции интерферона $IFN\gamma$ (маркер субпопуляции Th1 Т-хелперов) и интерлейкина 4 (IL-4) (маркер субпопуляции Th2 Т-хелперов) в культурах клеток крови и смешанной популяции лимфоцитов, а также количества иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA, IgE против капсульного антигена F1 в сыворотке крови показали функциональную активность Th1- и Th2-клеток (продукция $IFN\gamma$ и IL-4) у вакцинированных особей (38). У крупного рогатого скота описаны рецепторные свойства IgM, который в разные периоды онтогенеза присутствует в крови в растворимой и связанной формах. У видов животных изучены количественные изменения в популяциях клеток, несущих рецепторные белки IgSF (39), а также функции IgSF (40).

TLR играют решающую роль в формировании врожденного иммунитета против многих патогенов (41). Каждый TLR распознает определенный патоген и участвует в передаче сигнала для инициирования иммунного ответа. У млекопитающих имеется 13 TLR (от TLR1 до TLR13), специфично связывающих лиганды. У разных видов животных число TLR неодинаково. Toll-подобные рецепторы функционируют во многих типах клеток, включая макрофаги, антигенпрезентирующие дендритные клетки, кератиноциты, клетки спермы. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10 на плазматической мембране клеток распознают молекулы, специфичные для патогенов (кроме нуклеиновых кислот), внутриклеточные TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 — выявляют нуклеиновые кислоты. TLR — относительно большие белки. У свиней поверхностные и внутриклеточные TLR состоят соответственно из 785-856 и 905-1050 аминокислот. Система TLR, локализованных на плазматических мембранах, полиморфна, что позволяет организму распознавать больше патогенов. У свиней имеется 10 TLR генов, которые картированы на 1-й, 8-й, 10-й, 13-й, 15-й и X хромосомах. Генетические и функциональные исследования на свиньях выявили несколько миссенс- SNPs в TLR генах. TLR1, TLR5 и TLR6 вовлечены в продукцию антител после вакцинации против *Actinobacillus pleuropneumoniae* (42). TLR2 связывают с частыми пневмониями, вызванными *Mycoplasma hyopneumoniae* (43), TLR5 — с экспрессией IL-2, IL-10 в мононуклеарных клетках периферической крови (44). SNPs в TLR2 и TLR5, приводящие к аминокислотным заменам, имеют отношение к дифференциальному ответу на *Salmonella enteric* (45). Из 10 свиных TLR генов в генотипах наиболее часто встречается TLR4. В случае SNPs в TLR4 отмечали их достоверную ассоциацию с изменением транскрипционной активности генов интерферона, фактора некроза опухолей, интерлейкинов IL-2, IL-4 и IL-6 и наличием поврежденных в легких (46). Кроме того, с SNPs в TLR4 у свиней коррелировал тот факт, что они становились распространителями инфекции *Salmonella typhimurium* (возбудитель выявлялся в фекалиях) (47). Есть данные об участии как гуморального, так и клеточного эффективного иммунитета в формировании защиты от африканской чумы свиней (48).

Доказано, что 2-кратное внутримышечное введение курам экспериментальных инактивированных вакцин против респираторного микоплазмоза активирует субпопуляции Т-хелперов в ранние сроки после вакцинации. При этом количество CD4+ Т-хелперов достигает максимальных значений на 21-е сут (49). У кур оба генных кластера гистосовместимости (MHC-B и MHC-Y) локализованы как отдельные гаплотипы (50). Многие гены MHC-B полиморфны, а сама система полигенна, но роль лишь немногих локусов MHC-B документирована, и в большинстве случаев ассо-

циации между МНС-В и устойчивостью к болезням определены только на уровне гаплотипа (51). Показано, локус *BGI* имел весьма существенное влияние на развитие болезни Марека (52). Выявлена связь генов кластера МНС-У, который был обнаружен сравнительно недавно, с устойчивостью к болезням (53). При возвратных скрещиваниях получены несколько инбредных линий по МНС-В, в том числе конгенных линий породы белый леггорн, для исследования связей между гаплотипами по МНС-В и устойчивостью к инфекционным заболеваниям. Гаплотипы МНС-В первоначально идентифицированы с использованием гемагглютинации. Гаплотипы, которые включают *BG* и *BF* локусы, были отобраны среди гомозиготных семей (54). Недавно масштабное секвенирование области МНС-В протяженностью 59 т.п.н. подтвердило различия между 14 стандартными гаплотипами. Получены доказательства, что вклад в разнообразие гаплотипов МНС-В внесли мутации, рекомбинации и конверсия генов (55). Для более точной дифференцировки МНС-В типов у нескольких пород и популяций кур были выявлены и протестированы 101 SNPs в основной области (номер последовательности в GenBank AB268588), содержащей 45 генов, почти все из которых вовлечены в контроль врожденного и адаптивного иммунитета.

Известно, что у млекопитающих в активации макрофагов участвуют TLR. У птиц экспрессия *TLR15* значительно усиливается в ответ на стимуляцию как живыми, так и убитыми нагреванием или формалином клетками *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* и *Enterococcus gallinarum*, но не зависит от присутствия известных агонистов TLR и патогена *Rhodococcus equi* (56). Эти наблюдения показывают, что некоторые агонисты TLR не являются лигандами *TLR15*, который ответствен за распознавание уникальных граммотрицательных и грамположительных бактерий, вызывающих болезни у кур.

Примером применения методов функциональной геномики для изучения особенностей иммунного ответа может служить скрещивание линий животных с разным иммунным ответом для обнаружения QTL, определяющих такие различия. С той же целью с помощью олигонуклеотидных чипов оценивают экспрессию тысяч генов до и после инфицирования, дифференцируя эффекты для специфических антигенов (57). Интерпретация результатов влияния QTL затрудняется тем, что QTL велики по размерам и могут содержать сотни потенциальных генов-кандидатов. Использование микрочипов позволяет выявлять большое число дифференциально экспрессирующихся генов, но, к сожалению, это не объясняет специфики их взаимоотношений. Одной из сложностей в изучении работы генов в QTL остаются цис- и транс-регуляторные механизмы инициации экспрессии.

Восстановление после болезни также зависит от эффективности иммунного ответа (58), поэтому выявление генов, влияющих на иммунитет, может помочь определить животных с неодинаковой скоростью выздоровления. Наследуемые иммунные характеристики связаны с QTL иммунореактивности. Так, проявляются наследуемые признаки — доля нескольких типов клеток крови, связанных с иммунитетом, и количество антител в сыворотке.

T-регуляторные клетки (Treg) — небольшая субпопуляция T-лимфоцитов, играющая важную роль в модуляции иммунного ответа (59). Супрессирующее действие Treg может иметь нежелательные последствия. В то же время они участвуют в поддержании толерантности к собственным антигенам и супрессии аутоиммунного ответа при гемотрансфузии.

Это открывает перспективы при иммунотерапии аутоиммунных заболеваний и разработке методов улучшенного приживления аллотрансплантатов. Изучение клеточных и молекулярных механизмов иммунных процессов при онкопатологиях показало важное контролирующее и балансирующее влияние семейства Treg на иммунную систему (60). Молекулярно-генетические особенности периферических Treg, условия микроокружения, определяющие их дифференцировку и функциональную активность, саморегулирование семейства с помощью pTregs, иммунологические аспекты периферической толерантности и иммунотерапии онкологических заболеваний — ключевые вопросы экспериментальных и клинических исследований. Изучение механизмов активации и иммунорегуляции с участием наивных Т-клеток, Т-клеток памяти, молекул МНС, сигнальных белков позволило добиться определенного прогресса в противоопухолевой вакцинотерапии. В диссеминации злокачественного новообразования большая роль отводится периферической толерантности (подавление потенциально аутореактивных Т- и В-клеток в периферических тканях) и участию в ее формировании семейства Treg (61). Описаны 7 членов семейства, которые различаются по иммунофенотипу и функциональным характеристикам (62). Для разделения цитотоксических Т-лимфоцитов периферической крови на субпопуляции (CD27+, CD28+, CD45RA+ и CD62L+) использовали проточную цитометрию (64). Она же была эффективна при выявлении популяцию CD3+CD8+ лимфоцитов, находящихся на разных стадиях дифференцировки (63).

Итак, для генов-кандидатов и каузативных мутаций, вовлеченных в регуляцию функций иммунитета у животных, могут быть определены ассоциации с однонуклеотидными полиморфизмами (SNPs), локализованными в определенных QTL-регионах и собственно в генах-кандидатах. Результаты исследований свидетельствуют о наличии ключевых SNPs, ассоциированных с сильным и слабым иммунным ответом. Это дает основания для поиска методов расчета геномных коэффициентов племенной ценности животных по признакам резистентности к заболеваниям. Иммунные реакции находятся, как правило, под контролем многих генов с различными фенотипическими эффектами и под существенным влиянием окружающей среды. Изучение экспрессии генов, ответственных за проявление резистентности, поиск каузативных мутаций, молекулярных маркеров служат подходом к разработке приемов диагностики, профилактики и лечения заболеваний на молекулярно-генетическом уровне. Селекция с учетом генетически детерминированных характеристик иммунного ответа, включенных в индексы племенной ценности животных, будет способствовать снижению распространения заболеваний и их тяжести.

*Всероссийский НИИ генетики и разведения
сельскохозяйственных животных,
филиал ФГБНУ ФНЦ животноводства —
ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
196625 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, пос. Тярлево,
Московское ш., 55А,
e-mail: afyakov@mail.ru* ✉

*Поступила в редакцию
23 июня 2016 года*

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 2, pp. 235–247

MOLECULAR MARKERS IN IMMUNE RESPONSE MANIFESTATIONS (review)

A.F. Yakovlev

All-Russian Research Institute for Farm Animal Genetics and Breeding — branch of L.K. Ernst Federal Science Center

Abstract

The immune system is genetically controlled and responsible for population heterogeneity on the immune response. The aim of the article is to analyze molecular mechanisms of cell-mediated and antibody-mediated immune response and molecular markers for genomic selection. Genotypic differences between individuals in terms of tolerance/susceptibility to infectious diseases are characteristic of animal populations (S.C. Bishop et al., 2014). Data massive indicates multiple SNPs associated with high and low immune responses of animals, providing the possibility of calculating the coefficients of genomic breeding values for this attribute. There is a need to assess the dispersion of indirect genetic effects that help to open up new possibilities for the control of infectious diseases through selection. However, it should be noted that the quantitative genetic analysis based on individual animal disease status covers only part of the total genetic variation that affects the dynamics of infectious diseases in populations. Estimation of gene expression patterns in a particular immune response is considered as the most valuable (V.V. Firstova et al., 2010). Study of the major histocompatibility complex (MHC-B) 209296 bp region in birds with high-density SNP chips allowed the authors to determine 45 key genes which affect MHC-B diversity through recombination. The findings extend the understanding of the contribution of recombination to the diversity of MHC-B haplotypes, including the ability to identify hot spots and recombination estimation of recombination frequency (J.E. Fulton et al., 2016). The causative mutations related to the basic genetic variability of innate and adaptive immune responses in chickens are mapped (A. Slawinska et al., 2013). Search for causal mutations responsible for genetic variation in the immune response can be used as an approach to diagnostic tests. E.g., SNP associated with susceptibility to tuberculosis are detected (M.L. Bermingham et al., 2014). Immune response falls into a category of complex and quantitative traits that are under control of multiple genes with a noticeable influence of the environment. Obviously, some genes of common universal action may participate in innate and adaptive immunity. We can assume that such immunity has predominantly additive mode of inheritance (M. Siwek et al., 2015). Breeding for diseases resistance is greatly difficult because of low heritability and lack of estimates for comprehensive genetic assessment of the disease resistance variability. Growing genomic evaluations of the animals has created a basis for the use of molecular markers in breeding to increase animal resistance to diseases. Studies of the genome and the overall adaptive immune response associations in different species of farm animals provide an important starting point for the implementation of such plans. Identification of potential biological pathways and genes associated with immune response can assist in advancing the understanding of the important processes in animal resistance or susceptibility to diseases.

Keywords: immune response, antibodies, genome, single nucleotide polymorphism, SNP, disease, resistance, selection, quantitative traits, receptors, animals, heritability, associations, mutations.

REFERENCES

1. *Breeding for disease resistance in farm animals*. S.C. Bishop, R.F.E. Axford, F.W. Nicholas, J.B. Owen (eds.). CABI, Wallingford, 2010 (doi: 10.1079/9781845935559.0000).
2. Bishop S.C., Woolliams J.A. Genomics and disease resistance studies in livestock. *Livest. Sci.*, 2014, 146: 190-198 (doi: 10.1016/j.livsci.2014.04.034).
3. Yakovlev A.F., Smaragdov M.G. *Zootekhnika*, 2011, 5: 2-4 (in Russ.).
4. Anche M.T., Bijma P., De Jong M.C. Genetic analysis of infectious diseases: estimating gene effects for susceptibility and infectivity. *Genet. Sel. Evol.*, 2015, 47: 85 (doi: 10.1186/s12711-015-0163-z).
5. Lipschutz-Powell D., Woolliams J.A., Bijma P., Doeschl-Wilson A.B. Indirect genetic effects and the spread of infectious disease: are we capturing the full heritable variation underlying disease prevalence? *PLoS ONE*, 2012, 7(6): e39551 (doi: 10.1371/journal.pone.0039551).
6. Lipschutz-Powell D., Woolliams J.A., Doeschl-Wilson A.B. A unifying theory for genetic epidemiological analysis of binary disease data. *Genet. Sel. Evol.*, 2014, 46: 15 (doi: 10.1186/1297-9686-46-15).
7. Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 2001, 157: 1819-1829.
8. Fulton J.E., McCarron A.M., Lund A.R., Pinegar K.N., Wolc A., Chazara O., Bed'Hom B., Beres M., Miller M.M. A high-density SNP panel reveals extensive diversity, frequent recombination and multiple recombination hotspots within the chicken major histocompatibility complex B region between *BG2* and *CD1A1*. *Genet. Sel. Evol.*, 2016, 48: 1 (doi: 10.1186/s12711-015-0181-x).
9. Siwek M., Slawinska A., Rydzanicz M., Wesoly J., Fraszczak M., Suchocki T., Skiba J., Skiba K., Szyda J. Identification of candidate genes and mutations in QTL regions for immune

- responses in chicken. *Anim. Genet.*, 2015, 46(3): 247-254 (doi: 10.1111/age.12280).
10. Slawinska A., Siwek M. Meta and combined QTL analysis of different experiments on immune traits in chickens. *J. Appl. Genet.*, 2013, 54: 483-487 (doi: 10.1007/s13353-013-0177-6).
 11. Gray K.A., Cassady J.P., Huang Y., Maltecca C. Effectiveness of genomic prediction on milk flow traits in dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.*, 2012, 44: 24 (doi: 10.1186/1297-9686-44-24).
 12. Yakovlev A.F. *Genetika i razvedenie zhivotnykh*, 2014, 2: 3-6 (in Russ.).
 13. Lu X., Liu J., Fu W., Zhou J., Luo Y., Ding X., Liu Y., Zhang Q. Genome-wide association study for cytokines and immunoglobulin G in swine. *PLoS ONE*, 2013 (doi: 10.1371/journal.pone.0074846).
 14. Huang H., Deng H., Yang Y., Tang Z., Yang S., Mu Y., Cui W., Yuan J., Wu Z., Li K. Molecular characterization and association analysis of porcine PANE1 gene. *Mol. Biol. Rep.*, 2010, 37(5): 2571-2577 (doi: 10.1007/s11033-009-9775-0).
 15. Yudin N.S., Aitnazarov R.B., Knyazev S.P., Bekenev V.A., Podobya Yu.V., Berdibaeva A.B., Voevoda M.I. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii*, 2014, 18(2): 258-262 (in Russ.).
 16. Lee Y.M., Alam M., Choi B.H., Kim K.S., Kim J.J. Whole genome association study to detect single nucleotide polymorphisms for blood components (immunity) in a cross between Korean native pig and Yorkshire. *Asian Austral. J. Anim.*, 2012, 25(12): 1674-1680 (doi: 10.5713/ajas.2012.12503).
 17. Lim H.T., Lee J.B., Jung E.J., Ko M.S., Lee J.H., Jeon J.T. QTL analysis of white blood cell, platelet and red blood cell-related traits in an F2 intercross between Landrace and Korean native pigs. *Anim Genet.*, 2011, 42(6): 621-626 (doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02204.x).
 18. Lu X., Liu J.F., Gong Y.F., Wang Z.P., Liu Y., Zhang Q., Mapping quantitative trait loci for T lymphocyte subpopulations in peripheral blood in swine. *BMC Genet.*, 2011, 12: 79-88 (doi: 10.1186/1471-2156-12-79).
 19. Boddicker N.J., Bjorkquist A., Rowland R.R., Lunney J.K., Reecy J.M., Dekkers J.C. Genome-wide association and genomic prediction for host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Genet. Sel. Evol.*, 2014, 46(1): 18 (doi: 10.1186/1297-9686-46-18).
 20. Boddicker N.J., Waide E.H., Rowland R.R., Lunney J.K., Garrick D.J., Reecy J.M., Dekkers J.C.M. Evidence for a major QTL associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge. *J. Anim. Sci.*, 2012, 90: 1733-1746 (doi: 10.2527/jas.2011-4464).
 21. Bermingham M.L., Bishop S.C., Woolliams J.A., Pong-Wong R., Allen A.R., Mc Bride S.H. Genome-wide association study identifies novel loci associated with resistance to bovine tuberculosis. *Heredity*, 2014, 112: 543-551 (doi: 10.1038/hdy.2013.137).
 22. Bishop S.C., Doeschl-Wilson A.B., Woolliams J.A. Uses and implications of field disease data for livestock genomic and genetics studies. *Frontiers in Genetics*, 2012, 3: 114 (doi: 10.3389/fgene.2012.00114).
 23. Kirkpatrick B.W., Shi X., Shook G.E., Collins M.T. Whole-genome association analysis of susceptibility to paratuberculosis in Holstein cattle. *Anim. Genet.*, 2011, 42: 149-160 (doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02097.x).
 24. Bermingham M.L., Bishop S.C., Woolliams J.A., Pong-Wong R., Allen A.R., McBride S.H. Genome-wide association study identifies novel loci associated with resistance to bovine tuberculosis. *Heredity*, 2014, 112: 543-553 (doi: 10.1038/hdy.2013.137).
 25. Kirkpatrick B.W., Shi X., Shook G.E., Collins M.T. Whole-genome association analysis of susceptibility to paratuberculosis in Holstein cattle. *Anim. Genet.*, 2011, 42: 149-160 (doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02097.x).
 26. Lipschutz-Powell D., Woolliams J.A., Bijma P., Doeschl-Wilson A.B. Indirect genetic effects and the spread of infectious disease: are we capturing the full heritable variation underlying disease prevalence? *PLoS ONE*, 2012, 7(6): e39551 (doi: 10.1371/journal.pone.0039551).
 27. Proshin S.N., Kosyakova G.P., Yakovlev A.F. Immunotsitokhimicheskie markery proliferatsii limfotsitov krvi pri leikoze korov. *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii*, 2015, 2: 90-93
 28. Bishop S. Opportunities for incorporating genetic elements into the management of farm animal diseases: policy issues. In: *Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture*. M. de Jong, D. Gray (eds.). Rome, FAO, 2002: 36-39.
 29. Lee C.-R., Cho I.H., Jeong B.C., Lee S.H. Strategies to minimize antibiotic resistance. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2013, 10(9): 4274-4305 (doi: 10.3390/ijerph10094274).
 30. Wagter L., Mallard B.A. *Method of identifying high immune response animals*. University of Guelph assignee. US20020051789A1. US Application. US Pat., inventors. 2007, No. 7.
 31. Thompson-Crispi K.A., Sewleam A., Miglior F., Mallard B A. Genetic parameters of adaptive immune response traits in Canadian Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 2012, 95: 401-409 (doi: 10.3168/jds.2011-4452).
 32. Thompson-Crispi K.A., Sargolzaei M., Ventura R., Abo-Ismael M., Miglior F., Schenkel F., Mallard B.A. A genome-wide association study of immune response traits in Canadian Holstein

- cattle. *BMC Genomics*, 2014, 15: 559-568 (doi: 10.1186/1471-2164-15-559).
33. Martin C.E., Paibomesai M.A., Emam S.M., Gallienne J., Hine B.C., Thompson-Crispi K.A., Mallard B.A. Cytokine profiles from blood mononuclear cells of dairy cows classified with divergent immune response phenotypes. *J. Dairy Sci.*, 2016, 99(3): 2364-2371 (doi: 10.3168/jds.2015-9449).
 34. Fleming K., Thompson-Crispi K.A., Hodgins D.C., Miglior F., Corredig M., Mallard B.A. Variation of total immunoglobulin G and β -lactoglobulin concentrations in colostrum and milk from Canadian Holsteins classified as high, average, or low immune responders. *J. Dairy Sci.*, 2016, 99(3): 2358-2363 (doi: 10.3168/jds.2015-9707).
 35. Firstova V.V., Pavlov V.M., Gorbatov A.A., Kombarova T.I., Karaulov A.V., Dyatlov I.A. *Immunologiya*, 2014, 3: 147-150 (in Russ.).
 36. Firstova V.V., Bakhteeva I.V., Titareva G.M., Zyrina E.V., Ivanov S.A., Kiseleva N.V., Kopylov P.Kh., Anisimov A.P., Dyatlov I.A. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2010, 1(103): 56-59 (in Russ.).
 37. Firstova V.V., Bakhteeva I.V., Titareva G.M., Zyrina E.V., Ivanov S.A., Anisimov A.P. *Meditsinskaya immunologiya*, 2009, 11(4-5): 336-337 (in Russ.).
 38. Shchukovskaya T.N., Smol'kova E.A., Shmel'kova T.P., Klyueva S.N., Bugorkova S.A. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*, 2011, 6(61): 78-83 (in Russ.).
 39. Ezdakova I.Yu. *Veterinarnaya meditsina*, 2007, 1: 11-12 (in Russ.).
 40. Ezdakova I.Yu. *Identifikatsiya i kharakteristika biologicheskikh svoisty belkov supersemeistva immunoglobulinov zhivotnykh. Avtoreferat doktorskoi dissertatsii* [Identification and characterization of animal proteins of immunoglobulin superfamilies. DSci. Thesis]. Moscow, 2010 (in Russ.).
 41. Clop A., Huisman A., van As P., Sharaf A., Derdak S., Sanchez A. Identification of genetic variation in the swine toll-like receptors and development of a porcine TLR genotyping array. *Genet. Sel. Evol.*, 2016, 48: 28 (doi: 10.1186/s12711-016-0206-0).
 42. Shinkai H., Arakawa A., Tanaka-Matsuda M., Ide-Okumura H., Terada K., Chikyu M. Genetic variability in swine leukocyte antigen class II and Toll-like receptors affects immune responses to vaccination for bacterial infections in pigs. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2012, 35: 523-532 (doi: 10.1016/j.cimid.2012.05.003).
 43. Uenishi H., Shinkai H., Morozumi T., Muneta Y., Jozaki K., Kojima-Shibata C., Suzuki E. Polymorphisms in pattern recognition receptors and their relationship to infectious disease susceptibility in pigs. *BMC Proceedings*, 2011, 5(Suppl. 4): S27 (doi: 10.1186/1753-6561-5-S4-S27).
 44. Yang X., Murani E., Ponsuksili S., Wimmers K. Association of *TLR5* sequence variants and mRNA level with cytokine transcription in pigs. *Immunogenetics*, 2013, 65: 125-132 (doi: 10.1007/s00251-012-0662-9).
 45. Shinkai H., Suzuki R., Akiba M., Okumura N., Uenishi H. Porcine Toll-like receptors: recognition of *Salmonella enterica* serovar *Choleraesuis* and influence of polymorphisms. *Mol. Immunol.*, 2011, 48(9-10): 1114-1120 (doi: 10.1016/j.molimm.2011.02.004).
 46. Yang X.Q., Murani E., Ponsuksili S., Wimmers K. Association of *TLR4* polymorphism with cytokine expression level and pulmonary lesion score in pigs. *Mol. Biol. Rep.*, 2012, 39(6): 7003-7009 (doi: 10.1007/s11033-012-1530-2).
 47. Kich J.D., Uthe J.J., Benavides M.V., Cantro M.E., Zanella R., Tuggle C.K. *TLR4* single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with *Salmonella* shedding in pigs. *J. Appl. Genet.*, 2014, 55(2): 267-271 (doi: 10.1007/s13353-014-0199-8).
 48. Sereda A.D., Kazakova A.S., Imatdinov A.R., Kolbasov D.V. Humoral and cell immune mechanisms under African swine fever (review). *Agricultural Biology*, 2015, 50(6): 709-718 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.6.709eng).
 49. Obukhovskaya O.V., Stegnii B.T. *Aktual'nye voprosy veterinarnoi biologii*, 2015, 3: 27-31 (in Russ.).
 50. Miller M.M., Goto R.M., Taylor R.L., Zoorob R., Auffray C., Briles R.W. Assignment of Rf γ -Y to the chicken major histocompatibility complex/NOR microchromosome and evidence for high-frequency recombination associated with the nucleolar organizer region. *PNAS USA*, 1996, 93(9): 3958-3962 (doi: 10.1073/pnas.93.9.3958).
 51. Hofmann A., Plachy J., Hunt L., Kaufman J., Hala K. V-src oncogene-specific carboxy-terminal peptide is immunoprotective against Rous sarcoma growth in chickens with MHC class I allele B-F12. *Vaccine*, 2003, 21(32): 4694-4699 (doi: 10.1016/S0264-410X(03)00516-4).
 52. Goto R.M., Wang Y., Taylor R.L., Wakenell P.S., Hosomichi K., Shiina T. BG1 has a major role in MHC-linked resistance to malignant lymphoma in the chicken. *PNAS USA*, 2009, 106(39): 16740-16745 (doi: 10.1073/pnas.0906776106).
 53. Miller M.M., Taylor J.R. Brief review of the chicken major histocompatibility complex — the genes, their distribution on chromosome 16 and their contributions to disease resistance. *Poultry Sci.*, 2016, 95(2): 375-392 (doi: 10.3382/ps/pev379).
 54. Briles W.E., Bumstead N., Ewert D.L., Gilmour D.G., Gogusev J., Hala K. Nomenclature for chicken major histocompatibility (B) complex. *Immunogenetics*, 1982, 15(5): 441-447 (doi: 10.1007/BF00345903).
 55. Hosomichi K., Miller M.M., Goto R.M., Wang Y., Suzuki S., Kulski J.K. Contribution of

- mutation, recombination, and gene conversion to chicken MHC-B haplotype diversity. *J. Immunol.*, 2008, 18: 3393-3399 (doi: 10.4049/jimmunol.181.5.3393).
56. Nerren J.R., He H., Genovese K., Kogut M.H. Expression of the avian-specific toll-like receptor 15 in chicken heterophils is mediated by Gram-negative and Gram-positive bacteria, but not TLR agonists. *Vet. Immunol. Immunop.*, 2010, 136(1-2): 151-156 (doi: 10.1016/j.vetimm.2010.02.017).
 57. de Koning D.-J., Carlborg O., Haley C.S. The genetic dissection of immune response using gene-expression studies and genome mapping. *Vet. Immunol. Immunop.*, 2005, 105(3-4): 343-352 (doi: 10.1016/j.vetimm.2005.02.007).
 58. Lunney J. *Understanding genetic disease resistance. U.S. National Hog Farmer. April 26, 2011.* Available <http://www.nationalhogfarmer.com/health-diseases/understanding-genetic-disease-resistance-0415>. Accessed April 11, 2018.
 59. Glazanova T.V., Rozanova O.E., Bubnova L.N. *Meditsinskaya immunologiya*, 2014, 16(5): 409-416 (in Russ.).
 60. Baldueva I.A., Novik A.V., Karitskii A.P., Kuleva S.A., Nekhaeva T.L., Danilova A.B., Protsenko S.A., Semenova A.I., Komarov Yu.I., Pipia N.P., Slavyanskaya T.A., Avdonkina N.A., Sal'nikova S.V., Belyaev A.M., Sepiashvili R.I. *Allergologiya i immunologiya*, 2015, 16(4): 354-358 (in Russ.).
 61. Mougiakakos D., Choudhury A., Lladser A., Kiessling R., Johansson C.C. Regulatory T cells in cancer. *Adv. Cancer Res.*, 2010, 107(57): 117-122 (doi: 10.1016/S0065-230X(10)07003-X).
 62. Kakita N., Kanto T., Itose I., Kuroda S., Inoue M., Matsubara T., Higashitani K., Miyazaki M., Sakakibara M., Hiramatsu N., Takehara T., Kasahara A., Hayashi N. Comparative analyses of regulatory T cell subsets in patients with hepatocellular carcinoma: a crucial role of CD25-FoxP3-T cells. *Int. J. Cancer*, 2012, 131(11): 2573-2583 (doi: 10.1002/ijc.27535).
 63. Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Krobinets I.I., Savchenko A.A., Serebryakova M.K. *Meditsinskaya immunologiya*, 2015, 17(6): 525-538 (doi: 10.15789/1563-0625-2015-6-525-538) (in Russ.).