

ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ *CAT*, *TLR4* И *IL10* У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С СОПУТСТВУЮЩЕЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Елена Юрьевна БРАГИНА¹, Ирина Александровна ГОНЧАРОВА¹,
Максим Борисович ФРЕЙДИН¹, Ирина Жаргаловна ЖАЛСАНОВА¹,
Дэнсэма Евгеньевна ГОМБОЕВА¹, Евгений Владимирович НЕМЕРОВ²,
Валерий Павлович ПУЗЫРЕВ^{1,2}

¹ *НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского
медицинского центра РАН
634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10*

² *Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

Среди пациентов с бронхиальной астмой значительно распространены сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания. Предполагается, что генетические факторы могут оказывать значительное влияние на развитие артериальной гипертензии у пациентов с астмой. Цель исследования – изучить ассоциации полиморфных вариантов, затрагивающих количественные изменения профиля экспрессии (Expression Quantitative Trait Loci (eQTL)) генов *CAT*, *TLR4* и *IL10*, с развитием бронхиальной астмы в сочетании с артериальной гипертензией. **Материал и методы.** Генотипирование 48 eQTL вариантов генов *CAT*, *TLR4* и *IL10* выполнено с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF у пациентов с «изолированными» астмой ($n = 145$) и артериальной гипертензией ($n = 144$) и их сочетанием ($n = 146$), а также в контрольной группе здоровых индивидов ($n = 152$). С помощью логистической регрессии проведен анализ ассоциаций гаплотипов с исследуемыми болезнями. **Результаты.** Развитие бронхиальной астмы в сочетании с артериальной гипертензией ассоциировано с гаплотипами, образованными eQTL полиморфизмами генов *CAT* и *TLR4*. «Изолированная» астма и коморбидная форма патологии различаются по спектру гаплотипов, ассоциированных с изученными заболеваниями. **Заключение.** Полученные результаты демонстрируют, что молекулярные связи астмы и гипертензии могут быть опосредованы вариантами, контролирующими экспрессию генов *TLR4* и *CAT*.

Ключевые слова: бронхиальная астма, артериальная гипертензия, коморбидность, полиморфизм генов, гаплотип, *CAT*, *TLR4*, *IL10*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке фонда Volkswagen Stiftung (# 90335) и Комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН (№ 0550-2018-0003).

Автор для переписки: Брагина Е.Ю., e-mail: elena.bragina72@gmail.com

Для цитирования: Брагина Е.Ю., Гончарова И.А., Фрейдин М.Б., Жалсанова И.Ж., Гомбоева Д.Е., Немеров Е.В., Пузырев В.П. Гаплотипический анализ генов *CAT*, *TLR4* и *IL10* у больных бронхиальной астмой с сопутствующей артериальной гипертензией. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019; 39 (6): 55–64. doi: 10.15372/SSMJ20190607

ANALYSIS OF HAPLOTYPES OF *CAT*, *TLR4*, AND *IL10* GENES IN BRONCHIAL ASTHMA PATIENTS COMORBID WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Elena Yurjevna BRAGINA¹, Irina Alexandrovna GONCHAROVA¹,
Maxim Borisovich FREIDIN¹, Irina Zhargalovna ZHALSANOVA¹,
Densema Evgenjevna GOMBOEVA¹, Evgeniy Vladimirovich NEMEROV²,
Valeriy Pavlovich PUZYREV^{1,2}

¹ *Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center of RAS
634050, Tomsk, Naberezhnaya reki Ushayky str., 10*

² *Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia
634050, Tomsk, Moskovsky path, 2*

Co-occurrence of cardiovascular diseases is significantly common among patients with bronchial asthma. Genetic factors can have a significant effect on the development of hypertension in patients with asthma. Objective of the study was to investigate the associations of polymorphic variants relating to quantitative changes in the expression profile (eQTL) of the *CAT*, *TLR4*, and *IL10* genes with the development of bronchial asthma co-morbid with arterial hypertension. **Material and methods.** Genotyping of 48 eQTL SNPs of the *CAT*, *TLR4*, and *IL10* genes was performed using MALDI-TOF mass spectrometry in patients with «isolated» asthma ($n = 145$) and arterial hypertension ($n = 144$) and their combination ($n = 146$), as well as in the control group of healthy individuals ($n = 152$). Using logistic regression, an analysis of the associations of haplotypes with the studied diseases was carried out. **Results.** An association of bronchial asthma in combination with arterial hypertension with haplotypes formed by eQTL SNPs of the *CAT* and *TLR4* genes was established. The spectrum of haplotypes associated with comorbidity of asthma and hypertension differs from the haplotypes associated with “isolated” asthma. **Conclusion.** The molecular base of asthma and hypertension comorbidity can be associated with variants that control the expression of *TLR4* and *CAT* genes.

Key words: bronchial asthma, hypertension, comorbidity, polymorphism of genes, haplotype, *CAT*, *TLR4*, *IL10*.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. This study was supported by the Volkswagen Stiftung (# 90335) and project of the integrated basic research program of the SB RAS (# 0550-2018-0003).

Correspondence author: Bragina E.Yu., e-mail: elena.bragina72@gmail.com

Citation: Bragina E.Yu., Goncharova I.A., Freidin M.B., Zhalsanova I.Zh., Gomboeva D.E., Nemerov E.V., Puzyrev V.P. Analysis of haplotypes of *CAT*, *TLR4*, and *IL10* genes in bronchial asthma patients comorbid with arterial hypertension. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (6): 55–64. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190607

Бронхиальная астма (БА) – широко распространенное хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, затрагивающее более 315 миллионов человек во всем мире, ассоциируется с высокой заболеваемостью, смертностью и потерей качества жизни [14]. Термин «астма» подобно артриту объединяет многие клинические особенности, что делает БА фенотипически гетерогенным заболеванием [40]. Клиническая гетерогенность БА может быть связана с наличием сопутствующей патологии, которая в значительной степени модифицирует течение и прогноз основного заболевания. Более половины пациентов с астмой (62,6 %) имеют как минимум одно сопутствующее заболевание, а у 16 % больных регистрируют наличие четырех сопутствующих заболеваний [39], наиболее изученными из которых являются аллергический ринит, дерматит и пищевая аллергия. У 60 % пациентов с БА отмечается манифестация симптомов атопического дерматита, 30–40 % больных с аллергическим ринитом имеют БА, а у детей с пищевой аллергией вероятность клинического проявления БА повышается в 4 раза [3, 10]. В основе совместного развития вышеперечисленных коморбидностей БА лежат системные механизмы формирования хронического аллергического воспаления.

Кроме того, у больных с БА наблюдается высокий риск развития сопутствующих заболеваний неаллергической природы, включая артериальную гипертензию, ожирение, сахарный диабет

2 типа и другие метаболические и эндокринные нарушения [37]. Механизмы, лежащие в основе данных распространенных коморбидностей, не связанных с аллергической природой заболевания, недостаточно изучены. Коморбидность БА с сердечно-сосудистыми заболеваниями обусловлена различными факторами, например, системное воспаление, нарушение регуляции тонуса гладкой мускулатуры, патологические изменения в работе иммунной системы, васкулярное ремоделирование, а также лекарственная терапия и генетические факторы [11, 12]. Пациенты с БА, имеющие сопутствующую артериальную гипертензию, как правило, обладают рядом фенотипических особенностей, включая пожилой возраст, позднее начало БА, высокий индекс массы тела, и характеризуются низким Th2-воспалительным ответом [22, 23].

Для изучения молекулярных механизмов, лежащих в основе коморбидности, используются различные подходы, в том числе сетевой анализ на уровне белков, генов, метаболитов и т.д., а также разнообразные статистические алгоритмы [29]. С помощью анализа структуры ассоциативной геномной сети и методов приоритизации ранее нами были выбраны наиболее приоритетные для исследования коморбидности БА и гипертензии гены интерлейкина-10 (*IL10*), Toll-подобного рецептора-4 (*TLR4*) и каталазы (*CAT*), которые играют важную роль в иммунном ответе [30]. В результате дальнейшего исследования выяв-

ленных приоритетных генов установлены ассоциации eQTL однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) генов *CAT* (rs2022318) и *TLR4* (rs7038716, rs7026297, rs7025144) с коморбидностью БА и гипертензии [9].

Целью настоящего исследования является оценка ассоциаций гаплотипов, образованных полиморфными вариантами генов *IL10*, *TLR4* и *CAT*, с развитием «изолированной» БА и БА в сочетании с артериальной гипертензией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе изучены полиморфные варианты, оказывающие влияние на экспрессию генов *CAT*, *TLR4* и *IL10*, для поиска которых использовался ресурс GTEx (The Genotype-Tissue Expression, <https://gtexportal.org/>), содержащий данные экспериментов секвенирования мРНК в различных тканях. В исследование были включены SNPs с частотой редкого аллеля больше 5 % у европеоидов. Для функциональной аннотации выбранных SNPs использовали ресурс RegulomeDB (<http://regulomedb.org>), который представляет собой систему оценки регуляторного потенциала с категориями от 1 до 6, присвоенными на основании экспериментальных и теоретических данных о регуляторных функциях рассматриваемого варианта. Минимальный балл RegulomeDB предпола-

гает высокую вероятность влияния полиморфизма на изменение экспрессии соответствующего гена/белка.

Выявленные с помощью подходов биоинформатики SNPs изучены в трех группах пациентов: с БА, с БА в сочетании с артериальной гипертензией и с артериальной гипертензией без БА в анамнезе. Контрольная группа включала индивидов с нормальным артериальным давлением и отсутствием признаков БА. Характеристика обследованных представлена в табл. 1. Диагноз «бронхиальная астма» и «артериальная гипертензия» установлен на основании клинического обследования пациентов согласно общепринятым критериям. По этническому составу все включенные в исследование лица принадлежат к восточным европейцам (преимущественно русские). Протокол исследования одобрен этическим комитетом НИИ медицинской генетики (протокол № 2 от 30.05.2016). От всех участников получены информированные согласия.

Геномная ДНК выделена из образцов периферической крови с помощью фенол-хлороформной экстракции. Для исследования выбраны 25 *cis*-eQTL вариантов гена *CAT*, 20 *cis*-eQTL гена *TLR4* и 3 *cis*-eQTL гена *IL10* [30]. Мультиплексное генотипирование полиморфизмов (табл. 2) выполнено с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии с применением платформы Sequenom MassARRAY

Таблица 1. Характеристика обследованных

Table 1. Characteristics of the surveyed patients

Группа	Среднее значение ± SD или численность в группе (%)	<i>p</i>
Гипертензия, <i>n</i> = 144		
Возраст, лет	51,27 ± 6,05	0,0003
Количество мужчин, <i>n</i> (%)	47 (32,6)	< 0,00001
Количество женщин, <i>n</i> (%)	97 (67,4)	
Астма, <i>n</i> = 145		
Возраст, лет	44,89 ± 8,86	0,0099
Количество мужчин, <i>n</i> (%)	106 (73,1)	0,9099
Количество женщин, <i>n</i> (%)	39 (26,9)	
Астма в сочетании с гипертензией, <i>n</i> = 146		
Возраст, лет	56,32 ± 10,47	< 0,00001
Количество мужчин, <i>n</i> (%)	106 (72,6)	0,8332
Количество женщин, <i>n</i> (%)	40 (27,4)	
Здоровые, <i>n</i> = 152		
Возраст, лет	47,75 ± 9,92	
Количество мужчин, <i>n</i> (%)	112 (73,7)	
Количество женщин, <i>n</i> (%)	40 (26,3)	

Примечание. SD – стандартное отклонение; *p* – уровень значимости отличия от величины соответствующего показателя здоровых людей, для непрерывных переменных использовали *t*-критерий Стьюдента, для номинальных – критерий χ^2 .

Таблица 2. Основная информация об изученных полиморфных вариантах генов IL10, TLR4 и CAT
 Table 2. Basic characteristics of the studied SNPs of IL10, TLR4 and CAT genes

Хромосомная локализация [#]	SNP ID	Regulome DB-балл	Минорный/мажорный аллели	MAF	χ^2 (df = 2)	p
eQTL гена CAT						
chr11:34452373	rs10836230	5	T/C	0,361	0,35	0,8394
chr11:34425326	rs11032655	6	G/A	0,113	0,01	0,9950
chr11:34447585	rs11032695	1	G/T	0,364	0,30	0,8607
chr11:34461567	rs11032699	1	T/G	0,339	1,30	0,5220
chr11:34461702	rs11032700	1	C/A	0,328	0,35	0,8395
chr11:34508850	rs11032723	1	C/G	0,432	0,02	0,9901
chr11:34509642	rs12797274	–	C/A	0,368	0,14	0,9324
chr11:34438407	rs12806377	4	G/A	0,366	0,12	0,9418
chr11:34500078	rs1535721	6	A/G	0,214	1,21	0,5461
chr11:34511045	rs17269847	5	C/T	0,064	0,29	0,8650
chr11:34429643	rs2022318	6	C/G	0,392	0,36	0,8353
chr11:34514270	rs2420386	2	G/C	0,440	0,26	0,8781
chr11:34467645	rs480575	4	G/A	0,272	0,27	0,8737
chr11:34467271	rs484214	4	G/A	0,277	0,10	0,9512
chr11:34487728	rs511895	5	T/C	0,454	0,01	0,9950
chr11:34519223	rs7126243	–	T/C	0,114	0,04	0,9802
chr11:34520161	rs7130331	4	T/C	0,110	0,04	0,9802
chr11:34520228	rs7130345	2	G/A	0,101	0,19	0,9094
chr11:34459716	rs769214	1	G/A	0,334	0,89	0,6408
chr11:34431653	rs7934463	6	T/C	0,366	0,05	0,9753
chr11:34527636	rs7938373	2	C/T	0,097	0,38	0,8270
chr11:34502041	rs7949972	1	T/C	0,357	0,11	0,9465
eQTL гена TLR4						
chr9:117735680	rs10465133	–	G/T	0,353	0,62	0,7334
chr9:117661425	rs1329068	5	G/A	0,420	0,04	0,9801
chr9:117734109	rs7025144	4	G/C	0,217	0,01	0,9950
chr9:117757872	rs7026297	–	T/C	0,213	0,01	0,9950
chr9:117656481	rs745507	5	C/A	0,048	1,45	0,4843
chr9:117741230	rs7860332	5	T/G	0,461	0,17	0,9185
chr9:117671123	rs10818066	6	C/T	0,151	0,15	0,9277
chr9:117680977	rs1928297	6	T/C	0,207	0,16	0,9231
chr9:117684548	rs1928298	6	C/T	0,290	0,11	0,9465
chr9:117700861	rs2770150	–	G/A	0,299	0,11	0,9465
chr9:117760334	rs7038716	–	T/A	0,204	0,20	0,9048
chr9:117699343	rs10759930	–	T/C	0,421	0,93	0,6281
chr9:117606458	rs10983712	6	C/T	0,408	2,59	0,2738
chr9:117772388	rs10983783	6	G/T	0,398	0,06	0,9704
chr9:117643731	rs12001662	5	T/C	0,479	0,42	0,7985
chr9:117654842	rs1887905	5	C/G	0,423	0,05	0,9753
chr9:117702447	rs1927914	6	G/A	0,291	0,43	0,8065
chr9:117764054	rs4837505	5	A/G	0,182	0,35	0,8394
eQTL гена IL10						
chr1:206946633	rs1800871	3	A/G	0,253	0,41	0,8065
chr1:206945310	rs3024490	6	A/C	0,259	0,47	0,7905
chr1:206944111	rs3024492	4	A/T	0,185	0,30	0,8607

Примечание. # – хромосомная локализация, представленная в NCBI www.ncbi.nlm.nih.gov (GRCh38.p12); SNP ID – идентификационный номер полиморфизма; RegulomeDB-балл – балл от 1 до 6, присваиваемый на основании функциональных свойств полиморфизма согласно ресурсу RegulomeDB («–» – данные отсутствуют); MAF – частота минорного аллеля в контрольной группе; p – уровень значимости при тестировании PXB.

iPLEX (США). Автоматический анализ данных проведен с помощью программного обеспечения MassARRAY Type 4.

Тестирование на соответствие равновесию Харди – Вайнберга (РХВ) в контрольной группе осуществляли с помощью теста χ^2 (см. табл. 2). Для оценки структуры неравновесия по сцеплению (LD) использовали программу Haploview version 4.2 [7]. Паттерны LD между SNPs оценивали с помощью параметров D' и r^2 . Блочная структура гаплотипов определена с использованием алгоритма, предложенного N. Wang с соавт. [38]. Ассоциацию гаплотипов с развитием заболеваний анализировали с помощью логистической регрессии с поправкой на пол и возраст. Анализ проведен с помощью пакета haplo.stats для программной среды R [35]. Статистически значимыми считали ассоциации с $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследовании выполнен анализ ассоциаций гаплотипов генов *IL10*, *TLR4* и *CAT* с «изолированной» БА, артериальной гипертензией и БА, коморбидной с гипертензией, образованных SNPs, которые являются eQTL и меняют экспрессию данных генов в различных тканях. Согласно оценке регуляторного потенциала с помощью RegulomeDB, выбранные SNPs затрагивают гиперчувствительные сайты связывания ДНКазы и/или транскрипционных факторов и с наибольшей вероятностью влияют на транскрипционную активность генов. Максимальным регуляторным потенциалом обладают 10 SNPs, которые имеют балл от 1 до 3, для 7 SNP сведения о регуляторной функции в RegulomeDB не представлены (см. табл. 2). Тем не менее экспериментальные данные ресурса GTEx относят все исследуемые SNPs к функционально значимым eQTL, обладающим выраженным влиянием на изменение экспрессии генов *IL10*, *TLR4* и *CAT*.

Из 25 вариантов гена *CAT*, выбранных для анализа, были исключены два, для которых доля непрогенотипированных образцов составила более 20 % (rs17350806 и rs2284368), а также вариант с отклонением от РХВ (rs10836234). Для двух из 20 изученных полиморфных вариантов гена *TLR4* (rs1928296; rs7873159) также отмечено отклонение от РХВ, поэтому данные варианты были исключены из дальнейшего анализа ассоциаций гаплотипов с заболеваниями. Изученные варианты (rs1800871; rs3024490; rs3024492) гена *IL10* образуют один гаплотипический блок, для которого не обнаружено ассоциаций с развитием БА, гипертензии и их сочетания. Полиморфизмы гена *CAT* образуют четыре гаплотипических

блока. Блок 1 включает пять гаплотипов, встречающихся с частотой более 2 % у здоровых индивидов. Блок 2 состоит из двух близко расположенных вариантов (rs11032699 и rs11032700), расстояние между которыми составляет 135 пар нуклеотидов; гаплотипический блок 3 также составляют 2 SNP (rs484214, rs480575), между которыми 374 пар нуклеотидов. Блок 4 образован максимальным количеством SNP и состоит из 5 наиболее распространенных в изученной выборке гаплотипов, которые выявляются во всех изученных группах.

Установлены ассоциации гаплотипов блоков 1, 2 и 4 с БА на фоне гипертензии, а также гаплотипов блока 4 с «изолированной» БА (табл. 3). Причем развитие «изолированной» БА и БА в сочетании с артериальной гипертензией ассоциируется с разными гаплотипами блока 4. Варианты гена *TLR4* образуют 5 гаплотипических блоков, за исключением полиморфного варианта rs10983783, который не вошел ни в один блок. Единственный гаплотип, образованный вариантами rs10465133, rs7025144, rs7860332 (ТСТ), ассоциирован с коморбидностью БА и артериальной гипертензией (табл. 4). Частота данного гаплотипа у здоровых индивидов выше (10,4 %), чем у больных БА в сочетании с артериальной гипертензией (4,1 %) ($p = 0,004$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка влияния генетической вариабельности на развитие многофакторных заболеваний – достаточно трудная задача. Это связано со многими причинами, обусловленными сложностью на пути реализации генетической изменчивости в определенные фенотипы. Наличие коморбидности затрудняет ассоциативный анализ генов с отдельными заболеваниями без учета сопутствующей патологии. Исходя из этого, в своей работе мы проанализировали ассоциации БА с учетом коморбидности с сердечно-сосудистой патологией и установили различия в распространенности гаплотипов генов *CAT* и *TLR4* у больных «изолированной» БА и БА в сочетании с гипертензией.

Ранее уже сообщалось об ассоциациях полиморфных вариантов гена *CAT*, связанных с измененной функциональной активностью фермента, с метаболическими нарушениями и коморбидными с ними заболеваниями, включая артериальную гипертензию, ишемическую болезнь сердца, остеопороз и другие [1, 5, 16, 17, 28]. Каталаза экспрессируется повсеместно, является необходимым компонентом различных процессов жизнедеятельности организма и характеризуется выраженным плейотропным эффектом, что отра-

Таблица 3. Частоты гаплотипов, образованных eQTL SNPs гена CAT, у больных и здоровых людей

Table 3. Haplotype frequencies generated for eQTL SNPs of the CAT gene in patients and healthy individuals

Гаплотипический блок	Гаплотип	Группа			
		Здоровые	Астма	Астма в сочетании с гипертензией	Гипертензия
Блок 1: rs11032655, rs2022318, rs7934463, rs12806377, rs11032695, rs10836230	ACCATC	0,037	0,031	0,057	0,021
	ACTATC ^{Референс}	0,347	0,382	0,428	0,360
	AGCATC	0,238	0,214	0,132^{0,005}	0,219
	AGCGGT	0,238	0,205	0,242	0,246
	GGCGGT	0,107	0,139	0,124	0,135
Блок 2: rs11032699, rs11032700	GA ^{Референс}	0,653	0,632	0,568	0,657
	TC	0,315	0,368	0,425^{0,046}	0,339
Блок 3: rs484214, rs480575	AA ^{Референс}	0,709	0,672	0,627	0,729
	GG	0,259	0,324	0,366	0,271
Блок 4: rs1535721, rs7949972, rs11032723, rs12797274, rs17269847, rs2420386, rs7126243, rs7130331, rs7130345, rs7938373	ACGATCCCAT	0,206	0,209	0,293	0,180
	GCCACGCCAT	0,063	0,103^{0,039}	0,054	0,083
	GCCCTGCCAT ^{Референс}	0,357	0,299	0,362	0,378
	GTGATCCCAT	0,249	0,190	0,131^{0,016}	0,208
	GTGATCTTGC	0,086	0,134^{0,031}	0,122	0,125

Примечание. Здесь и в табл. 4 статистически значимый уровень различий (*p*) при сравнении случаев с контролем (здоровые лица) приведен в верхнем индексе; сравнения проводились с помощью логистической регрессии с использованием наиболее распространенного гаплотипа в качестве референса (выделен надстрочным индексом) и с учетом возраста и пола. Представлены гаплотипы с частотой более 2 %.

Таблица 4. Частоты гаплотипов, образованных eQTL SNPs гена TLR4, у больных и здоровых людей

Table 4. Haplotype frequencies generated for eQTL SNPs of the TLR4 gene in patients and healthy individuals

Гаплотипический блок	Гаплотип	Группа			
		Здоровые	Астма	Астма в сочетании с гипертензией	Гипертензия
Блок 1: rs10983712, rs12001662	CT	0,405	0,451	0,392	0,439
	TC ^{Референс}	0,511	0,450	0,562	0,481
	TT	0,080	0,099	0,042	0,071
Блок 2: rs1329068, rs745507, rs10818066, rs1887905	AATG ^{Референс}	0,526	0,510	0,557	0,522
	ACTG	0,048	0,056	0,042	0,038
	GACC	0,153	0,126	0,187	0,147
	GATC	0,267	0,301	0,207	0,284
Блок 3: rs1928297, rs1928298, rs2770150, rs10759930, rs1927914	CCACG	0,076	0,096	0,041	0,085
	CTATA ^{Референс}	0,414	0,368	0,406	0,396
	CTGCA	0,288	0,265	0,317	0,267
	TCACG	0,205	0,245	0,231	0,234
Блок 4: rs10465133, rs7025144, rs7860332	GCT	0,141	0,140	0,130	0,141
	GTT	0,212	0,215	0,279	0,211
	TCG ^{Референс}	0,535	0,550	0,546	0,536
	TCT	0,108	0,095	0,041^{0,004}	0,107
Блок 5: rs7026297, rs7038716, rs4837505	CAG ^{Референс}	0,776	0,780	0,715	0,777
	TTA	0,170	0,155	0,233	0,176
	TTG	0,030	0,034	0,045	0,039

жается в наблюдаемых ассоциациях со многими заболеваниями. У людей акаталеземия (OMIM: # 614097) является сравнительно распространенным аутосомно-рецессивным заболеванием, обусловленным почти полным отсутствием каталазы, которое обычно считается бессимптомным. Тем не менее последствием низкой активности этого фермента может быть развитие ряда заболеваний, связанных с окислительным стрессом и воспалением, в том числе БА и артериальной гипертензии. Предполагается, что роль каталазы в многоклеточных организмах заключается не в защите клеток от H_2O_2 , а преимущественно в регуляции апоптоза путем контроля клеточных уровней H_2O_2 [25]. Недостаточная индукция апоптоза способствует накоплению клеток воспаления, поддерживая течение воспалительного процесса, что, вероятно, является одним из возможных патогенетических механизмов развития коморбидности БА и гипертензии.

Наряду с транскрипционным ядерным фактором NF- κ B активация *TLR4* играет решающую роль в воспалении и инициации врожденных иммунных реакций. *TLR4* экспрессируется конститутивно и постоянно находится в составе клеточной мембраны лейкоцитов, готовый к встрече и распознаванию патогенов. Изменение иммунореактивности и экспрессии Toll-подобных рецепторов может приводить к нарушению иммунного ответа [18]. Активация гена *TLR4* наблюдается после инфаркта миокарда в сердце мышей [13], а также связана с началом и прогрессией атеросклероза [27]. Гипертензивные крысы по сравнению с нормотензивными животными характеризуются существенным увеличением экспрессии *TLR4* в кардиомиоцитах, который наряду с другими воспалительными маркерами снижается при обработке антителами к *TLR4*, что свидетельствует об участии рецептора в ассоциированном с гипертензией повреждении конечного органа [8].

Один из механизмов воспаления в сосудистой стенке при артериальной гипертензии связан с долгосрочной активацией *TLR4* эндогенными лигандами, такими как С-реактивный белок, белки теплового шока (HSP60 и HSP70), повышение содержания которых запускает каскад экспрессии ряда провоспалительных цитокинов [6, 15, 20, 26]. В свою очередь провоспалительные цитокины, регулирующие экспрессию и функцию многих белков, включая молекулы адгезии, MAP-киназы, компоненты внеклеточного матрикса и факторы роста, влияющие на эндотелиальную дисфункцию, сосудистую реактивность, структурные изменения сосудистой стенки, могут выступать в качестве неблагоприятного фактора в

развитии артериальной гипертензии [36]. У больных БА с нейтрофильным воспалением также отмечается выраженная активация именно *TLR4* [34], а также регистрируется увеличение экспрессии гена *TLR4* в клетках слизистой оболочки носа у детей с БА [2].

В нескольких исследованиях установлена связь функционального полиморфизма генов семейства TLR с характером иммунных реакций и предрасположенностью различным фенотипам БА [19, 41], а также ассоциации полиморфизма гена *TLR4* с развитием гипертензии у пациентов с ожирением и ишемической болезнью сердца [32, 33]. Ни один из трех изученных в настоящей работе eQTL вариантов гена *TLR4*, образующих ассоциированный гаплотип, ранее не исследовался в отношении развития БА и гипертензии. Полиморфный вариант rs10465133, входящий в состав ассоциированного с коморбидностью БА и артериальной гипертензией гаплотипа, связан с развитием невротизма [24]. Два других SNPs (rs7025144, rs7860332) гаплотипа TCT были изучены у больных атеросклерозом, однако ассоциаций с развитием заболевания не было обнаружено [11].

Основываясь на полученных данных об ассоциации гаплотипов генов *CAT* и *TLR4*, можно полагать, что нарушения в контроле процессов окислительного стресса, иммунных реакций и воспаления являются важной патогенетической составляющей развития коморбидности БА и артериальной гипертензии. Стоит отметить, что разные паттерны SNPs ассоциированы с развитием «изолированной» БА и БА, коморбидной с гипертензией. Наши данные о специфичности ассоциаций для коморбидных и изолированных фенотипов подтверждаются данными других исследований [4, 21]. Наиболее вероятным объяснением этому могут быть две причины. Во-первых, модифицирующее действие оказывают средовые факторы [31], в том числе лекарственная терапия, которая различается при изолированных и коморбидных формах заболеваний, что не было учтено в нашем анализе. Во-вторых, SNPs могут влиять на экспрессию не только того гена, в пределах нуклеотидной последовательности которого они располагаются, но и других генов, играющих важную роль в тканевых процессах, патогенетически связанных с развитием различных заболеваний. Например, полиморфизм rs7938373, входящий в состав гаплотипа, ассоциированного в нашем исследовании с изолированной БА и с коморбидной формой, является eQTL гена *CAT* в периферической крови ($p = 0,000000095$ согласно данным GTEx), а также eQTL гена *ELF5* в легочной ткани ($p = 0,00000038$ согласно данным GTEx).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об ассоциации гаплотипов функциональных вариантов генов *CAT* и *TLR* с БА, сочетанной с артериальной гипертензией. В основе полученных ассоциаций, вероятнее всего, лежат изменения в уровне генной экспрессии, поскольку все гаплотипы, связанные в проведенном исследовании с заболеваниями, образованы *cis*-eQTL вариантами генов *CAT* и *TLR4*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бушуева О.Ю., Иванов В.П., Рыжаева В.Н., Пономаренко И.В., Чурносов М.И., Полоников А.В. Ассоциация полиморфизма -844G>A гена каталазы с повышенным риском развития артериальной гипертензии у курильщиков. *Терапевт. арх.* 2016; 88 (9): 50–54. doi: 10.17116/terarkh201688950-54
2. Bushueva O.Yu., Ivanov V.P., Ryzhaeva V.N., Ponomarenko I.V., Churnosov M.I., Polonikov A.V. Association of the -844G>A polymorphism in the catalase gene with the increased risk of essential hypertension in smokers. *Терапевтический архив = Therapeutic archive.* 2016; 88 (9): 50–54. [In Russian]. doi: 10.17116/terarkh201688950-54
3. Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Хорева М.В., Брагвадзе Б.Г., Огурцова А.Д., Алексеева А.А., Ганковский В.А., Свитич О.А. Особенности экспрессии toll-подобного рецептора 2 и toll-подобного рецептора 4 у детей с бронхиальной астмой. *Мед. иммунология.* 2017; 19 (4): 431–440. doi: 10.15789/1563-0625-2017-4-431-440
4. Gankovskaya L.V., Namazova-Baranova L.S., Khoreva M.V., Bragvadze B.G., Ogurtsova A.D., Alekseeva A.A., Gankovskii V.A., Svitich O.A. Expression features of Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 in children with asthma. *Медицинская иммунология = Medical Immunology.* 2017; 19 (4): 431–440. doi: 10.15789/1563-0625-2017-4-431-44
5. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., перераб. и доп. М.: Оригинал-макет, 2017. 160 с.
6. National program «Bronchial asthma in children. Strategy of treatment and prevention. 5th ed., revised and supplemented. Moscow: Original-maket, 2017. 160 p. [In Russian].
7. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Салтыкова И.В., Деева Е.В., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Влияние дополнительной болезни (коморбидности) на ассоциацию аллергического ринита с вариантом rs12621643 гена *KCNE4*. *Генетика.* 2013; 49 (4): 541–544. doi: 10.7868/S001667581304005X
8. Freidin M.B., Bragina E.Yu., Saltykova I.V., Deeva E.V., Ogorodova L.M., Puzyrev V.P. Effect of additional disease (comorbidity) on association of allergic rhinitis with *KCNE4* gene rs12621643 variant. *Russ. J. Genet.* 2013; 4 (4): 473–475. [In Russian].
9. Чистяков Д.А., Туракулов Р.И., Щербачева Л.Н., Мамаева Г.Г., Балаболкин М.И., Носиков В.В. Анализ полиморфизма локуса D11S2008 рядом с геном каталазы у больных гипертензией и ишемической болезнью сердца при инсулиннезависимом сахарном диабете в Московской популяции. *Генетика.* 2000; 36 (3): 423–426.
10. Chistyakov D.A., Turakulov R.I., Shcherbacheva L.N., Mamaeva G.G., Balabolkin M.I., Nosikov V.V. Analysis of polymorphism of the D11S2008 locus of the catalase gene in patients with hypertension and ischemic heart disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus in the Muscovite population. *Russ. J. Genet.* 2000; 36 (3): 340–342. [In Russian].
11. Asea A., Rehli M., Kabingu E., Boch J.A., Bare O., Auron P.E., Stevenson M.A., Calderwood S.K. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (17): 15028–15034. doi: 10.1074/jbc.M200497200
12. Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M.J. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005; 21 (2): 263–265.
13. Bomfim G.F., Dos Santos R.A., Oliveira M.A., Giachini F.R., Akamine E.H., Tostes R.C., Fortes Z.B., Webb R.C., Carvalho M.H. Toll-like receptor 4 contributes to blood pressure regulation and vascular contraction in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Sci. (Lond).* 2012; 122 (11): 535–543. doi: 10.1042/CS20110523
14. Bragina E.Y., Goncharova I.A., Garaeva A.F., Nemerov E.V., Babovskaya A.A., Karpov A.B., Semenova Y.V., Zhalsanova I.Z., Gomboeva D.E., Saik O.V., Zolotareva O.I., Ivanisenko V.A., Dosenko V.E., Hofstaedt R., Freidin M.B. Molecular relationships between bronchial asthma and hypertension as comorbid diseases. *J. Integr. Bioinform.* 2018; 15 (4). doi: 10.1515/jib-2018-0052
15. Branum A.M., Lukacs S.L. Food allergy among children in the United States. *Pediatrics.* 2009; 124 (6): 1549–1555. doi: 10.1542/peds.2009-1210
16. Christiansen S.C., Zuraw B.L. Treatment of hypertension in patients with asthma. *N. Engl. J. Med.* 2019; 381 (11): 1046–1057. doi: 10.1056/NEJMr1800345
17. Ferguson S., Teodorescu M.C., Gangnon R.E., Peterson A.G., Consens F.B., Chervin R.D., Teodorescu M. Factors associated with systemic hypertension in asthma. *Lung.* 2014; 192 (5): 675–683. doi: 10.1007/s00408-014-9600-y
18. Frantz S., Kobzik L., Kim Y.D., Fukazawa R., Medzhitov R., Lee R.T., Kelly R.A. Toll4 (TLR4) expression in cardiac myocytes in normal and failing myocardium. *J. Clin. Invest.* 1999; 104 (3): 271–280.

14. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017; 390 (10100): 1211–1259. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32154-2
15. Ji Y., Liu J., Wang Z., Liu N. Angiotensin II induces inflammatory response partly via toll-like receptor 4-dependent signaling pathway in vascular smooth muscle cells. *Cell Physiol. Biochem*. 2009; 23 (4-6): 265–276. doi: 10.1159/000218173
16. Jiang Z., Akey J.M., Shi J., Xiong M., Wang Y., Shen Y., Xu X., Chen H., Wu H., Xiao J., Lu D., Huang W., Jin L. A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Hum. Genet*. 2001; 109 (1): 95–98. doi: 10.1007/s004390100553
17. Kodydková J., Vávrová L., Kocík M., Žák A. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia Biol. (Praha)*. 2014; 60 (4): 153–167.
18. Lafferty E.I., Qureshi S.T., Schnare M. The role of toll-like receptors in acute and chronic lung inflammation. *J. Inflamm. (Lond.)*. 2010; 7: 57. doi: 10.1186/1476-9255-7-57
19. Lau M.Y., Dharmage S.C., Burgess J.A., Win A.K., Lowe A.J., Lodge C., Perret J., Hui J., Thomas P.S., Morrison S., Giles G.G., Hopper J., Abramson M.J., Walters E.H., Matheson M.C. The interaction between farming/rural environment and TLR2, TLR4, TLR6 and CD14 genetic polymorphisms in relation to early- and late-onset asthma. *Sci. Rep*. 2017; 7: 43681. doi: 10.1038/srep43681
20. Liu N., Liu J.T., Ji Y.Y., Lu P.P. C-reactive protein triggers inflammatory responses partly via TLR4/IRF3/NF- κ B signaling pathway in rat vascular smooth muscle cells. *Life Sci*. 2010; 87 (11-12): 367–374. doi: 10.1016/j.lfs.2010.07.012
21. Makeeva O.A., Sleptsov A.A., Kulish E.V., Barbarash O.L., Mazur A.M., Prokhorchuk E.B., Chekanov N.N., Stepanov V.A., Puzyrev V.P. Genomic study of cardiovascular continuum comorbidity. *Acta Naturae*. 2015; 7 (3): 89–99.
22. Moore W.C., Hastie A.T., Li X., Li H., Busse W.W., Jarjour N.N., Wenzel S.E., Peters S.P., Meyers D.A., Bleeker E.R. National Heart, Lung, and Blood Institute’s Severe Asthma Research Program. Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2014; 133 (6): 1557–1563.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2013.10.011
23. Moore W.C., Meyers D.A., Wenzel S.E., Teague W.G., Li H., Li X., D’Agostino R., Jr., Castro M., Curran-Everett D., Fitzpatrick A.M., Gaston B., Jarjour N.N., Sorkness R., Calhoun W.J., Chung K.F., Comhair S.A., Dweik R.A., Israel E., Peters S.P., Busse W.W., Erzurum S.C., Bleeker E.R. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2010; 181 (4): 315–323. doi: 10.1164/rccm.200906-0896OC
24. Nagel M., Jansen P.R., Stringer S., Watanabe K., de Leeuw C.A., Bryois J., Savage J.E., Hammerschlag A.R., Skene N.G., Munoz-Manchado A.B., White T., Tiemeier H., Linnarsson S., Hjerling-Lefler J., Polderman T.J.C., Sullivan P.F., van der Sluis S., Posthuma D. Meta-analysis of genome-wide association studies for neuroticism in 449,484 individuals identifies novel genetic loci and pathways. *Nat. Genet*. 2018; 50 (7): 920–927. doi: 10.1038/s41588-018-0151-7
25. Nenoï M., Ichimura S., Mita K., Yukawa O., Cartwright I.L. Regulation of the catalase gene promoter by Sp1, CCAAT-recognizing factors, and a WT1/Egr-related factor in hydrogen peroxide-resistant HP100 cells. *Cancer Res*. 2001; 61 (15): 5885–5894.
26. Ohashi K., Burkart V., Flohé S., Kolb H. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J. Immunol*. 2000; 164 (2): 558–561. doi: 10.4049/jimmunol.164.2.558
27. Pasterkamp G., van Keulen J.K., de Kleijn D.P. Role of Toll-like receptor 4 in the initiation and progression of atherosclerotic disease. *Eur. J. Clin. Invest*. 2004; 34 (5): 328–334. doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01338.x
28. Polonikov A.V., Ivanov V.P., Bogomazov A.D., Freidin M.B., Illig T., Solodilova M.A. Antioxidant defense enzyme genes and asthma susceptibility: gender-specific effects and heterogeneity in gene-gene interactions between pathogenetic variants of the disease. *Biomed. Res. Int*. 2014; 2014: 708903. doi: 10.1155/2014/708903
29. Pouladi N., Achour I., Li H., Berghout J., Kenost C., Gonzalez-Garay M.L., Lussier Y.A. Bio-mechanisms of Comorbidity: Reviewing Integrative Analyses of Multi-omics Datasets and Electronic Health Records. *Yearb Med Inform*. 2016; (1): 194–206.
30. Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Goncharova I.A., Dosenko V.E., Zolotareva O.I., Hofstaedt R., Lavrik I.N., Rogaev E.I., Ivanisenko V.A. Novel candidate genes important for asthma and hypertension comorbidity revealed from associative gene networks. *BMC Med. Genomics*. 2018; 11 (Suppl. 1): 15. doi: 10.1186/s12920-018-0331-4
31. Saltykova I.V., Ogorodova L.M., Bragina E.Y., Puzyrev V.P., Freidin M.B. *Opisthorchis felinus* liver fluke invasion is an environmental factor modifying genetic risk of atopic bronchial asthma. *Acta Trop*. 2014; 139: 53–56. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.07.004
32. Schneider S., Hoppmann P., Koch W., Kemmner S., Schmaderer C., Renders L., Kastrati A., Laugwitz K.L., Heemann U., Baumann M. Obesity-associated hypertension is ameliorated in patients with TLR4 single nucleotide polymorphism (SNP) rs4986790.

J. Inflamm. (Lond). 2015; 12: 57. doi: 10.1186/s12950-015-0100-5

33. Schneider S., Koch W., Hoppmann P., Ubrich R., Kemmner S., Steinlechner E., Heemann U., Laugwitz K.L., Kastrati A., Baumann M. Association of Toll-like receptor 4 polymorphism with age-dependent systolic blood pressure increase in patients with coronary artery disease. *Immun. Ageing*. 2015; 12: 4. doi: 10.1186/s12979-015-0031-2

34. Simpson J.L., Grissell T.V., Douwes J., Scott R.J., Boyle M.J., Gibson P.G. Innate immune activation in neutrophilic asthma and bronchiectasis. *Thorax*. 2007; 62 (3): 211–218. doi: 10.1136/thx.2006.061358

35. Sinnwell J.P., Schaid D.J. Haplo.stats: Statistical analysis of haplotypes with traits and covariates when linkage phase is ambiguous. R package version 1.7.9. 2018; <https://CRAN.R-project.org/package=haplo.stats>.

36. Sprague A.H., Khalil R.A. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem. Pharmacol.* 2009; 78 (6): 539–552. doi: 10.1016/j.bcp.2009.04.029

37. Su X., Ren Y., Li M., Zhao X., Kong L., Kang J. Prevalence of comorbidities in asthma and nonasthma patients: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95 (22): e3459. doi: 10.1097/MD.0000000000003459

38. Wang N., Akey J.M., Zhang K., Chakraborty R., Jin L. Distribution of recombination crossovers and the origin of haplotype blocks: the interplay of population history, recombination, and mutation. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71 (5): 1227–1234. doi: 10.1086/344398

39. Weatherburn C.J., Guthrie B., Mercer S.W., Morales D.R. Comorbidities in adults with asthma: Population-based cross-sectional analysis of 1.4 million adults in Scotland. *Clin. Exp. Allergy*. 2017; 47 (10): 1246–1252. doi: 10.1111/cea.12971

40. Wenzel S.E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat. Med.* 2012; 18 (5): 716–725. doi: 10.1038/nm.2678

41. Zhang Q., Qian F.H., Zhou L.F., Wei G.Z., Jin G.F., Bai J.L., Yin K.S. Polymorphisms in toll-like receptor 4 gene are associated with asthma severity but not susceptibility in a Chinese Han population. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2011; 21 (5): 370–377.

Сведения об авторах:

Брагина Е.Ю., к.б.н., ORCID: 0000-0002-1103-3073, e-mail: elena.bragina72@gmail.com

Гончарова И.А., к.б.н., ORCID: 0000-0002-9527-7015, e-mail: irina.goncharova@medgenetics.ru

Фрейдин М.Б., д.б.н., ORCID: 0000-0002-1439-6259, e-mail: mfreidin@medgenetics.ru

Жалсанова И.Ж., ORCID: 0000-0001-6848-7749, e-mail: irina.zhalsanova@medgenetics.ru

Гомбоева Д.Е., ORCID: 0000-0002-7882-2093, e-mail: gomboeva.densema@medgenetics.ru

Немеров Е.В., к.м.н., e-mail: nemerevg@mail.ru

Пузырев В.П., академик РАН, проф., ORCID: 0000-0002-2113-4556, e-mail: p.valery@medgenetics.ru

Information about authors:

Bragina E.Yu., candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-1103-3073,

e-mail: elena.bragina72@gmail.com

Goncharova I.A., candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-9527-7015,

e-mail: irina.goncharova@medgenetics.ru

Freidin M.B., doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0002-1439-6259, e-mail: mfreidin@medgenetics.ru

Zhalsanova I.Zh., ORCID: 0000-0001-6848-7749, e-mail: irina.zhalsanova@medgenetics.ru

Gomboeva D.E., ORCID: 0000-0002-7882-2093, e-mail: gomboeva.densema@medgenetics.ru

Nemerov E.V., candidate of medical sciences, e-mail: nemerevg@mail.ru

Puzyrev V.P., academician of RAS, professor, ORCID: 0000-0002-2113-4556, e-mail: p.valery@medgenetics.ru