

doi : 10.52485/19986173_2022_4_60

УДК: 617.51:616-001.31:575.174.015.3

Мироманов А.М., Ступин Ю.В., Мироманова Н.А., Витковский Ю.А.

УРОВЕНЬ IL-1 β , TNF- α , IL-4 И IL-10 У НОСИТЕЛЕЙ SNP ГЕНОВ TLR2(ARG753GLN), TLR4(ASP299GLY) С УШИБОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39а

Цель исследования – изучить влияние SNP генов TLR2(Arg753Gln), TLR4(Asp299Gly) на уровень IL-1 β , TNF- α , IL-4 и IL-10 у пациентов с ушибом головного мозга.

Материалы и методы. Проведено обследование 96 пациентов молодого возраста (по классификации ВОЗ) с ушибом головного мозга (УГМ). Первую группу (n=50) составили пациенты с ушибом средней степени тяжести в возрасте 29,5 [24; 33] лет. Вторую (n=46) – пациенты с тяжелой степенью (средний возраст 32,5 [28,5; 35] лет), причем в данной группе у 10 больных зарегистрирован летальный исход. Контрольная группа – 100 практически здоровых резидентов аналогичного пола и возраста. Из исследования исключались пациенты с какой-либо острой и/или хронической сопутствующей патологией, а также лица женского пола. Клинические, лабораторные (полиморфизм генов: TLR2(Arg753Gln), TLR4(Asp299Gly); уровень цитокинов: IL-1 β , TNF α , IL-4, IL-10) и инструментальные (краниография, компьютерная томография) исследования осуществляли на стационарном этапе лечения (забор материала для исследования выполняли на 3 сутки после травмы). Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0.

Результаты. Аллель -753Arg- и генотип -753Arg/Arg преобладали в группе контроля (82,5% и 65%, соответственно) и у пациентов с УГМ средней степени тяжести (100%), тогда как в группе больных с УГМ тяжелой степени превалировала аллель -753Gln- (60,9%) и гетерозиготный -753ArgGln генотип (78,3%). Мутантный генотип -753Gln/Gln рассматриваемого гена выявлен только в группе пациентов с тяжелым УГМ и в группе с летальным исходом (21,7% и 100%, соответственно). Наличие -299Asp- аллели в группе контроля выявлено у 67,5% резидентов, у пациентов с благоприятным исходом УГМ в 66,3% случаев и в 100% у больных с неблагоприятным исходом. У всех пациентов со смертельным исходом ЧМТ в 100% регистрировалось наличие гомозиготного -299AspAsp генотипа. Показано, что у пациентов с УГМ на 3 сутки после травмы содержание таких параметров как IL-1 β , TNF- α , IL-4 и IL-10 значимо превышало аналогичные значения группы контроля в 1,3, 1,3, 1,2 и 1,1 раза, соответственно, тогда как у пациентов с неблагоприятным течением УГМ в динамике (St. letalis) в сопоставлении с группой УГМ с благоприятным течением (выздоровление) их уровень значимо превышал параметры контроля в 2, 2, 1,6 и 1,3 раза, соответственно.

Заключение. При носительстве генотипа -753Gln/Gln SNP гена TLR2(Arg753Gln) и генотипа -299Asp/Asp SNP гена TLR4(Asp299Gly) можно констатировать о значимом влиянии их носительства на более высокое содержание в сыворотке крови изучаемых цитокинов.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, ушиб головного мозга, полиморфизм, гены, цитокины.

Miromanov A.M., Stupin Yu.V., Miromanova N.A., Vitkovsky Yu.A.
LEVEL OF IL-1 β , TNF- α , IL-4 AND IL-10 IN TLR2(ARG753GLN),
TLR4(ASP299GLY) SNP CARRIERS WITH BRAIN INJURY

Chita State Medical Academy, 39a Gorky Street, Chita, Russia, 672000

Objective: to study the effect of polymorphism of the TLR2-753(Arg>Gln), TLR4-299(Asp>Gly) genes for the content of IL-1 β , TNF- α , IL-4 and IL-10 in patients with a cerebral contusion.

Materials and methods. 96 young patients (according to WHO classification) with cerebral contusion were examined. The first group (n=50) was compiled by patients with a contusion of moderate severity at the age of 29.5 [24; 33] years. The second (n=46) - patients with a severe degree (average age 32.5 [28.5; 35] years), and in this group in 10 patients an unfavorable outcome (exitus. letalis) was registered. The control group is 100 practically healthy residents of the same sex and age. Patients with any acute and/or chronic concomitant pathology, as well as females, were excluded from the study. Clinical, laboratory (genes polymorphism: TLR2-753(Arg>Gln), TLR4-299(Asp>Gly); Cytokine content: IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-10) and instrumental

(craniography, computed tomography) the studies were carried out at the inpatient stage of treatment (the fence of the material for the study was performed for 3 days after the injury). Statistical processing of research results was carried out using the IBM SPSS Statistics Version 25.0 program.

Results. Allele -753Arg- and genotype -753Arg/Arg prevailed in the control group (82.5% and 65%, respectively) and in patients with moderate cerebral contusion (100%), while in the group of patients with severe cerebral contusion, the allele - 753Gln- (60.9%) and heterozygous -753ArgGln genotype (78.3%). The mutant genotype -753Gln/Gln of the gene under consideration was detected only in the group of patients with severe cerebral contusion and in the group with a fatal outcome (21.7% and 100%, respectively). The presence of -299Asp- allele in the control group was detected in 67.5% of residents, in patients with favorable outcome of cerebral contusion in 66.3% of cases and in 100% of patients with unfavorable outcome. In all patients with a fatal TBI, 100% had a homozygous -299AspAsp genotype. It was shown that in patients with cerebral contusion on the 3rd day after injury, the content of such parameters as IL-1 β , TNF- α , IL-4 and IL-10 significantly exceeded the control values by 1.3, 1.3, 1.2 and 1, 1 times, respectively, while in patients with an unfavorable course of cerebral contusion in dynamics (St. letalis), in comparison with the group of cerebral contusion with a favorable course (recovery), their level significantly exceeded the control values by 2, 2, 1.6 and 1.3 times, respectively.

Conclusion. The presence of the -299Asp/Asp genotype of the TLR4-299Asp>Gly gene polymorphism indirectly contributes to a higher serum level of the cytokine IL-1 β , TNF- α , IL-4 and IL-10. When carrying the -753Gln/Gln mutant genotype of the TLR2-753Arg>Gln gene polymorphism, one can state a significant effect of their carriage on a higher content of the studied cytokines in the blood serum

Keywords: traumatic brain injury; cerebral contusion, polymorphism, genes, cytokines.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) считается наиболее инвалидизирующим из травматических повреждений, почти всегда сопровождающимся пожизненными эмоциональными, поведенческими и постоянными физическими нарушениями. Почти половина госпитализированных лиц, переживших ЧМТ, имеют длительную инвалидность. ЧМТ включает несколько типов повреждений головного мозга. Одним из наиболее тяжелых механизмов повреждения является геморрагический ушиб головного мозга. Ушибы головного мозга (УГМ) вызывают необратимое повреждение тканей головного мозга. Тяжесть повреждения связана с первичным повреждением, которое начинается с кинетической энергии, поглощаемой при столкновении, и каскадом реакций вторичного повреждения, которые усугубляют первичное повреждение. Геморрагический очаг возникает в ближайшие моменты после удара головой. Ушибы могут прогрессировать и расширяться, покрывать паренхиму головного мозга с потерей функции. Известно, что кровь очень токсична для здоровой ткани мозга, следовательно, УГМ являются одними из самых разрушительных форм вторичного повреждения, наблюдаемых при ЧМТ [1].

В результате первичного и вторичного повреждения тканей образуются молекулярные паттерны (DAMP – белки теплового шока HSP60, HSP70, β -дефензин, фибриноген и пр.), которые активируют толл-подобные рецепторы (TLR). TLR способствуют адекватному реагированию иммунной системы, направленной на элиминацию поврежденных белков и поддержание гомеостаза. TLR2 – доминирующие рецепторы в клетках макроорганизма. Путь инициации для TLR2 устанавливается белком MyD88, который активирует NF- κ B (транскрипционный ядерный фактор), что в свою очередь способствует увеличению образования цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α и др.), повышению концентрации хемокинов, передвижению иммунокомпетентных клеток к очагу повреждения и повышению антиапоптоза. TLR4 инициирует иммунный ответ посредством MyD88-независимый пути через TICAM-1-белок (внутриклеточный адаптерный белок) [2, 3].

Предикторы исходов ЧМТ к настоящему моменту до конца не выяснены, и все больше исследователей осуществляют поиски механизмов прогрессирования очагов контузии и их влияния на исход. Прогнозирование летального исхода и функционального исхода имеет важное значение для определения стратегии лечения и распределения ресурсов для пациентов с тяжелой ЧМТ [4-6]. Известно, что около 65% вариативности исходов ЧМТ остается необъяснимой с помощью существующих крупных многофакторных моделей, которые включают в основном немодифицируемые характеристики травмы, выявленные при

поступлении. Из этого следует, что генетическая изменчивость все чаще признается важным фактором непостоянства посттравматического ответа хозяина [7-10].

Несмотря на большое количество научных работ по изучению носительства генетического полиморфизма и его влияния на продукцию/уровень белков иммунного ответа, данная проблема недостаточно отображена в отечественной и зарубежной печати у пациентов с ЧМТ. Изыскания в этом направлении могут позволить выявить предикторы тяжелого и неблагоприятного течения травматической болезни головного мозга и проводить своевременную коррекцию лечения.

Цель исследования – изучить влияние SNP генов TLR2(Arg753Gln), TLR4(Asp299Gly) на уровень IL-1 β , TNF- α , IL-4 и IL-10 у пациентов с ушибом головного мозга.

Материалы и методы. Проведено проспективное клиническое исследование (случай-контроль) 96 пациентов русской национальности молодого возраста (по классификации ВОЗ), с ушибом головного мозга, находящихся на стационарном лечении в ГУЗ «Городская клиническая больница №1» г. Читы в рамках научно-исследовательской работы РК 025(11) № 01201251787.

Первую группу (n=50) составили пациенты с УГМ средней степени тяжести в возрасте 29,5 [24; 33] лет. Вторую (n=46) – пациенты с тяжелой степенью УГМ (средний возраст 32,5 [28,5; 35] лет), причем в данной группе у 10 больных зарегистрировано течение черепно-мозговой травмы с неблагоприятным (летальным) исходом. Контрольная группа – 100 практически здоровых резидентов аналогичного пола и возраста.

В работе с ЧМТ использовалась общепринятая классификация. Диагноз выставлялся на основании жалоб, факта травмы, данных клинического и невро логического обследования и подтвержден нейровизуализационными методами исследования (КТ). Лечение проводили согласно клиническим рекомендациям [11].

Из исследования исключались пациенты с острыми и/или хроническими сопутствующими заболеваниями, другими патологическими состояниями, хроническим алкоголизмом, лица женского пола, а также пациенты и резиденты, получающие дезагрегационную и антикоагуляционную терапию.

Генетические исследования осуществляли путем определения SNP гена толл-подобного рецептора-2 – TLR2(Arg753Gln) и SNP гена TLR4(Asp299Gly) используя наборы праймеров «Литех»-«SNP» (Россия).

Концентрацию IL-1 β , TNF α , IL-4 и IL-10 в сыворотке крови устанавливали с помощью тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Клинические, лабораторные и инструментальные (рентгенография черепа, КТ головы) исследования осуществляли на стационарном этапе лечения (забор материала для исследования выполняли на 3 сутки после травмы).

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (лицензия № Z125-3301-14, IBM, США). При проведении статистического анализа авторы руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL) [12, 13]. Учитывая численность исследуемых групп, оценка нормальности распределения признаков проводилась с помощью W-критерия Шапиро-Уилка, который в данной ситуации является наиболее эффективным, так как он обладает большей мощностью по сравнению с альтернативными критериями проверки нормальности. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального, интервальные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]). Ранговый анализ вариаций по Краскелу-Уоллису (H) выполняли для сравнения трех независимых групп по одному количественному признаку. Затем, при наличии статистически значимых различий, проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Во всех случаях $p < 0,05$ считали статистически значимым. Оценка статистической значимости различий номинальных показателей исследования проводилась за счет построения четырехпольной таблицы

сопряженности с использованием критерия χ^2 Пирсона. Зависимость относительных показателей оценивалась путем сравнения полученного значения критерия χ^2 с критическим (определяло уровень значимости p). Учитывая наличие результативных и факторных признаков, проспективный характер исследования, оценка значимости различий показателей исследования проводилась за счет определения относительного риска. Статистическая значимость относительного риска (p) оценивалась, исходя из значений 95 % доверительного интервала (95 % ДИ).

Результаты исследования и их обсуждение. Молекулярно-генетическое исследование показало отклонение от равновесия Харди-Вайнберга за счет разницы наблюдаемой и ожидаемой гетеро- или гомозиготности по мутантному аллелю выявлены для всех исследуемых генов в результате чего использована общая (тест χ^2 , $df=2$) или аддитивная модель наследования – тест Кохрана-Армитаджа для линейных трендов ($\chi=[0, 1, 2]$, $df=1$).

Таблица 1

Частота генотипов гена TLR2(Arg753Gln) и его аллельных вариантов у пациентов с ушибом головного мозга в зависимости от степени тяжести и практически здоровых лиц ($\chi_i=[0,1,2]$, $df=1$)

Аллель/Генотип Группа	-753Arg-	-753Gln-	-753Arg/Arg	-753Arg/Gln	-753Gln/Gln
Контроль (n=100)	0,825	0,175	0,65	0,35	0,00
УГМ 2 ст. (n=50) OR [95% CI]	1,0* 43,11 [2,62-710,6]	0,0* 0,02 [0,0-0,38]	1,0* 54,74 [3,28-914,1]	0,0* 0,02 [0,0-0,31]	0,0* 1,99 [0,04-101,77]
χ^2	19,81	19,81	22,83	22,83	22,83
УГМ 3 ст. (n=46) OR [95% CI]	0,391* 0,14 [0,08-0,24]	0,609* 7,33 [4,21-12,78]	0,000* 0,01 [0,0-0,1]	0,783* 6,69 [2,97-15,06]	0,217* 57,82 [3,3-1011,9]
χ^2	55,25	55,25	63,76	63,76	63,76

Примечание: * – статистическая значимость различий с контролем при $p \leq 0,05$.

Анализ SNP гена TLR2(Arg753Gln) у пациентов с УГМ и практически здоровых лиц выявил значимые различия по частоте распределения аллелей и генотипов, в том числе в зависимости от тяжести и исхода (табл. 1). Аллель -753Arg- и генотип -753Arg/Arg преобладали в группе контроля (82,5% и 65%, соответственно) и у пациентов с УГМ средней степени тяжести (100%), тогда как в группе больных с УГМ тяжелой степени превалировала аллель -753Gln- (60,9%) и гетерозиготный -753ArgGln генотип (78,3%). Мутантный генотип – -753Gln/Gln рассматриваемого гена выявлен только в группе пациентов с тяжелым УГМ и в группе с летальным исходом (21,7% и 100%, соответственно). Учитывая полученные результаты, носительство аллели -753Arg- и генотипа -753Arg/Arg гена TLR2 можно расценивать как протективный эффект при УГМ и напротив, носительство аллели -753Gln- и мутантного -753Gln/Gln генотипа способствует неблагоприятному течению ЧМТ.

При изучении носительства SNP гена TLR4(Asp299Gly) у здоровых резидентов и пациентов с УГМ отмечена статистическая значимость различий как по аллелям, так и по частотам распределения генотипов только при градации пациентов в зависимости от степени тяжести (табл. 2) и исхода УГМ.

Таблица 2

Частота генотипов гена TLR4(Asp299Gly) и его аллельных вариантов у пациентов с ушибом головного мозга в зависимости от степени тяжести и практически здоровых лиц (χ^2 =[0, 1, 2], df=1)

Аллель/Генотип Группа	-299Asp-	-299Gly-	-299Asp/Asp	-299Asp/Gly	-299Gly/Gly
Контроль (n=100)	0,675	0,325	0,45	0,45	0,10
УГМ 2 ст. (n=50) OR [95% CI]	0,42* 0,35 [0,21-0,57]	0,58* 2,87 [1,75-4,71]	0,0* 0,01 [0,0-0,2]	0,84* 6,42 [2,74-15,05]	0,16* 1,71 [0,63-4,66]
χ^2	17,92	17,92	22,37	22,37	22,37
УГМ 3 ст. (n=46) OR [95% CI]	1,0* 89,43 [5,47-1463]	0,0* 0,01 [0,0-0,18]	1,0* 113,4 [6,8-1892]	0,0* 0,01 [0,0-0,22]	0,0* 0,09 [0,01-1,62]
χ^2	38,46	38,46	34,67	34,67	34,67

Примечание: * – статистическая значимость различий с контролем при $p \leq 0,05$.

Наличие -299Asp- аллели в группе контроля выявлено у 67,5% резидентов, у пациентов с благоприятным исходом УГМ – в 66,3% случаев и в 100% у больных с неблагоприятным исходом. У всех пациентов со смертельным исходом ЧМТ в 100% регистрировалось наличие гомозиготного -299AspAsp генотипа, что свидетельствует о важном влиянии данного гена на неблагоприятное течение и исход ЧМТ.

Следующим этапом нами выполнено определение уровня цитокинов в сыворотке крови (табл. 3, 4).

Таблица 3

Содержание некоторых цитокинов у пациентов с ушибом головного мозга и практически здоровых лиц, пг/мл, (Ме [P25-P75])

Показатель Группа	IL-1 β	TNF- α	IL-4	IL-10
Контроль (n=100)	26,6 [24,8; 28,7]	24,7 [22,9; 26,7]	30,9 [30,5; 33,1]	41,6 [39,3; 43,1]
УГМ (n=96)	33,3 [33,1; 35,7]	31,0 [30,8; 33,9]	37,6 [37,3; 39,2]	47,0 [46,9; 48,5]
Тестовая статистика	U=3963, p=0,035	U=3337, p<0,001	U=3446, p=0,001	U=3925, p=0,028

Примечание: p – статистическая значимость различий с контролем при $p \leq 0,05$

Таблица 4

Содержание некоторых цитокинов у пациентов с ушибом головного мозга в зависимости от исхода, пг/мл, (Ме [P25-P75])

Показатель Группа	IL-1 β	TNF- α	IL-4	IL-10
Контрольная, n=100	26,6 [24,8; 28,7]	24,7 [22,9; 26,7]	30,9 [30,5; 33,1]	41,6 [39,3; 43,1]
УГМ, n=86 (выздоровление)	31,3 [30,5; 31,6]	29,1 [28,4; 29,4]	36,0 [35,4; 36,5]	46,0 [45,6; 46,8]
УГМ, n=10 (летальный)	62,0 [61,2; 64,7]	59,4 [58,7; 62,2]	57,7 [56,4; 59,3]	60,9 [59,2; 62,3]
Тестовая статистика	H=21,1, p<0,001	H=34,6, p<0,001	H=33,2, p<0,001	H=23,2, p<0,001

Примечание: p – статистическая значимость различий с контролем при $p \leq 0,05$

Показано, что у пациентов с УГМ на 3 сутки после травмы содержание таких параметров как IL-1 β , TNF- α , IL-4 и IL-10 значимо превышало аналогичные показатели группы контроля в 1,3, 1,3, 1,2 и 1,1 раза, соответственно, тогда как у пациентов с

неблагоприятным течением УГМ в сопоставлении с группой УГМ с благоприятным течением (выздоровление) их уровень статистически значимо превосходил подобные значения контрольной группы в 2, 2, 1,6 и 1,3 раза, соответственно (табл. 4).

Влияние SNP гена TLR2(Arg753Gln) и SNP гена TLR4(Asp299Gly) на уровень исследуемых показателей (IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-10) отражены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5

Содержание некоторых цитокинов в крови пациентов с ушибом головного мозга и практически здоровых лиц в зависимости от генотипа SNP гена TLR2(Arg753Gln), пг/мл, (Me [P25-P75])

Группа	Контроль (n=100)			УГМ (n=86), выздоровление			УГМ (n=10), летальный исход		
Генотип Параметр	753Arg/ Arg (n=65)	753Arg/ Gln (n=35)	753Gln/ Gln (n=0)	753Arg/ Arg (n=50)	753Arg/ Gln (n=36)	753Gln/ Gln (n=0)	753Arg/ Arg (n=0)	753Arg/ Gln (n=0)	753Gln/ Gln (n=10)
IL-1 β	15,4 [3,9; 26,6]	46,24 [42,64; 46,97] ²	0	28,99 [26,44; 31,44] ¹	34,49 [32,26; 37,15] ^{1,2}	0	0	0	61,97 [59,96; 67,04]
TNF- α	15,22 [3,27; 22,28]	43,75 [28,11; 48,23] ²	0	26,62 [24,67; 29,27] ¹	32,74 [30,08; 34,67] ^{1,2}	0	0	0	59,45 [57,21; 64,34]
IL-4	24,9 [18,51; 31,7]	43,47 [34,14; 45,1] ²	0	34,46 [31,58; 36,39] ¹	39,45 [36,07; 42,37] ²	0	0	0	57,74 [55,96; 60,68]
IL-10	36,88 [20,0; 47,66]	51,54 [49,19; 58,15] ²	0	44,89 [41,9; 46,20] ¹	50,0 [47,48; 53,03] ²	0	0	0	60,86 [58,27; 63,70]

Примечание: u^1 – статистическая значимость различий с контролем при $p \leq 0,05$; u^2 – статистическая значимость различий с -753Arg/Arg при $p \leq 0,05$; u^3 – статистическая значимость различий с -753Arg/Gln при $p \leq 0,05$.

Таблица 6

Содержание некоторых цитокинов в крови пациентов с ушибом головного мозга и практически здоровых лиц в зависимости от генотипа SNP гена TLR4(Asp299Gly), пг/мл, (Me [P25-P75])

Группа	Контроль (n=100)			УГМ (n=86), выздоровление			УГМ (n=10), летальный исход		
Генотип Параметр	299Asp/ Asp (n=45)	299Asp/ Gly (n=45)	299Gly/ Gly (n=10)	299Asp/ Asp (n=36)	299Asp/ Gly (n=42)	299Gly/ Gly (n=8)	299Asp/ Asp (n=10)	299Asp/ Gly (n=0)	299Gly/ Gly (n=0)
IL-1 β	43,6 [41,35; 46,96]	15,4 ² [3,91; 22,1]	2,0 ^{2,3} [1,29; 4,88]	34,49 ¹ [32,26; 37,15]	29,77 ^{1,2} [27,91; 32,38]	23,08 ^{1,2,3} [21,30; 24,10]	61,97 ¹ [59,96; 67,04]	0	0
TNF- α	43,77 [29,12; 48,3]	15,22 ² [12,34; 9,8]	2,5 ^{2,3} [1,82; 6,55]	32,74 ¹ [30,08; 34,67]	27,10 ^{1,2} [26,0; 29,8]	21,14 ^{1,2,3} [19,7; 23,0]	59,45 ¹ [57,21; 64,34]	0	0
IL-4	43,09 [38,68; 45,28]	24,9 ² [23,18; 28,94]	16,04 ^{2,3} [15,04; 17,9]	39,47 [36,07; 42,37]	34,63 ^{1,2} [32,7; 36,99]	28,44 ^{1,2,3} [26,8; 29,2]	57,74 ¹ [55,96; 60,68]	0	0
IL-10	52,66 [49,21; 58,32]	36,89 ² [34,13; 43,31]	9,4 ^{2,3} [8,03; 15,03]	50,0 [47,48; 53,03]	45,18 ^{1,2} [42,57; 6,7]	38,04 ^{1,2,3} [37,1; 39,4]	60,86 ¹ [58,27; 63,70]	0	0

Примечание: u^1 – статистическая значимость различий с контролем при $p \leq 0,05$; u^2 – статистическая значимость различий с -299Asp/Asp при $p \leq 0,05$; u^3 – статистическая значимость различий с -299Asp/Gly при $p \leq 0,05$.

Учитывая наиболее высокий уровень цитокинов у пациентов с неблагоприятным исходом УГМ при носительстве мутантного генотипа -753Gln/Gln и -753Gln- аллели (табл. 37), можно сделать заключение о значимом влиянии их носительства на более высокое содержание в сыворотке крови изучаемых цитокинов (табл. 5).

У пациентов с генотипом -299Asp/Asp регистрируется более высокая концентрация всех изучаемых цитокинов как по сравнению с генотипом -299Asp/Gly, так и в сопоставлении с генотипом -299Gly/Gly. При носительстве гетерозиготного генотипа регистрируется более высокий уровень исследуемых цитокинов по сравнению с генотипом -299Gly/Gly (табл. 6). Наличие генотипа -299Asp/Asp SNP гена TLR4(Asp299Gly) опосредованно содействует более высокому уровню в крови изучаемых цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-10). Таким образом, исследуемые нами показатели объективно отображают как течение тяжести, так и исход при УГМ, что подтверждает ведущую роль иммунной системы в патогенезе ЧМТ, и они могут быть использованы в прогнозировании неблагоприятного прогноза при УГМ [14].

Установлено, что SNP гена TLR2(Arg753Gln) ассоциирован с развитием многочисленных инфекционных процессов, в частности, генотип -753Arg/Arg. Напротив, аллель -299Gly- SNP гена TLR4(Asp299Gly) ассоциирована со снижением ответа иммунной системы на липополисахариды бактерий за счет уменьшения синтеза TLR4 [2, 3].

В ЦНС толл-подобные рецепторы локализуются на нейронах, астроцитах и олигодендроцитах. На сегодня известны исследования по изучению механизмов взаимодействия TLRs в патогенезе некоторых заболеваний ЦНС (болезнь Альцгеймера, Паркинсона, рассеянный склероз др.). Как указано выше, TLRs способствуют синтезу цитокинов, в том числе и в головном мозге, где они представлены невральным и глиальным компартментами, а также находятся в дискретных сетях и через рецепторы активируют системы вторичных внутриклеточных мессенджеров (в том числе и протеазы). Поскольку лигандами для TLRs служат не только инфекционные агенты, но и измененные или поврежденные клетки собственного организма, продукты распада некротизированных клеток, пыль, белки теплового шока и др., то становится ясна роль TLRs в возникновении и исходе заболеваний неинфекционного генеза, в том числе и УГМ. Такой механизм обеспечивает своевременное выведение из организма модифицированных эндогенных молекул и сохранению антигенного гомеостаза [2, 3].

Так, в исследовании Крохалевой Ю.А., Страмбовской Н.Н. (2015, 2016) показано, что при ишемическом инсульте происходит гибель нейронов с формированием ядра ишемии и ишемической полутени вокруг центральной зоны инфаркта. Разрушение нервных клеток сопровождается высвобождением таких веществ, как HSP60, HSP70, фибронектин CFn, которые могут выполнять роль эндогенных лигандов для TLRs. Экспрессия TLRs увеличивается и сопровождается синтезом цитокинов. Учитывая, что продукция цитокинов напрямую зависит от TLRs, то роль генетического полиморфизма данных белков несомненна. Замена одного нуклеотида на другой в генах, ответственных за синтез TLR, может являться причиной их гиперактивации и, как следствие, выраженной воспалительной реакции, от выраженности и длительности которой будет и зависеть размер инфаркта и, следовательно, течение и исход инсульта [2, 3], что согласуется и с результатами, полученными в нашем исследовании.

К сожалению, небольшие размеры выборки при ЧМТ (особенно тяжелой травме) препятствуют проведению объективных полногеномных ассоциативных исследований для выявления новых генетических мишеней или подтверждения вышеуказанных результатов. Усилия по увеличению размера выборки для генетической оценки при ЧМТ и подтверждению этих результатов имеют первостепенное значение.

Заключение. При носительстве генотипа -753Gln/Gln SNP гена TLR2(Arg753Gln) и генотипа -299Asp/Asp SNP гена TLR4(Asp299Gly) можно констатировать о значимом влиянии их носительства на более высокое содержание в сыворотке крови изучаемых цитокинов. У всех пациентов со смертельным исходом УГМ в 100% регистрировалось наличие мутантного генотипа -753Gln/Gln SNP гена TLR2(Arg753Gln) и гомозиготного генотипа -299Asp/Asp SNP

гена TLR2(Arg753Gln), что свидетельствует о важном влиянии данных генов на неблагоприятное течение и исход ЧМТ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения о вкладе каждого автора в работу.

Мироманов А.М. – 30% (разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, анализ литературы по теме исследования, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Ступин Ю.В. – 30% (сбор данных, анализ и интерпретация данных, анализ литературы по теме исследования, написание текста статьи).

Мироманова Н.А. – 20% (анализ и интерпретация данных, анализ литературы по теме исследования, научное редактирование, техническое редактирование).

Витковский Ю.А. – 20% (научное редактирование, техническое редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Список литературы:

1. Pellot J.E., Jesus O.D. Cerebral contusion. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562147/>. PMID 32965818. Bookshelf ID: NBK562147.
2. Крохалева Ю.А., Страмбовская Н.Н. Носительство генетического полиморфизма (TLR2 (Arg753Gln), TLR3 (Phe412Leu) и концентрация IL-1 β , IL-6 в плазме крови у больных мозговым инсультом. Дальневосточный медицинский журнал. 2016. 1. 59-62. URL: <http://eport.fesmu.ru/dmj/20161/2016114.aspx> (дата обращения: 04.07.2022).
3. Крохалева Ю.А., Страмбовская Н.Н. Носительство генетического полиморфизма толл-рецепторов и концентрация IL-1 β , IL-6 в плазме крови у больных мозговым инсультом. Успехи современного естествознания. 2015. 7. 7–11. URL: <https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=35479> (дата обращения: 04.07.2022).
4. Adatia K., Newcombe V.F.J., Menon D.K. Contusion Progression Following Traumatic Brain Injury: A Review of Clinical and Radiological Predictors, and Influence on Outcome. Neurocrit Care. 2021. 34(1). 312-324. doi: 10.1007/s12028-020-00994-4.
5. Nasi D., di Somma L., Gladi M., Moriconi E., Scerrati M., Iacoangeli M., Dobran M. New or Blossoming Hemorrhagic Contusions After Decompressive Craniectomy in Traumatic Brain Injury: Analysis of Risk Factors. Front Neurol. 2019. 9. 1186. doi: 10.3389/fneur.2018.01186.
6. Emami P., Czorlich P., Fritzsche F.S., Westphal M., Rueger J.M., Lefering R., Hoffmann M. Impact of Glasgow Coma Scale score and pupil parameters on mortality rate and outcome in pediatric and adult severe traumatic brain injury: a retrospective, multicenter cohort study. J Neurosurg. 2017. 126(3). 760-767. doi: 10.3171/2016.1.JNS152385.
7. Jha R.M., Elmer J., Zusman B.E., Desai S., Puccio A.M., Okonkwo D.O. et al. Intracranial pressure trajectories: A novel approach to informing severe traumatic brain injury phenotypes. Crit. Care Med. 2018. 46(11). 1792–1802. doi: 10.1097/CCM.0000000000003361.
8. Zeiler F.A., McFadyen C., Newcombe V.F.J., Synnot A., Donoghue E.L., Ripatti S. et al. Genetic influences on patient-oriented outcomes in traumatic brain injury: A living systematic review of non-apolipoprotein E single-nucleotide polymorphisms. J. Neurotrauma. 2021. 38(8). 1107-1123. doi: 10.1089/neu.2017.5583.
9. Zeiler F.A., Thelin E.P., Donnelly J., Stevens A.R., Smielewski P., Czosnyka M. et al. Genetic drivers of cerebral blood flow dysfunction in TBI: A speculative synthesis. Nat. Rev. Neurol. 2019. 15. 25–39. doi: 10.1038/s41582-018-0105-9.
10. McFadyen C.A., Zeiler F.A., Newcombe V., Synnot A., Steyerberg E., Gruen R.L. et al. Apolipoprotein E4 polymorphism and outcomes from traumatic brain injury: A living systematic review and meta-analysis. J. Neurotrauma. 2021. 38(8). 1124-1136. doi: 10.1089/neu.2018.6052.
11. Нейрохирургия и нейрореаниматология / под ред. В.В. Крылова. Москва : АБВ-пресс. 2018. 783 с. ISBN 978-5-903018-43-7.

12. Alshogran O.Y., Al-Delaimy W.K. Understanding of international committee of medical journal editors authorship criteria among faculty members of pharmacy and other health sciences in Jordan. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2018. 13(3). 276-284. doi: 10.1177/1556264618764575.
13. Lang T.A., Altman D.G. Statistical analyses and methods in the published literature: The SAMPL guidelines. *Medical Writing*. 2016. 25(3). 31–6. doi: 10.18243/eon/2016.9.7.4.
14. Lisianyi N.I. The dual role of the immune system in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2019. 25(1). 5-11. doi: 10.25305/unj.155107.

References:

1. Pellot J.E., Jesus O.D. Cerebral contusion. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562147/>. PMID 32965818. Bookshelf ID: NBK562147.
2. Krohaleva Yu.A., Stambovskaya N.N. Carriage of genetic polymorphisms in TLR2, TLR3 and the concentration of IL-1 β , IL-6 in plasma of patients with cerebral stroke *Far East Medical Journal*. 2016. 1. 59-62. URL: <http://eport.fesmu.ru/dmj/20161/2016114.aspx> (date of the application: 04.07.2022). in Russian.
3. Krohaleva Yu.A., Stambovskaya N.N. The prevalence of genetic polymorphisms of toll-like receptors and the concentration of IL-1 β , IL-6 in plasma of patients with cerebral stroke. *Advances in current natural sciences*. 2015. 7. 7–11. URL: <https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=35479> (дата обращения: 04.07.2022). in Russian.
4. Adatia K., Newcombe V.F.J., Menon D.K. Contusion Progression Following Traumatic Brain Injury: A Review of Clinical and Radiological Predictors, and Influence on Outcome. *Neurocrit Care*. 2021. 34(1). 312-324. doi: 10.1007/s12028-020-00994-4.
5. Nasi D., di Somma L., Gladi M., Moriconi E., Scerrati M., Iacoangeli M., Dobran M. New or Blossoming Hemorrhagic Contusions After Decompressive Craniectomy in Traumatic Brain Injury: Analysis of Risk Factors. *Front Neurol*. 2019. 9. 1186. doi: 10.3389/fneur.2018.01186.
6. Emami P., Czorlich P., Fritzsche F.S., Westphal M., Rueger J.M., Lefering R., Hoffmann M. Impact of Glasgow Coma Scale score and pupil parameters on mortality rate and outcome in pediatric and adult severe traumatic brain injury: a retrospective, multicenter cohort study. *J Neurosurg*. 2017. 126(3). 760-767. doi: 10.3171/2016.1.JNS152385.
7. Jha R.M., Elmer J., Zusman B.E., Desai S., Puccio A.M., Okonkwo D.O. et al. Intracranial pressure trajectories: A novel approach to informing severe traumatic brain injury phenotypes. *Crit. Care Med*. 2018. 46(11). 1792–1802. doi: 10.1097/CCM.0000000000003361.
8. Zeiler F.A., McFadyen C., Newcombe V.F.J., Synnot A., Donoghue E.L., Ripatti S. et al. Genetic influences on patient-oriented outcomes in traumatic brain injury: A living systematic review of non-apolipoprotein E single-nucleotide polymorphisms. *J. Neurotrauma*. 2021. 38(8). 1107-1123. doi: 10.1089/neu.2017.5583.
9. Zeiler F.A., Thelin E.P., Donnelly J., Stevens A.R., Smielewski P., Czosnyka M. et al. Genetic drivers of cerebral blood flow dysfunction in TBI: A speculative synthesis. *Nat. Rev. Neurol*. 2019. 15. 25–39. doi: 10.1038/s41582-018-0105-9.
10. McFadyen C.A., Zeiler F.A., Newcombe V., Synnot A., Steyerberg E., Gruen R.L. et al. Apolipoprotein E4 polymorphism and outcomes from traumatic brain injury: A living systematic review and meta-analysis. *J. Neurotrauma*. 2021. 38(8). 1124-1136. doi: 10.1089/neu.2018.6052.
11. *Neurosurgery and neuroreanimation / edited by V.V. Krylov*. Moscow: ABV-press. 2018. 783. in Russian.
12. Alshogran O.Y., Al-Delaimy W.K. Understanding of international committee of medical journal editors authorship criteria among faculty members of pharmacy and other health sciences in Jordan. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2018. 13(3). 276-284. doi: 10.1177/1556264618764575.
13. Lang T.A., Altman D.G. Statistical analyses and methods in the published literature: The SAMPL guidelines. *Medical Writing*. 2016. 25(3). 31–6. doi: 10.18243/eon/2016.9.7.4.
14. Lisianyi N.I. The dual role of the immune system in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2019. 25(1). 5-11. doi: 10.25305/unj.155107.