

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КРОХАЛЕВА

Юлия Александровна

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО
ПОЛИМОРФИЗМА И ЭКСПРЕССИИ TOLL-ПОДОБНЫХ
РЕЦЕПТОРОВ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ**

14.03.03. – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент

Страмбовская Наталья Николаевна

Научный консультант:

Заслуженный деятель науки РФ,

доктор медицинских наук, профессор

Кузник Борис Ильич

Чита 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ.....	8
I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Toll-like рецепторы: общая характеристика, строение, функции	15
1.1.1. Общая характеристика toll-like рецепторов.....	15
1.1.2. Физиологическая роль toll-like рецепторов.....	18
1.1.3. Строение и функции отдельных toll-like рецепторов.....	20
1.1.4. Участие toll-like рецепторов в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний.....	22
1.2. Генетический полиморфизм толл-подобных рецепторов.....	24
1.2.1. Генетический полиморфизм TLRs в патогенезе инфекционных заболеваний.....	24
1.2.2. Генетический полиморфизм TLR в патогенезе заболеваний неинфекционного происхождения.....	30
1.2.3. Толл-подобные рецепторы в патогенезе заболеваний головного мозга.....	34
1.3. Патогенетические механизмы ишемического инсульта.....	36
1.3.1. Роль воспаления в патогенезе ишемического инсульта.....	40
1.3.2. Участие toll-like рецепторов в патогенезе ишемического инсульта.....	44
1.3.3. Генетический полиморфизм толл-подобных рецепторов у больных ишемическим инсультом.....	45
1.4. Заключение.....	46
II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	47
2.1. Общая характеристика клинического материала.....	47
2.2. Развернутая характеристика групп исследования.....	48
2.2.1. Характеристика исследуемых контрольной группы.....	48
2.2.2. Характеристика исследуемых клинической группы.....	49

2.3.	Методы исследования клинической и контрольной группы.....	51
2.3.1.	Клинические методы исследования.....	51
2.3.2.	Инструментальные методы исследования.....	51
2.3.3.	Лабораторные методы исследования.....	52
2.3.3.1.	Общий анализ крови.....	52
2.3.3.2.	Определение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА).....	52
2.3.3.3.	Определение агрегационной активности тромбоцитов....	52
2.3.3.4.	Определение концентрации цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-10).....	53
2.3.3.5.	Исследование уровня экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови.....	54
2.3.3.6.	Молекулярно-генетические исследования.....	54
2.4.	Статистическая обработка материала.....	55
III.	РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	57
3.1.	Сравнительная частота генетического полиморфизма toll-like рецепторов (<i>TLR2</i> (Arg753Gln), <i>TLR3</i> (Phe412Leu), <i>TLR4</i> (Asp299Gly), <i>TLR6</i> (Ser249Pro), <i>TLR9</i> (T -1237C)) у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае.....	57
3.2.	Экспрессия TLR2, TLR4 у больных ишемическим инсультом, в том числе с учетом носительства полиморфизма генов толл-подобных рецепторов.....	67
3.2.1.	Уровень экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом.....	67
3.2.2.	Взаимосвязь уровня экспрессии TLR2, TLR4 и количества лейкоцитов (нейтрофилов и лимфоцитов) в периферической крови у больных ишемическим инсультом	69
3.2.3.	Экспрессия TLR2, TLR4 у больных ишемическим инсультом в	

зависимости от носительства генетического полиморфизма и генетического индекса.....	72
3.3. Концентрация IL-1 β , IL-6, IL-10 у больных ишемическим инсультом–носителей полиморфизмов толл-подобных рецепторов.....	74
3.3.1. Содержание IL-1 β , IL-6, IL-10 в плазме крови больных ишемическим инсультом в динамике острого периода заболевания.....	74
3.3.2. Взаимосвязь концентрации IL-1 β , IL-6, уровня экспрессии TLR2, TLR4 у больных ишемическим инсультом.....	76
3.3.3. Концентрация IL-1 β , IL-6, IL-10 у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания в зависимости от носительства генетического полиморфизма toll-like рецепторов и генетического индекса.....	77
3.4. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и агрегация тромбоцитов у больных ишемическим инсультом, в том числе с учетом носительства полиморфизма генов толл-подобных рецепторов.....	81
3.4.1. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных ишемическим инсультом.....	81
3.4.2. Взаимосвязь уровня экспрессии и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных ишемическим инсультом.....	83
3.4.3. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных ишемическим инсультом, в том числе с учетом носительства полиморфизма генов толл-подобных рецепторов.....	85
3.4.4. Агрегационная активность тромбоцитов у больных ишемическим инсультом	88
3.4.5. Взаимосвязь экспрессии TLR2, TLR4 и агрегации	

тромбоцитов у больных ишемическим инсультом.....	89
3.4.6. Агрегационная активность тромбоцитов с учетом носительства генетического полиморфизма toll-like рецепторов и генетического индекса у больных ишемическим инсультом.....	99
IV. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	116
V. ВЫВОДЫ.....	128
VI. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	130

Список сокращений

АПК	антигенпрезентирующая клетка
ВПЧ16	вирус папилломы человека 16 типа
ГАМК	гаммааминомасляная кислота
ДК	дендритная клетка
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИИ	ишемический инсульт
ИФН- β	интерферон- β
ЛТА	лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия
ЛТИ	лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс
МРТ	магнитно-резонансная томография
ОНМК	острое нарушение мозгового кровообращения
ОЦИ	острый церебральный инсульт
РНК	рибонуклеиновая кислота
СРБ	c - реактивный белок
ТАВ1	ТАК1-связывающий протеин 1
УЗИ	ультразвуковое исследование
ХГС	хронический гепатит С
ЦНС	центральная нервная система
ЭАЭ	экспериментальный аллергический энцефалит
DAMP	молекулярные паттерны распознающие повреждения
ERK1/2	экстрацеллюлярная регулирующая киназа
IGI	индивидуальный генетический индекс
HSP	белок теплового шока
I/R	ишемически-реперфузионное отношение
IgM	иммуноглобулин класса М
IKK	киназный комплекс
IL	интерлейкин

IRAK	IL-1R-ассоциированная серин/треониновая протеинкиназа
IRF	интерферон-регулирующий фактор
JNK	NH ₂ -терминальная киназа
LRR	домен толл-рецептора обогащенный лейцином
MAP-3	митоген-активированная протеинкиназа 3
MD-2	адаптерная молекула
MyD88	протеин 88 первичного ответа миелоидной дифференциации
MFI	средняя интенсивность флюоресценции
NF-κB	ядерный фактор транскрипции каппа В
NO	монооксид азота
NOS	NO-синтаза
PAMP	патоген - ассоциированные молекулярные паттерны
PI3-киназа	фосфатидилинозитол-3 киназа
PRRs	паттернраспознающие рецепторы
SNP	однонуклеотидные замены
TGFβ	трансформирующий фактор роста
Th	Т-хелперы
TIR	толл-интерлейкин-1 рецепторный домен
TLRs	толл-подобные рецепторы
TNFα	фактор некроза опухолей - α
TRAF6	фактор 6 ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

По данным Всемирной федерации неврологических обществ, в мире ежегодно инсульт настигает не менее 15 млн. человек, в России – свыше 450 тыс. эпизодов, при этом заболеваемость составляет 2,5–4 на 1000 человек и является одной из самых высоких в мире [62]. В последние годы ОНМК стали выявлять у лиц моложе 40 лет. На долю ишемического инсульта приходится до 80% от числа всех случаев острого нарушения мозгового кровообращения. В острой стадии инсульта (первые три недели) погибают 30–35% больных, а к концу первого года после сосудистого эпизода число неблагоприятных исходов превышает 50%. Около 10% переживших ОНМК становятся зависимыми от посторонней помощи. Лишь 15% больных возвращаются к своей прежней работе [13,22,24,106]. В последние годы ишемический инсульт, имея тенденцию к увеличению, занимает второе место в структуре общей смертности и первое среди причин стойкой утраты работоспособности и инвалидизации населения многих стран. Очень велики экономические и социальные последствия заболевания. Вот почему проблему инсульта можно с полной уверенностью назвать чрезвычайной.

В настоящее время исследователи стали уделять особое внимание роли толл-подобных рецепторов в патогенезе многих заболеваний и это не случайно, поскольку доказано их непосредственное участие в инициации иммунной системы не только при инфекционных заболеваниях [46]. Встречаясь первыми на пути патогенов, они активируют синтез цитокинов, от которых зависит интенсивность воспалительной реакции, течение и исход заболевания [47,48]. Полиморфизм генов TLRs за счет специфических аллелей вносит существенный вклад в персональные особенности развития защитных реакций и в предрасположенность к целому ряду заболеваний [44,45,49,80,82].

В настоящее время интенсивно изучается участие толл-белков в развитии гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, атеросклероза,

являющимися факторами риска острого нарушения мозгового кровообращения. Гиперактивация этих рецепторов служит важнейшим патогенетическим фактором воспалительных неинфекционных заболеваний [40,69,94]. В последние годы в источниках литературы появились данные нескольких исследований, посвященных изучению роли генетического полиморфизма толл-белков в патогенезе церебральных инсультов [112,124,168,174,178]. Выявлено, что некоторые полиморфизмы в гене *TLR6* ассоциированы с ишемическим инсультом у жителей Кореи и влияют на тяжесть инсульта. У двух SNP *TLR6* (rs3821985 и rs3775073) выявлена связь с тяжестью ишемического инсульта [164]. Некоторые исследования [110] показали важную роль генетического полиморфизма Asn199Asn (rs3804099) и Ser450Ser (rs3804100) *TLR2* в постишемическом воспалительном ответе и ишемическом повреждении головного мозга, а SNP (rs3804099) был связан со степенью тяжести инсульта. Опыты с участием животных, доказали, что TLRs вносят вклад в патогенез ишемии головного мозга. Результаты исследований полиморфизма *TLR2* являются спорными. Есть ряд работ, описывающих более высокие показатели смертности от инсульта у мышей, не имеющих мутации *TLR2*, в отличие от носителей минорного аллеля [126]. В других источниках указывают на противоположные результаты [156,172]. Поэтому особый интерес вызывает изучение генетического полиморфизма toll-like рецепторов при ишемическом инсульте и влияние его на основные патогенетические звенья этой патологии.

Цель исследования:

Изучить прогностическую и патогенетическую роль аллельного полиморфизма генов некоторых толл-подобных рецепторов у больных ишемическим инсультом.

Задачи исследования:

1. Изучить частоту встречаемости аллелей и генотипов генетического полиморфизма Toll-подобных рецепторов (*TLR2* (Arg753Gln), *TLR3* (Phe412Leu), *TLR4* (Asp299Gly), *TLR6* (Ser249Pro), *TLR9* (T –1237C)) у пациентов с ишемическим инсультом в Забайкальском крае. Выявить генетические предикторы заболевания, тяжести ишемического инсульта и развития повторного сосудистого эпизода.
2. Исследовать уровень экспрессии *TLR2* и *TLR4* на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом, в том числе с учетом носительства генетического полиморфизма *TLR2*(Arg753Gln), *TLR4*(Asp299Gly) и генетического индекса. Оценить клинко-прогностическое значение экспрессии *TLR2* и *TLR4*.
3. Определить содержание $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-10$ в плазме у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания, в том числе в зависимости от носительства генетического полиморфизма *TLR2*(Arg753Gln), *TLR3*(Phe412Leu), *TLR4*(Asp299Gly), *TLR6*(Ser249Pro), *TLR9*(T –1237C) и генетического индекса.
4. Изучить феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) и агрегационную активность тромбоцитов (спонтанную и индуцированную) у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания, в том числе с учетом носительства генетического полиморфизма *TLR2*(Arg753Gln), *TLR3*(Phe412Leu), *TLR4*(Asp299Gly), *TLR6*(Ser249Pro), *TLR9*(T –1237C) и генетического индекса.
5. Провести анализ и определить причинно-следственные связи между выявленными маркерами заболевания у больных ишемическим инсультом.

Научная новизна:

Впервые изучено и проанализировано носительство генетического полиморфизма *TLR2*(Arg753Gln), *TLR3*(Phe412Leu), *TLR4*(Asp299Gly),

TLR6(Ser249Pro), TLR9(T -1237C) у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае и обозначены предикторы заболевания: TLR2 -753Arg, TLR6 -249Pro, TLR9 -1237C и TLR4 -299Asp/Asp -генотип. Установлено, что наличие в геноме дикого аллеля TLR4 (Asp299Gly) ассоциировано с тяжелым течением болезни. Присутствие же в геноме большого количества предрасполагающих аллелей SNP TLRs увеличивает риск возникновения ишемического инсульта и ассоциируется с тяжелым его течением.

Впервые установлено, что общее количество моноцитов, количество активированных моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, TLR4 у больных ишемическим инсультом увеличивается. При тяжелом течении инсульта отмечалось снижение данных показателей, что может иметь клиничко-прогностическое значение. При повторном ОНМК к моменту завершения формирования зоны инфаркта мозга индекс экспрессии возрастает. Кроме этого, среди больных инсультом в группе с высоким IGI по сравнению с низким обнаружено снижение количества моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2 ($p < 0,05$).

Впервые у пациентов с ишемическим инсультом при наличии -753Gln TLR2 в геноме обнаружено значительное увеличение концентрации IL-1 β , IL-6 в крови на всем протяжении острого периода ОНМК, а комплексное носительство предиктивных аллелей генов toll-like рецепторов как в норме, так и у больных инсультом, к концу острого периода заболевания вызывает цитокиновый дисбаланс с увеличением концентрации провоспалительных интерлейкинов.

Впервые показано, что в острейший период ОНМК чем больше предиктивных аллелей SNP TLRs в геноме, тем выраженнее лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия (ЛТА). При этом *in vitro* наблюдаются сравнительно низкие показатели степени и скорости индуцированной агрегации кровяных пластинок, при одновременном увеличении их среднего радиуса.

Теоретическая и практическая значимость:

Результаты исследования позволяют уточнить некоторые иммунологические аспекты в патогенезе ишемического инсульта, в том числе с учетом степени тяжести и вторичности сосудистого эпизода, оценить влияние носительства генетического полиморфизма toll-like рецепторов на выраженность иммунологических реакций и на степень экспрессии TLR2, TLR4 и, в связи с этим, прогнозировать развитие заболевания, а также характер осложнений. Полученные данные дадут возможность для более детального изучения рассматриваемых механизмов, что позволит в будущем улучшить диагностические мероприятия у этой категории больных.

Методология и методы исследования:

В работе с обследуемыми людьми соблюдались этические принципы согласно требованиям Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964).

Все участники исследования были разделены на 2 группы: клиническую и контрольную. В клиническую группу включены 115 больных ишемическим инсультом, которые госпитализировались в первые сутки заболевания. Все пациенты с ишемическим инсультом были разделены на три группы в зависимости от степени тяжести заболевания (согласно шкале NIHSS): 1-ю группу составили 34 пациента с легким течением заболевания – оценка степени тяжести инсульта до 5 баллов; 2-ю – 47 больных, у которых наблюдалась средняя степень тяжести заболевания – оценка тяжести от 5 до 9 баллов; 3-ю – 34 больных с тяжелым инсультом с оценкой 10 баллов и более.

Контрольную группу составили 94 относительно здоровых респондента. Представителями клинической и контрольной групп было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

В работе применялись клинические, лабораторные, инструментальные и статистические методы исследования.

Апробация диссертации:

Результаты исследования представлены на: Региональной межвузовской научно-практической конференции молодых ученых «Медицина завтрашнего дня» г. Чита, 2012 г., 2013г, 2015г; 70-й итоговой научной конференции молодых ученых и студентов Дальневосточного государственного медицинского университета с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины», г. Хабаровск, 2013 г.; Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60-летию Читинской государственной медицинской академии, «Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины», г. Чита, 2013 г.; VI Всероссийской конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии», г. Москва, 2013 г., 2016 г.; III Российском Международном Конгрессе «Цереброваскулярная патология и инсульт», г. Казань, 2014 г. ; 82-ой Всероссийской Байкальской научно –практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием, посвященной 95-летию ИГМУ, «Актуальные вопросы современной медицины», г. Иркутск, 2015 г.

Объем и структура работы: Диссертация содержит 150 страниц машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, заключения, выводов и списка использованной литературы (105 отечественных и 80 зарубежных источников). Работа иллюстрирована 49 таблицами, 1 рисунком.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. У больных ишемическим инсультом в геноме часто обнаруживаются TLR2 –753Arg, TLR6 –249Pro, TLR9 –1237C аллели и TLR4 –299Asp/Asp-генотип. Для развития заболевания имеет значение количество предиктивных аллеломорфов SNP *TLRs* в геноме. Носительство *TLR4* –299Asp-аллеля ассоциировано с тяжелым течением заболевания.

2. У пациентов с ишемическим инсультом в крови увеличено число активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4. Носительство двух и более предиктивных аллелей полиморфизма генов toll-like рецепторов сопровождается снижением количества активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2. Увеличение количества моноцитов, экспрессирующих TLR4, ассоциировано со снижением концентрации IL-1 β .
3. Носительство -753Gln *TLR2* увеличивает концентрацию IL-1 β , IL-6 в периферической крови на всем протяжении острого периода ОНМК. Комплексное носительство предиктивных аллелей полиморфизма генов toll-like рецепторов в динамике ишемического инсульта вызывает цитокиновый дисбаланс с увеличением концентрации провоспалительных интерлейкинов (IL-1 β , IL-6), усиление лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и вторичную индуцированную гипоагрегацию тромбоцитов с увеличением радиуса агрегатов.

I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Toll-like рецепторы: общая характеристика, строение, функции

1.1.1. Общая характеристика toll-like рецепторов

В иммунной системе выделяют врожденный и адаптивный компоненты, каждый из которых выполняет свою функцию и роль в организме. Адаптивный или приобретенный компонент организован вокруг двух классов специализированных клеток Т - и В -лимфоцитов, распознающих патогены посредством высокоаффинных рецепторов [60,113]. Данный иммунитет обычно развивается достаточно медленно. Более быстрый запуск иммунных реакций обеспечивается врожденным иммунным ответом, который распознает высоко консервативные структуры патогенных микроорганизмов (паттерны (PAMP)) благодаря специальным рецепторам более широкой специфичности [60,69,73,113]. Данные рецепторы объединены в большое семейство под названием паттернраспознающие или образраспознающие рецепторы. PRR могут быть разделены на три семейства в зависимости от функции: эндоцитозные, секретируемые и сигнальные. Секретируемые PRRs, функционируя как опсоины, «помечают» микробные клетки, что облегчает процесс фагоцитоза. Эндоцитозные PRRs способствуют разрушению патогена в лизосомах клеток макроорганизма для дальнейшей презентации фрагментов пептидов на поверхности макрофага. Посредством сигнальных PRRs осуществляется передача сигнала в ядро клетки, где активируются гены адаптивного (лимфоцитарного) ответа. Наиболее важным представителем из семейства сигнальных PRRs являются Toll-подобные рецепторы (toll-like рецепторы), функции и экспрессия которых в последнее время активно исследуются как в норме, так и при патологии [5,35,40,60,69,113].

Толл-подобные рецепторы (с англ. TLR—Toll-like receptor; с нем. toll – необычный, замечательный) – консервативные трансмембранные белковые структуры, состоящие из цитоплазматического и мембранного участков.

В настоящее время обнаружено 13 толл-подобных рецепторов у млекопитающих, которые обозначаются аббревиатурами от TLR1 до TLR13. У человека выявлено 10 TLR (TLR1–TLR10). Они связывают различные лиганды и образуются в организме разными типами клеток. Ген *TLR11* у человека содержит стоп-кодоны, поэтому белок не синтезируется. Считается, что данный ген репрессирован в связи с гомологией естественного лиганда с профилином человека и его возможной реакцией на этот белок. Биологическая роль TLRs 10, 12 и 13 остается неизвестной, т.к. лиганды и способы передачи сигналов для этих рецепторов еще не установлены [5,37,40,64,69,76,94].

В роли паттернов для toll-like рецепторов могут выступать самые разнообразные клеточные структуры микроорганизмов. Все PAMPs имеют значительные различия в строении, но их компоненты резко отличаются от молекулярных структур любой клетки макроорганизма. Самыми распространенными экзогенными лигандами TLRs являются компоненты бактериальной клеточной стенки (липополисахариды, пептидогликаны); ДНК микроорганизмов, флагеллин, вирусная РНК и другие [5,37,40,69,82,94,99,179]. Исследования последних лет продемонстрировали, что в роли PAMPs могут выступать как микроорганизмы, так и экстракты домашней пыли, молекулярные структуры растений, никель. Также, показано, что активаторами для TLR могут служить эндогенные молекулы, образующиеся в результате массивной деструкции тканей и некроза клеток, и при распаде молекул внеклеточного матрикса. Эти лиганды обозначаются как DAMP или «сигналы опасности». Примерами DAMP могут быть белки теплового шока – HSP60, HSP70, β -дефензин, фибриноген, фибронектин, гиалуроновая кислота. Активация врожденного иммунитета эндогенными молекулами обеспечивает адекватным реагированием иммунную систему на сигналы иммунной опасности, что способствует своевременной ликвидации из организма измененных эндогенных молекул и сохранению антигенного гомеостаза [5,38,40,54,64,69,82,99,105].

TLRs экспрессируются многими клетками органов и тканей, включая эпителий слизистых оболочек, миоциты сердца, эндотелий сосудов, кератиноциты, клетки микроглии, астроциты, нейроны и др., наибольшее количество TLR выявлено на клетках гемopoэтического происхождения (макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки) [35,40,66,82,94,113]. Наличие толл-подобных рецепторов генетически обусловлено и в небольших количествах они присутствуют на клетках уже при рождении человека [67]. По мере контакта с микроорганизмами численность TLR увеличивается. Клетки организма в зависимости от экспрессии на них толл-белков могут пребывать в активном и неактивном состоянии [66,69,99]. Количество одновременно экспрессируемых TLR и их комбинация специфичны для каждого вида клеток.

В клетке TLRs могут располагаться на цитоплазматической мембране (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10) и на мембранах внутриклеточных органелл (TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9) – лизосом, эндосом, аппарата Гольджи. Лигандами рецепторов, находящихся на цитоплазматической мембране, служат поверхностные структуры микроорганизмов, такие как липопротеин, флагеллин, липополисахариды, зимозан [3,4,37,113]. TLR, расположенные на мембранах внутриклеточных органелл, взаимодействуют с ядерными молекулярными структурами микроорганизмов, но могут активироваться и модифицированными молекулярными структурами собственного организма. Некоторые TLRs могут локализоваться как интра-, так и экстрацеллюлярно (TLR4, TLR11, TLR12, и TLR13). Экспрессия TLRs на клетках органов и систем обеспечивает их регуляторную функцию в поддержании гомеостаза. Например, при заживлении поврежденных тканей. В процессе онтогенеза индивидуума плотность TLR на поверхности клеток увеличивается. Однако на сегодняшний день не существует исследований, посвященных возрастным изменениям количества различных типов TLR [5,37,94,113].

По своей структуре TLR принадлежат семейству рецепторов IL –1 (IL –1R). Все TLRs сходны по строению и являются интегральными трансмембранными белками. Наружная (внеклеточная, экстрацеллюлярная)

часть молекулы представлена N-концевой областью аминокислотной последовательности из 19–25 повторяющихся участков, богатых лейцином (leucine-rich repeat -домен). Благодаря этому домену обеспечивается взаимодействие рецептора с паттерном. Структура экстрацеллюлярного домена третичная, что определяет специфичность связывания TLR с определенными PAMP. После поверхностной зоны следует переходный участок, или трансмембранный домен, обогащенный цистеином, который отвечает за прикрепление рецептора к мембране клетки. Внутренняя или дистальная часть рецептора представлена Toll-interleukin-1 receptor доменом, имеющего одинаковое строение с рецептором IL-1 β . TIR-домен ответственен за трансдукцию сигнала от активированного рецептора внутрь клетки [5,35,37,40,69,94,102,113].

1.1.2. Физиологическая роль toll-like рецепторов

В состоянии покоя TLRs не активны и находятся на мембране в мономерном состоянии. При взаимодействии с теми или иными лигандами они димеризуются с последующей передачей сигнала внутрь клетки. Большая часть толл-подобных рецепторов образует гомодимеры, за исключением TLR2, который образует гетеродимеры с TLR1 и TLR6 в зависимости от лигандов [44,45,54,64,73,113]. Активность отдельных толл-подобных рецепторов может быть также обусловлена корецептором. Например, для распознавания бактериального липополисахарида TLR4 требуется наличие MD-2, CD14 и липополисахарид-связывающего белка, способствующих взаимодействию данного рецептора с паттерном [108]. Вслед за активацией рецептора следует его взаимодействие в цитоплазме с TIR домен-содержащими адаптерными белками, разновидность которых зависит от типа рецептора и его сигнального пути. TIR-регион TLR является первичным звеном интрацеллюлярного механизма распространения сигнала и непосредственно после связывания эктодомена с лигандом претерпевает структурно-пространственные изменения, инициирующие внутриклеточные белок–белковые взаимодействия. Механизм

передачи сигнала возбуждения начинается с TIR–TIR взаимодействий TIR региона цитозольного домена TLR и TIR адаптерных молекул [5,37,60,82,99,102]. Различия структуры молекулярных адаптерных белков определяют путь передачи внутриклеточного сигнала TLR и обуславливают развитие адаптерзависимых дифференцированных реакций внутри клетки. Инициация MyD88 зависимого пути связана с взаимодействием цитозольной TIR-области TLR с адаптерной молекулой MyD88. Данное взаимодействие активирует дополнительные факторы, такие как IRAK; TRAF–6 и MAP–3, TGFβ-киназы (TAK1), TAK1–связывающего протеина 1 (TAB1) и TAB2. Возбуждение TLR1, TLR2, TLR6 также индуцирует PI3-киназу. После взаимодействия с TIR-областью цитозольного домена TLR протеиновый адаптер MyD88 определяет последовательное фосфорилирование IRAK–4 и IRAK–1. Следует отметить, что люди, имеющие наследственный дефицит IRAK–4, характеризуются отсутствием реакции на возбуждение TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR9 [60,64,113]. Активация IRAK–4 приводит к гиперфосфорилированию IRAK–1 и обуславливает взаимодействие комплекса IRAK1/IRAK4 с дополнительным фактором TRAF–6. В результате происходят конформационные изменения киназного комплекса, которые разрывают его межмолекулярную связь с рецептором TLR. Отсоединившийся комплекс IRAK–4/IRAK–1/TRAF6 отдалается от TLR по внутренней поверхности мембраны клетки и взаимодействует с другим предсформированным мембранным комплексом, который состоит из TAK–1, TAB1, TAB2. Фосфорилированные TAK–1 и TAB–2 совместно с TAB–1 и TRAF–6 единой ассоциацией, оторвавшись от внутренней поверхности мембраны, погружаются в глубину цитоплазмы клетки. Цитоплазматически расположенная, активная киназа TAK1 фосфорилирует ингибиторную субъединицу ИКК, который приобретает активную димерную форму ИКК α /ИКК β . Возбужденная ИКК фосфорилирует ингибиторные ИкВ-белки, освобождая ядерные факторы транскрипции NF–кВ от их ингибирующего влияния, которые в последующем активируют транскрипцию генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов,

адгезивных и костимулирующих молекул, активирующих структуры адаптивного иммунитета [5,40,60,69,94,98,103,107].

Активация факторов транскрипции IRF-3 и IRF-7 при участии TRAM и TRIF объясняет наличие выраженной экспрессии β -интерферона при возбуждении TLR3, умеренной экспрессии β -интерферона при активации TLR4 и отсутствие продукции этого цитокина при возбуждении TLR2 [35,37,38,40,94].

Таким образом, толл-подобные рецепторы играют важную роль в организме, которая заключается в развитии воспалительных реакций в ответ на внедрение различных патогенов. Более того, распознавание патогенов toll-like рецепторами является главным моментом в развитии адаптивного иммунитета как второй линии защиты. Toll-подобные рецепторы также участвуют в поддержании тканевого гомеостаза.

1.1.3. Строение и функции отдельных toll-like рецепторов

TLR2 (толл-рецептор 2, CD282) локализуется в мембране клетки и после связывания с лигандом запускает каскад реакций, результатом которых является активация транскрипции провоспалительных интерлейкинов [19]. Доказано, что TLR2/TLR1 являются преобладающими рецепторами в клетках человеческого организма. TLR2 также распознает различные эндогенные лиганды, в том числе Hsp70, уровень которого повышается после I/R повреждения и, возможно, играет определенную роль при активации TLR2 в ишемических тканях. Примеры повреждающего действия ишемии/реперфузии включают гипоксию, инсульт, инфаркт миокарда [58]. Для распознавания более широкого спектра лигандов TLR2 образует гетеродимеры с TLR1 и TLR6, что имеет немаловажное значение для сигналинга TLR2 [60,107]. Сигнальный путь для TLR2 определяется адаптерным белком MyD88, активирующего транскрипционный ядерный фактор NF- κ B. Активация этого фактора приводит к усилению синтеза провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF - α); перемещению иммунных клеток к месту воспаления

вследствие повышения продукции хемокинов; увеличению выработки антиапоптотических факторов [82,113].

TLR3 (толл-подобный рецептор 3, CD 283) является интегральным мембранным белком, состоящим из 904 аминокислот. TLR3 располагается на внешней цитоплазматической мембране клетки и в эндосомальной мембране. Рецептор отвечает на проникновение вирусной РНК, которая попадает внутрь клетки в процессе эндоцитоза. Двухцепочечная РНК самой клетки находится в цитоплазме и в силу своей локализации не попадает в зону действия TLR3. Однако при повреждении соседних клеток и высвобождении РНК, последняя может связаться с TLR3, вызывая неблагоприятные реакции организма. Основная роль этого рецептора заключается в противовирусной защите организма. TLR3 действует через MyD88-независимый путь.

TLR4 (толл-подобный рецептор 4, CD284) может экспрессироваться и внутриклеточно, и экстрацеллюлярно. Он запускает иммунный ответ организма через MyD88-независимый путь, осуществляющийся благодаря наличию адаптерного белка TRIF. Посредством внеклеточного домена реализуется взаимодействие рецептора с лигандом [5,60,64,113].

TLR6 (толл-подобный рецептор 6, CD 286) обнаружен на эндотелии капилляров, на мембранной поверхности моноцитов, нейтрофилов и других клеток. TLR6 распознает молекулярные паттерны грамположительных бактерий и грибов и активирует факторы транскрипции NF- κ B [5,35,40,54,94,99,113]. Трансдукция сигнала и активация NF- κ B происходит как у TLR2 посредством адаптерного белка MyD88 и TRAF6. В результате этого процесса продуцируются ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF- α , которые инициируют воспалительную реакцию. Транскрипционный фактор NF- κ B является главным антиапоптотическим фактором, который способствует экспрессии генов антиапоптотических белков (IAP, Bcl-2, Bcl-x и др.). Наличие данных белков повышает устойчивость клеток к разнообразным стрессовым воздействиям, вырабатываемым в процессе воспаления [113].

TLR9 (толл-подобный рецептор 9, CD 289) находится на эндоплазматическом ретикулуме внутри клеток. После стимуляции рецептор перемещается в эндосомы [82,102]. TLR9 взаимодействует в основном с вирус-ассоциированными структурами – нуклеиновыми кислотами. Передача сигналов от TLR9 активирует фактор IRF-5, IRF-7, NF- κ B, что стимулирует экспрессию ИНФ- α [35,40,60]. TLR9 участвует в распознавание неметилированных CpG-мотивов бактериальной ДНК, что было продемонстрировано в исследованиях на мышах и линиях клеток с дефектным TLR9, у которых отмечались все CpG-индуцируемые эффекты (продукция цитокинов, костимулирующих молекул, пролиферация лимфоцитов) [19].

1.1.4. Участие толл-рецепторов в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний

TLR являются важной составляющей частью врожденного иммунитета, которой отводится первостепенная роль в распознавании чужеродных агентов и запуске иммунной реакции. Распознавание каждого отдельно взятого антигена невозможно, поскольку существует бесконечное множество антигенных структур. Поэтому стратегией toll-like рецепторов является распознавание сходных молекулярных фрагментов, имеющих у различных патогенов [5,17,72,95]. Широкий спектр лигандов для данных рецепторов, в число которых входят не только инфекционные агенты, но и эндогенные паттерны, делает возможным участие TLR в патогенезе как инфекционных, так и неинфекционных заболеваний. Механизм инициации иммунного ответа при тех и других заболеваниях идентичный, и его следствием являются фагоцитоз и запуск продукции клетками молекул, способствующих элиминации патогена [74]. Распознавание агента ведет к активации тканевых макрофагов, которые синтезируют IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , увеличивающие проницаемость сосудистой стенки. В раннем воспалительном ответе также участвуют дендритные клетки, тучные клетки, система комплемента, система свертывания крови, которые вносят свой вклад в элиминацию патогенов. Если в результате

раннего воспалительного ответа происходит успешное выведение патогенов, то он является «острым», и тогда повреждение тканей ограничивается участком очага инфекции. В противном случае продолжается стимуляция макрофагов с увеличением уровня цитокинов не только в очаге инфекции, но и в крови. В сравнении с PRR, у рецепторов адаптивного иммунитета (Т-клеточные рецепторы и антитела) отсутствует способность различать «свое» и «чужое», но могут распознавать «специфический» антиген, запускающий этот иммунный ответ [97]. На сегодняшний день в иммунологии сформирована догма о взаимной положительной регуляции врожденного и приобретенного иммунитета. Это выражается в том, что активированные посредством PRR клетки системы врожденного иммунитета в процессе презентации антигена активируют Т-лимфоциты и инициируют формирование приобретенного иммунитета. С другой стороны, в эффекторной фазе адаптивного иммунного ответа Th1 активируют клетки врожденного иммунитета, которые реализуют защитные реакции. Вместе с тем в источниках литературы накопились данные и о негативной двусторонней регуляции систем врожденного и приобретенного иммунитета. Выдвинута концепция о том, что активация ДК провоспалительными инерлейкинами в отсутствие инфекционных агентов стимулирует другие формы иммунного ответа, которая согласуется с найденной ранее обратной зависимостью заболеваемости аллергией и аутоиммунной патологией с частотой инфекций («гигиеническая гипотеза») [97,144]. Сигнал от PRR является необходимым и для формирования иммунологической памяти. Была продемонстрирована активация В-лимфоцитов, опосредованная TLR при вторичном иммунном ответе. Сигналами от PRRs регулируется накопление клеток-эффекторов и клеток памяти [97].

Таким образом, участие toll-like рецепторов в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний является обязательным, т.к. они первыми встречаются на пути паттернов и определяют ход дальнейшей иммунной реакции. Являясь структурами врожденного иммунитета, они опосредуют

активацию адаптивного иммунитета, образуя единую интегрированную сбалансированную систему защиты от чужеродных агентов.

1.2. Генетический полиморфизм толл-подобных рецепторов

1.2.1. Генетический полиморфизм TLR в патогенезе инфекционных заболеваний

Полиморфизм генов подразумевает копирование с одного и того же гена несколько вариантов одного и того же белка, которые отличаются друг от друга структурой. При этом часть копий либо не наделена активностью, либо может обладать противоположной функцией [20,85]. В частности, полиморфизм TLRs может проявляться нарушением распознавания микроорганизмов и как следствие дисбалансом функционирования системы врожденного иммунитета, что приводит к повышению чувствительности к инфекциям и развитию хронических воспалительных заболеваний [64,70,82,94,98,102]. Так, уменьшение активности толл-подобных рецепторов отражается на микробном биоценозе, при этом условно-патогенная микрофлора становится постоянной микрофлорой и в результате начинаются атипичные формы воспалительных процессов [27].

В настоящее время в литературе появилось достаточное количество данных, свидетельствующих о зависимости возникновения и характера протекания инфекционного заболевания от полиморфизма тех или иных toll-like рецепторов. Среди полиморфизмов, которые влияют на структуру и функции TLRs, имеют значение однонуклеотидные замены в областях, ответственных за формирование внешнего и внутреннего домена. Изменение структуры и функции доменов может способствовать изменению трансдукции сигнала от рецептора внутрь клетки.

Ген TLR2 (CD 282, толл-подобный рецептор 2) локализован на хромосоме 4q32 и кодирует белок, состоящий из 784 аминокислотных остатка. Полиморфный вариант TLR2 Arg753Gln, расположенный в районе внутреннего домена толл-подобного рецептора, ассоциирован с возникновением

инфекционных процессов. Именно Arg/Arg-генотип связан с развитием воспалительного ответа при некоторых заболеваниях [99]. У исследуемых, имеющих замену нуклеотида *C* на нуклеотид *T* в позиции 2029 гена *TLR2*, приводящую к изменению функции этого рецептора, была отмечена высокая восприимчивость к возбудителю лепры с развитием лепроматозной формы заболевания [37]. В другом исследовании замечено, что полиморфизм *TLR2R753Q* связан с увеличением риска возникновения инфекционного эндокардита [179]. В литературе описаны случаи мутации гена *TLR2* (Arg32Gln), связанные с рецидивирующими инфекциями респираторного тракта у детей, а полиморфный вариант *TLR2* (Arg753Gln) ассоциирован со стафилококковым сепсисом [98]. J. Kim и соавт. В своих экспериментах *in vitro* [37] обнаружили активацию *TLR2* на макрофагах кожи, спровоцированную *P. Acnes*, которая сопровождалась повышением синтеза IL-12, IL-8 и увеличением количества экспрессированного *TLR2* на мембране макрофагов, локализованных вокруг волосяных фолликулов.

Ген *TLR3* локализуется на хромосоме 4q35 [26]. Изучена генетическая предрасположенность к нарушению колонизационной резистентности слизистой оболочки толстого кишечника, обусловленная полиморфизмом *TLR3* (Phe412Leu). По данным этого исследования, мутация *TLR3* (Phe412Leu) встречалась у 38,8% больных, большая часть носителей оказалась гетерозиготной. Полная мутация *TLR3* (Leu/Leu) выявлена только у 6,1 % пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [26]. В 2007 г. был выявлен новый генетический дефект: аутосомно-доминантный дефицит *TLR3*. Эта мутация предрасполагала к появлению изолированного герпетического энцефалита, хотя клинически все пациенты с дефицитом *TLR3* казались здоровыми без видимого иммунодефицита и без повышенной восприимчивости к другим инфекционным агентам [37]. Полиморфный маркер Phe412Leu *TLR3* у детей с хроническим гепатитом В и С был ассоциирован со снижением адаптивного иммунитета, в частности уменьшением численности CD3-лимфоцитов, повышение продукции IL-1 β , IL-6, IgG и IgA и снижением

уровня виремии HBV и HCV, что может привести к длительному торпидному течению заболевания и отсутствием выведения возбудителя и активацией аутоагрессивных реакций [76]. При молекулярно-генетическом анализе распределения полиморфизма Phe412Leu промоторной области *TLR3* у пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом значимых отличий в сравнении с контрольной группой обнаружено не было [55]. При изучении опухолей, ассоциированных с вирусом Эпштейн – Барра, который распознается *TLR3*, отмечена экспрессия этого рецептора при лимфоме Беркитта, карциноме желудка и носоглотки. Экспрессия *TLR3* и ее значение для роста опухоли исследовалось при использовании различных клеток меланомы. Выявлено, что клетки многих линий первичных опухолей и нормальные меланоциты экспрессировали *TLR3*. Использование синтетического аналога dsRNA и лиганда *TLR3* оказывало выраженное проапоптотическое действие. Отмечено также, что *TLR3* является эффективным индуктором внутриклеточных антимикробных субстанций, которые могут проявлять себя как адъюванты, и поэтому *TLR3* может быть охарактеризован как мультифункциональный адъювант, способный усиливать эффективность иммунотерапии [5].

Ген *TLR4* расположен на хромосоме 9q32–33. Одним из наиболее изученных вариантов полиморфизма *TLR4* является Asp299Gly, который тесно связан с развитием гематогенного остеомиелита и системного кандидоза [94]. Полиморфный вариант Asp299Gly гена *TLR4* является результатом однонуклеотидной замены A → G в положении +896 в экзоне 3, в результате которой аспарагиновая кислота заменяется на глицин в 299 положении полипептидной цепи экстрацеллюлярного домена рецептора. Изучено, что маркер –299Gly гена *TLR4* связан с низким иммунным ответом на ЛПС бактерий как результат уменьшения экспрессии *TLR4* на клетках с последующим прекращением взаимодействия *TLR4* с ЛПС. В другом исследовании отметили, что данный полиморфизм несет ответственность за подавление проведения сигнала рецептором внутрь клетки и снижением воспалительной реакции на грамотрицательные бактерии [26]. SNPTLR4

Asp299Gly связана с восприимчивостью к сепсису и малярии [40]. При исследовании полиморфизма гена *TLR4* (Asp299Gly) среди пациентов с хроническим гепатитом С продемонстрирована взаимосвязь данного полиморфного варианта с более тяжелым течением ХГС, а также низкой эффективностью лечения ХГС в обеих группах пациентов [28]. Исследован феномен эндогенного ауторозеткообразования в крови при ОРВИ у детей – носителей полиморфизма Asp299Gly гена *TLR4*. Оказалось, что у больных детей, отягощенных мутациями *TLR4*, клеточные ассоциации значительно выражены, нежели у больных детей, не имеющих точечные дефекты в гене рецептора [96]. Полиморфизм *TLR4* (rs 11536889) ассоциирован с возникновением сепсиса в китайской популяции [110]. Asp299Gly *TLR4* изучался у детей с хроническим пиелонефритом. По результатам этого исследования сделан вывод, что изучаемый полиморфизм является маркером высокого риска ранней манифестации хронического воспалительного процесса в интерстиции почек с длительным и рецидивирующим течением заболевания у детей [53].

Ген *TLR6* кортирован на хромосоме 4p13, имеет один экзон и кодирует белок длиной в 796 аминокислот [19]. Полиморфизм гена *TLR6* (Ser249Pro) был изучен у детей, больных острой респираторной вирусной инфекцией. В результате данного исследования было выявлено, что мутация в гене *TLR6* способствует увеличению лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов при всех полиморфных вариантах по сравнению с контрольной группой [96]. Найдена ассоциация полиморфизма *TLR6* SNP rs5743827 с увеличением риска возникновения уреоплазменной инфекции дыхательной системы и бронхолегочной дисплазии [165]. Среди пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом мутантные гомозиготы в позиции – 249 гена *TLR6* встречались у каждой третьей больной женщины. Носительство данной гомозиготы *TLR6* является предиктором данного заболевания, которое ассоциировано с рецидивированием и хронизацией воспаления в шейке матки [54].

Ген *TLR9* локализован на коротком плече 3 хромосомы в области 21.3. Ген представлен четырьмя экзонами и кодирует белок, состоящий из 1032 аминокислот. Для полиморфизма T –127C *TLR9* была найдена связь с повышенным риском возникновения малярии у бурундийских детей [129]. Данное исследование показало, что у больных детей – носителей C-аллеля *TLR9* (T–127C) наблюдался более высокая концентрация сывороточного γ -интерферона. Однако при исследовании африканской популяции связь полиморфизма гена *TLR9* с малярией не обнаружилась [118]. В некоторых работах аналогичный полиморфизм не был ассоциирован с заболеваниями. Так, например, в китайской популяции не выявлена связь полиморфного варианта *TLR9* (T–1237C) с остеоартритом, в то время как *SNPTLR9* (T–1486C) существенно связано с остеоартритом коленного сустава [158]. На модели герпетического кератита установлено, что вирус-индуцированная экспрессия *TLR9* связана с межлинейными различиями в строении гена *TLR9* у мышей [145]. Найдена связь полиморфизмов генов *TLR2*(Arg753Gln), *TLR9*(2848G/A) с риском развития внутриутробного инфицирования плода, преждевременных и срочных родов [17]. На сегодняшний день известно, что полиморфный вариант *TLR9* C2848T (rs352140) может влиять на клиническое течение ВИЧ–1-инфекции [115,158]. Kikuchi и соавт. выявили, что генотип 2848 TT*TLR9* был ассоциирован с более высокой экспрессией *TLR9* и увеличением концентрации IgM у больных первичным билиарным циррозом [134]. Более того, значение *TLR9* было исследовано при лечении рака шейки матки у мышей с помощью вакцины. Nasimi и соавт. (2007) обнаружили, что уровень экспрессии *TLR9* может увеличиваться при инфекционном заболевании шейки матки, вызванном ВПЧ16 [130,131,176]. Изучена роль полиморфизмов *TLR9* –1486 T/C (rs187084) и C2848T (rs352140) в возникновении рака шейки матки у польского населения. Данное исследование продемонстрировало, что полиморфизм *TLR9* –1486T/C (rs187084) повышает риск развития рака шейки матки [134]. Авторы статьи пришли к выводу, что повышенная экспрессия *TLR9* совместно с различными возбудителями инфекции может поддерживать воспалительный процесс и

способствовать развитию рака шейки матки [147,152]. В противоположность этому Pandey и соавт. [129] показали, что генотип Т/Т *TLR9* (rs352140) не влияет на риск возникновения рака шейки матки у населения Северной Индии. Эти различия в предрасположенности к развитию рака шейки матки между польским и индийским населением могут быть результатом расовой неоднородности и действия отдельных поведенческих и экологических факторов [152]. Рисковый аллель и патологический гомозиготный генотип *TLR9*(A2848/2848G) увеличивают риск возникновения хронических воспалительных заболеваний легких у людей зрелого возраста [78].

Знание роли полиморфизма генов TLR в патогенезе ряда заболеваний совместно с достижениями современной геномики, дает возможность прогнозировать риск развития и тяжесть течения конкретной патологии, а также позволяет назначить специфическую терапию, в том числе и средства иммунокоррекции для определенного больного [82,99,107,113].

1.2.2. Генетический полиморфизм TLR в патогенезе заболеваний неинфекционного происхождения

В настоящее время появляются сведения, показывающие, что полиморфизмы генов TLR за счет формирования специфических аллелей вносят значительный вклад в персональные особенности развития защитных реакций и склонность к целому ряду заболеваний [11,82]. В современном мире изучается участие толл-белков в развитии ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертонической болезни, которые относятся к факторам риска острого нарушения мозгового кровообращения. Гиперактивация этих рецепторов является важнейшим патогенетическим фактором воспалительных неинфекционных заболеваний [40,48,69,94,101,110].

Проведенные исследования продемонстрировали ассоциацию генетического полиморфизма *TLR2* с астмой и атопическим дерматитом. Так, было выявлено, что более 10% пациентов с атопическим дерматитом из Германии гетерозиготны по полиморфному варианту Arg753Gln *TLR2* [19].

Этот же полиморфизм был изучен на жителях Шанхая (Китай) больных сахарным диабетом и ишемической болезнью сердца. К удивлению исследователей, среди этих больных не встречались случаи носительства Gln-аллеля *TLR2*(Arg753Gln) [103]. Британские медики выяснили, что в атеросклеротических бляшках происходит синтез белка *TLR2*, что может вызывать воспаление стенки сосуда и как следствие привести к отрыву бляшек и тромбов при атеросклерозе [149]. В эксперименте на мышах было установлено, что у мышей с недостатком *TLR2* отмечается существенно более слабый воспалительный ответ, меньшая инфильтрация лейкоцитами, следовательно, более слабое повреждение клеток канальцев почек, чем у их сородичей дикого типа при ишемическом/реперфузионном повреждении. Более того, установлено, что *in vivo* инъекция *TLR2*-анти-мРНК также эффективно защищает от нарушения функции почек в результате I/R [58].

В настоящее время известно более 136 SNP *TLR3*, которые могут приводить к нарушению конфигурации, в результате которой изменяется функция кодируемых белков, проявляющаяся снижением их активности или инверсией характерных свойств. Установлено, что полиморфизмы Y307D и S737T гена *TLR3* не оказывают существенного влияния на стабильность белка, в то же время мутации L412F и N284I гена *TLR3* сопряжены с изменением структуры протеина или активности продукта гена [35,37,40,76,113]. Полиморфный сайт *TLR3*rs3775291 (замена лейцина – 412 фенилаланином) ассоциирован с хориоретинальной («географической») атрофией. Мутантный вариант *TLR3* снижает риск данной атрофии. Активация *TLR3* (более сильная в лейциновом варианте) индуцирует апоптоз клеток пигментного эпителия сетчатки, поэтому протективный эффект T-аллеля может быть связан с супрессией гибели клеток пигментного эпителия сетчатки [61].

Существуют работы, в которых полиморфизм *TLR4* (Asp299Gly) ассоциирован с бронхиальной астмой. Выявлено, что Gly-аллель гена *TLR4* (Asp299Gly) является маркером повышенного риска развития сахарного диабета 2 типа [90,105]. Некоторые источники литературы указывают на то, что

мутационное повреждение *TLR4* снижает риск развития атеросклероза. Другие источники указывают, что значимый вклад в процесс атерогенеза вносит аллель –299Gly гена *TLR4* [77,99,105,173]. SNP *TLR4* Asp299Gly ассоциирована с восприимчивостью к таким заболеваниям, как атеросклероз, язвенный колит [40]. Немало исследований посвящено изучению полиморфизмов данного рецептора при опухолях. Так, например, сравнительный анализ особенностей гена *TLR4* в клетках различных опухолей желудка привел к заключению, что функциональный полиморфизм этого гена может быть фактором риска развития карциномы желудка и предшествующих ей состояний. В опытах на мышцах с генетическими нарушениями (ослабление экспрессии *TLR4*) развитие рака кишечника существенно снижено. Сделан вывод, что нейтрализация сигналов, осуществляемых с помощью *TLR4*, может быть защитой от колитассоциированного рака [5]. Имеются данные и о том, что стимуляция *TLR2* и *TLR4* клеток жировой ткани обуславливает ее инсулинорезистентность и, в итоге, ожирение, сахарный диабет 2 типа, атеросклероз. Дефект *TLR4* у мышей снижает резистентность к ожирению [105].

Луц Хамман, Александр Кох и другие (2013 г.) изучили полиморфизм Ser249Pro гена *TLR6* у жителей Кавказа с ишемической болезнью сердца. Результаты исследования показали, что в группе больных Ser-аллель *TLR6* (Ser249Pro) встречался реже, чем у здоровых респондентов. У носителей Ser/Ser-генотипа уровень ИЛ–6 был низкий, что уменьшает интенсивность воспалительной реакции. Исследователи предположили, что дикий аллель *TLR6* препятствует развитию атеросклероза [149]. Некоторые исследования отметили, что *TLR6* в комплексе с *TLR4* при окислении липопротеидов низкой плотности опосредуют воспалительные реакции, что является фактором риска для атеросклероза. Ser-аллель *TLR6*(Ser249Pro) способствует уменьшению количества «функциональных карманов» в LRR- домене рецептора, в результате чего белок является менее доступным при связывании с лигандом. И наоборот, *Pro*-аллель способствует увеличению числа таких «карманов». Генотип Ser/Ser *TLR6*(Ser249Pro) уменьшает активацию фактора транскрипции

NF- κ B и синтез ИЛ-6, благодаря чему снижается риск развития атеросклероза [149]. Протективный эффект был обнаружен и для аллели 421Lys гена *TLR6*. Как оказалось, гомозиготный генотип этого аллеля уменьшает риск атеросклероза на 40% [99]. SNP *TLR6* (Ser249Pro) изучался у больных бронхиальной астмой среди американского населения. Рисковый аллель данного полиморфизма ассоциировался с увеличением риска развития бронхиальной астмы [170]. В источниках литературы появились доказательства того, что экспрессия TLRs осуществляется опухолевыми клетками, в том числе и раковыми клетками молочной железы. Так, например, в сравнении с контрольной группой у больных раком молочной железы в Забайкальском крае отмечено частое носительство генотипа *TLR6* –249Pro/Pro и аллеля –249Pro*TLR6* с увеличением риска развития заболевания до 5,5 раза ($p=0,0003$) [45,59].

Исследование полиморфизма rs5743836 *TLR9* показало его связь с астмой, а также с атопическим дерматитом у лиц немецкого происхождения [19]. В Омском регионе среди больных вульгарным псориазом чаще встречался аллель- A гена *TLR9* (A2848G), при этом наиболее часто выявлялся генотип- A/G *TLR9*. Носительство G-аллеля гена *TLR9* (A2848G) выявило связь со склонностью к экссудации кожных элементов при псориазе [37]. У жителей Китая больных сахарным диабетом 2 типа исследовались полиморфизм –1486T/C и –1237T/C *TLR9*. Результаты показали, что C-аллель *TLR9* –1237T/C не выявился в популяции, а полиморфный вариант –1486T/C *TLR9* не имел связи с сахарным диабетом 2 типа [103]. У жителей Республики Адыгея, страдающих ненаследственной формой бронхиальной астмы, изучался полиморфизм *TLR9* (A2848G). Результаты исследования показали, что G/G генотип был ассоциирован с данным заболеванием [138]. По итогам одной из работ было выявлено, что гетерозиготное состояние аллелей генов *TLR2* (Arg753Gln), *TLR4* (Asp299Gly) и *TLR9* (T –1237C) выявляется часто у пациенток с привычным невынашиванием беременности, что нарушает формирование вторичной иммунной реакции при беременности [69]. У

больных с атопической экземой исследовался полиморфный вариант С –1237Т, расположенный в промоторной области гена *TLR9*, который был в значительной степени связан с возникновением экземы [159].

Роль *TLR9* была рассмотрена при применении противоопухолевой терапии у животных, у пациентов с почечной карциномой, циррозом печени и неходжкинской лимфомой [118,135,153,154,163]. На сегодняшний день известно, что полиморфный вариант гена *TLR9* С2848Т (rs352140) ассоциирован с лимфомой Ходжкина, системной красной эритемой [154], развитием рака эндометрия [115].

1.2.3. Толл-подобные рецепторы в патогенезе заболеваний головного мозга

В центральной нервной системе TLRs располагаются на астроцитах, олигодендроцитах и нейронах [172,174]. В настоящее время проведено немало исследований, посвященных участию толл-подобных рецепторов в патогенезе некоторых заболеваний головного мозга и заболеваний, сопровождающихся повреждением ЦНС. К ним относятся рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и некоторые другие [65,119,125,141,160,174].

Исследователи университета Гетеборг (Швеция) установили, что toll-like рецепторы врожденной иммунной системы играют главную роль в состоянии головного мозга у новорожденных. Наличие инфекционного агента в крови младенцев или гипоксия могут привести к воспалительным процессам в головном мозге, вызывая его повреждение. Поддержанию воспалительной реакции способствуют глиальные клетки, экспрессирующие *TLR4*. Подобные процессы часто встречаются у недоношенных детей, что может привести к возникновению неврологических заболеваний, таких как церебральный паралич, эпилепсия. Для проведения своих исследований ученые использовали мышей с целью моделирования травм головного мозга, наблюдающихся у новорожденных. Они выявили, что при гипоксии плода TLR способствуют повреждению головного мозга. Наличие инфекции активирует эти рецепторы,

что делает мозг еще более чувствительным к гипоксии, усугубляя имеющиеся повреждения головного мозга. Исследователи также обнаружили, что блокировка передачи сигналов от toll-like рецепторов снижает степень повреждения головного мозга. Ранее ими была установлена связь данных рецепторов с возникновением инсультов у взрослых [161].

В университете штата Мэриленд доктором Laure Aurelian было исследовано влияние алкоголя на ГАМК рецепторы и TLR4. Была установлена четкая связь между toll-подобными рецепторами и развитием зависимости от спиртного. Ученые вводили в организм крыс вещество, связывающееся с рецепторами аналогично алкоголю. Оно вызывало чувство спокойствия и устраняло тягу к спиртному. Данный эксперимент показал, что воздействие на ГАМК-рецепторы и TLR4 уменьшает тревожность и алкогольную зависимость [122].

В одной из экспериментальных работ установлено, что структурно измененный белок–синуклеин способен чрезмерно активировать toll-like рецепторы, в результате чего возникает длительное хроническое воспаление, приводящее к серьезным поражениям клеток головного мозга. Исследователи обнаружили, что существует особое вещество –CU–CPT22 – низкомолекулярное соединение, которое может воздействовать именно на toll-подобные рецепторы иммунных клеток путем их блокировки, в связи с чем воспалительный процесс заметно уменьшается. Кроме того, ученым удалось выявить, что препарат, снижающий артериальное давление, оказывает подобный медицинский эффект, т.к. способен инактивировать TLR2 [169].

Группа ученых из университета Аделаиды (Австралия) под руководством доктора Марка Хатчинсона в ходе исследований выяснила, что опиоиды могут связываться с TLR4. Именно связь опиоиды – TLR4 поддерживает и усиливает наркотическую зависимость. Блокировка этой связи полностью избавляет от наркозависимости [151].

Установлено клиническое значение активации экспрессии TLR4 на моноцитах периферической крови в патогенезе ишемического инсульта, что

проявляется увеличением уровня экспрессии TLR4 на поверхности моноцитов у больных с атеротромботическим ишемическим инсультом, а также его корреляцией со степенью тяжести в остром периоде заболевания ($r=0,79$; $p \leq 0,03$) [107].

Доказано, что передача сигнала от TLR влияет на тяжесть аутоиммунного процесса в ЦНС [162]. Так, к примеру, в одном из исследований было выявлено повышение экспрессии TLR2 и TLR4 у больных рассеянным склерозом и у грызунов с экспериментальным аллергическим энцефалитом (модель рассеянного склероза) [155]. При аутоиммунных заболеваниях, в частности при рассеянном склерозе, наблюдается измененное функционирование TLR. При ЭАЭ активация TLR2, TLR4, TLR7 и TLR9 способствует развитию воспаления, в то время как активация TLR3 предупреждает возникновение заболевания [121,171]. Это позволило предположить, что TLR4 и TLR9 регулируют тяжесть течения заболевания [181]. Сигнальная система TLR2 запускает ранний глиальный ответ при повреждении нервной ткани, участвуя в развитии воспалительного процесса [180]. Активация TLR2, в результате которой синтезируется ИФН- β , индуцирует апоптоз микроглии. Участие TLR4 в апоптозе микроглии заключается в аутокринной/паракринной продукции ИФН- β , который действует как апоптотический сенсibiliзирующий фактор [175,64].

Значение TLR изучалось при болезни Альцгеймера. Был проведен эксперимент, в котором осуществлялась стимуляция врожденного иммунитета через TLR9 за счет воздействия CpG-олигодезоксинуклеотидов (CpG-ОДН) на Tg2576 AD модели у мышей. Это воздействие позволило снизить количество амилоида в головном мозге на 66% и на 80% в сосудах по сравнению с мышами, к которым не применялась вакцинация. Предполагается, что стимуляция сигнала TLR9 за счет прививки CpG -ОДН приводит к сокращению числа защитных иммунных ответов в ЦНС и вызывает тем самым повышение уровня активности иммунных клеток и к их усиленному притоку в мозг, сопровождаемому выведением амилоида [140]. В других литературных источниках указывается, что ген *TLR4* не ассоциирован с болезнью

Альцгеймера на уровне отдельного маркера. Однако он входит в значимую комбинацию эпистатически взаимодействующих локусов. Вероятно, TLR4 задействован в различных регуляторных процессах, вовлеченных в патогенез заболевания [75].

1.3. Патогенетические механизмы ишемического инсульта

Инсульт представляет собой острое нарушение мозгового кровообращения с быстрым возникновением (в течение минут, реже часов) очаговой неврологической симптоматики и/или общемозговых нарушений, регистрирующихся более суток или приводящих к смерти за короткий промежуток времени в результате причин цереброваскулярного генеза [92,106].

К факторам риска возникновения инсульта относят пожилой возраст, пол, наследственную предрасположенность, сахарный диабет, курение, алкоголь, ожирение, недостаточную физическую нагрузку, нерациональное питание, атеросклероз и гипертоническую болезнь [2,13,120]. Определенное значение имеет посттравматическое расслоение позвоночных артерий, деформация артерий с нарушениями их проходимости, внесосудистая компрессия при заболеваниях позвоночного столба или мышц шеи [52]. Особую роль среди причин инсульта играют гемореологические изменения крови (повышение гематокрита, вязкость, увеличение концентрации фибриногена, гиперагрегация тромбоцитов) [40,91]. Сосудистая система мозга обладает достаточно развитой системой артериальных анастомозов, расположенных между внутримозговыми артериями и внемозговыми сосудами головы и шеи, что позволяет гемодинамике функционально адаптироваться к потребностям мозговой ткани, уязвимой к ишемии. В случае закупорок и стенозирования магистральных артерий головы у больных атеросклерозом немаловажную роль играет сохранность функций коллатеральных систем [42,62,116]. При наличии сочетанной патологии магистральных сосудов головы, внешних и внутренних мозговых артерий у пациентов с атеросклерозом возникают изменения реологических свойств крови как в макро-, и микроциркуляторном русле [36,62,89,91,137,150].

В физиологических условиях, оптимальный объем мозгового кровотока находится в пределах 55–60 мл/100г/мин., при котором головной мозг обеспечивается необходимой энергией в результате окисления глюкозы и синтеза АТФ[40]. Главным моментом в патогенезе ишемического инсульта является локальная ишемия мозга, наступающая при снижении мозгового кровотока ниже 18–22 мл на 100 г/мин. (функциональный порог) [22,62]. От глубины и длительности снижения церебральной перфузии зависит степень повреждающего действия ишемии. При снижении мозгового кровотока менее 55 мл/100 г/мин. возникает первичная реакция, для которой характерно торможение продукции белков в нервных клетках – это маргинальная зона ишемии. Снижение мозгового кровотока ниже 35 мл /100 г/мин. индуцирует анаэробный путь гликолиза. Формируется зона динамических метаболических изменений (зона «ишемической полутени» – пенумбра), где в структурах головного мозга наблюдаются только функциональные изменения. Время существования пенумбры 3–6 часов от момента появления первых клинических симптомов ишемии мозга. Это временные границы так называемого «терапевтического окна» – периода, в течение которого лечебные мероприятия наиболее эффективны и способны ограничить объем инфаркта. Окончательное формирование инфаркта завершается через 48–56 часов. Снижение мозговой перфузии ниже 20 мл на 100 г/мин. ведет к формированию «ядра» ишемии (центральная зона инфаркта) в течение 6–8 минут. На этом этапе наступают необратимые нарушения энергетического обмена с развитием некроза ткани головного мозга. Ишемия головного мозга влечет за собой «патобиохимический каскад» или «ишемический каскад», в котором выделяют несколько этапов: снижение мозгового кровотока; глутаматная «эксайтотоксичность»; внутриклеточное накопление кальция; активация внутриклеточных ферментов; повышение синтеза NO и развитие оксидантного стресса; экспрессия генов раннего реагирования; отдаленные последствия ишемии (реакция местного воспаления, микроваскулярные нарушения, повреждение ГЭБ); апоптоз [24,25].

Гипоксия, возникающая при ишемии, полностью блокирует окислительно-восстановительные процессы в дыхательной цепи, что приводит к снижению синтеза АТФ. При неадекватном поступлении кислорода к тканям снижается скорость движения электронов по цепи передатчиков [4,17]. В результате недостатка аэробного окисления активируется гликолиз и как следствие гиперпродукция молочной кислоты. Избыточное накопление H^+ способствует повышению уровня недоокисленных продуктов, выделенных в результате углеводного и липидного обмена, гидролизу АТФ и других макроэргов после восстановления НАД и НАДФ до НАД•Н и НАДФ•Н. Ацидоз в свою очередь угнетает метаболизм и транспорт ионов, увеличивает концентрацию свободных ионов Ca^{2+} в клетках, приводит к клеточному отеку, оказывает цитотоксическое действие, изменяя физико-химические свойства мембран нейронов и эндотелия сосудов. Помимо этого, высокая концентрация H^+ ингибирует ключевые ферменты гликолиза, в том числе глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, следствием чего является необратимый энергетический дефицит. Резкое снижение рН крови в раннем постишемическом периоде является неблагоприятным прогностическим признаком [62,83,114,127]. Одним из важных факторов, вызывающих повреждение мозга при ишемии, выделяют оксидантный стресс. Он представляет собой универсальный механизм повреждения тканей организма посредством свободных радикалов и других субстанций с высоким окислительным потенциалом. Однако степень насыщения тканей кислородом, несмотря на выраженную ишемию остается высокой [33,34,132]. В результате действия свободных радикалов происходит повреждение митохондрий, снижается концентрация макроэргических соединений и накапливается АМФ, активирующий протеинкиназную систему, что усугубляет процессы деструкции мембран клеток. Интенсивность метаболизма и недостаточность антиоксидантной системы в мозге определяют скорость развития и выраженность оксидантного стресса в головном мозге [9,43,62,133,166]. В настоящее время большое значение в патогенезе ишемического повреждения головного мозга придают теории глутамат-

кальциевой эксайтотоксичности. Глутамат играет ведущую роль в системе возбуждающих аминокислот. Являясь медиатором, он обеспечивает ответы нейрона на действие различных факторов. Важнейшим моментом в патогенезе церебральной ишемии следует считать изменение внеклеточной концентрации глутамата в результате аноксической деполяризации мембраны нейрона. Выброс глутамата активирует кальциевые каналы и увеличивает содержание Ca^{2+} внутри клеток, индуцирует синтез фосфолипаз, протеинкиназ, эндонуклеаз и приводит к апоптозу нейрона [4,22,25,62,168].

Иммунные и воспалительные реакции, инициированные ишемией, относятся к значимым патологическим феноменам, способных вызвать деструктивные изменения мозговой ткани [78,128]. Сложная многокомпонентная организация иммунной системы и многообразие уровней регуляции позволяют рассматривать её как высокоорганизованную систему, со специальными механизмами управления, с внутрисистемной и межсистемной регуляцией. Роль иммунного ответа при ишемии мозга двойка. С одной стороны, иммунный ответ направлен на удаление некротизированной ткани, а с другой – отягощает течение ишемического инсульта, увеличивая область инфаркта [29,51].

1.3.1. Роль воспаления в патогенезе ишемического инсульта

На сегодняшний день в источниках литературы есть немало работ, изучивших роль иммунновоспалительных процессов в патогенезе церебрального инсульта. Многие исследования посвящены динамическому изменению синтеза провоспалительных цитокинов иммунокомпетентными (Т-клетки, макрофаги, микроглия) и неиммунокомпетентными (нейроны, астроциты) клетками головного мозга, стимулирующих зрелые Т- и В-лимфоциты, которые опосредуют развитие воспалительных процессов, и противовоспалительных цитокинов, повышающих выживаемость нейронов и уменьшающих процессы постишемического повреждения [146,177,182]. Многочисленные экспериментальные исследования убедительно продемонстрировали, что важное место при вторичном повреждении ткани

мозга и «доформировании» инфаркта при ОНМК отводится локальному воспалению в области очага ишемии, поддерживаемого активированной микроглией [47,57]. При легкой или кратковременной фокальной ишемии вслед за первичным повреждением отдельных нейронов развивается их вторичное поражение в результате агрессивного воздействия периинфарктной зоны клеток глии, активированных ишемией. Именно активированная микроглия дает начало локальной воспаленной реакции в области очага ишемии, которая является одним из механизмов вторичного повреждения ткани головного мозга [125]. Даже незначительное повышение содержания провоспалительных цитокинов стимулирует прогрессирование атерогенеза и развитие хронической ишемии мозга с дальнейшим формированием обширных некротизированных очагов, что приводит к отсроченным нейрональным потерям. В то же время глия является системой трофического обеспечения нервной системы и в условиях ОЦИ индуцирует синтез не только нейротоксических веществ, но и ряда защитных факторов, способствующих выживаемости нейронов и уменьшающих процессы рубцевания в следствие ишемии [21,30,57,84]. Вещества, обуславливающие в очаге ишемии как повреждение, так и систему обеспечения жизнеспособности клеток, относятся к цитокинам. В мозге цитокины представлены невральным и глиальным компартаментами, а также содержатся в дискретных сетях. Их действие может быть аутокринным (способствуют дальнейшей пролиферации моноцитов) и паракринным (воздействуют на нейроны и эндотелии). Посредством специфических рецепторов, цитокины активируют системы вторичных внутриклеточных мессенджеров, в числе которых протеинкиназы и фосфатазы [6,7,8,12,40,136,139,143].

Интерлейкин-1 (ИЛ-1) – медиатор острого и хронического воспаления. Обеспечивает хемотаксис лейкоцитов и макрофагов; стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток; способствует пролиферации и дифференцировки В-клеток; запускает образование факторов роста и дифференцировки клеток миелоидной и лимфоидной ткани [66,104]. Синтез

белков семейства IL-1 начинается в ответ на ишемию и/или гипоксию клеток ЦНС и обеспечивает развитие и выраженность острофазного ответа [10]. Спустя несколько минут от начала ишемии экспрессируются гены IL-1, запускаются последовательные этапы образования мРНК, внутриклеточного протеина и синтеза IL-1 в окружающие ткани. IL-1 α вырабатывается изначально в активной форме, свое действие оказывает в основном в виде внутриклеточного регулятора и мембранной формы с периодом жизни 15 часов. В основном секретлируемой формой IL-1 является IL-1 β , который активен 2,5 часа [16,40]. ИЛ-1 α исследовался в 1-е сутки инсульта, где отмечилось повышение его уровня в сыворотке крови. Мониторинг содержания ИЛ-1 α у больных ИИ показал статистически значимое его снижение в сыворотке крови к 10-м и 21-м суткам [30,32]. Эксперименты доказали, что в условиях глобальной или фокальной ишемии прослеживается корреляция между увеличением концентрации IL-1 β и степенью окончательных нейрональных потерь. Прогрессирование повреждения зоны пенумбры происходит не только при повышении уровня провоспалительных цитокинов, но при недостатке нейротрофических и противовоспалительных факторов [84].

В формировании постишемической воспалительной реакции сочетано с IL-1 участвует также и IL-6. Продукция ИЛ-1 α при ишемии мозга стимулирует астроциты, синтез других провоспалительных цитокинов, секрецию нейротоксичных веществ (оксида азота и метаболиты арахидоновой кислоты), в результате чего нарастает отек мозга [40,80,109,123,132,148].

ИЛ-6 является как воспалительным, так и противовоспалительным фактором [50,68]. Повышение концентрации ИЛ-6 в остром периоде ишемического инсульта взаимосвязано с обширным инфарктом мозга и неблагоприятным исходом заболевания, а также ассоциируется с повторными эпизодами инсульта и летальностью больных с кардиогенным эмболическим инсультом в результате фибрилляций предсердий, не принимающих антикоагулянтную терапию [117,142,183]. Установлено, что уровень ИЛ-6 в первые 48 часов значимо выше в крови пациентов с большим размером очага

ИИ по сравнению с пациентами с небольшим очагом по данным компьютерной томографии, но связи с локализацией очага, количеством лейкоцитов, уровнем фибриногена и С-реактивного белка выявлено не было. Показана связь отрицательной динамики ИИ с высокой концентрацией ИЛ-6 вне зависимости от исходных размера, локализации и механизма ИИ. Другие исследования выявили более высокий уровень ИЛ-6 у пациентов с кортикальным инфарктом по сравнению с субкортикальным, включая лакунарный, и также подтвердили прямую зависимость концентрации ИЛ-6 от размера очага независимо от механизма ИИ [57,157]. Анализ показателей провоспалительной цитокиновой системы показал существенные их различия у больных с тяжелым ишемическим инсультом. Так, в одном из исследований у этих больных содержание ИЛ-1 α в сравнении с контрольной группой было снижено в 2,03 раза (на 50,95 %), а ИЛ-6 – в 6,89 раза (на 85,49 %). Уровень СРБ у больных ишемическим атеротромботическим инсультом был повышен на 144% (в 2,44 раза) [71]. Хорошо сбалансированные взаимодействия мозга и иммунной системы, характерные для нормального состояния, нарушаются при остром ишемическом инсульте. Одним из последствий такого нарушения регуляции является развитие воспаления в ткани мозга. Постишемический воспалительный ответ играет существенную роль в патогенезе ишемического инсульта, которая заключается в удалении некротизированной ткани из зоны ишемии, и в то же время он приводит к увеличению зоны ишемии и отягощает заболевание. Такое повреждение ЦНС, как инсульт, вызывает иммуносупрессию, которая приводит к нарушению регуляции церебро-иммунных взаимодействий [167]. Интерлейкины опосредуют системные реакции на мозговую сосудистую катастрофу. Так, подъем температуры, характерный для массивного ИИ, может быть обусловлен действием ИЛ-1 β , а генерализованная воспалительная реакция, отражаемая лейкоцитозом, повышением уровня С-реактивного белка и других острофазовых показателей, – группой провоспалительных ИЛ (ИЛ-1 β , ИЛ-6) и ФНО- α . Причем, уровень провоспалительных цитокинов отражает нарушения нейроиммунорегуляции и

входит в число факторов, которые позволяют охарактеризовать тяжесть и предположить исход заболевания [57,63,81].

1.3.3. Участие toll-like рецепторов в патогенезе ишемического инсульта

По мнению испанского исследователя David Brea López, ишемический инсульт индуцирует высвобождение продуктов распада клеток, связанных с высвобождением некоторых белков, таких как HSP60, HSP70, фибронектин CFn, которые выступают в роли эндогенных лигандов для толл-подобных рецепторов. Взаимодействие этих веществ с TLRs клеток периферической крови повышает степень экспрессии данных рецепторов. Ученый предположил, что размер инфаркта должен зависеть от уровня экспрессии TLR. Кроме того инфаркт мозга часто сопровождают оппортунистические инфекции, являющиеся источниками экзогенных лигандов для TLR. Оба типа лигандов взаимодействуют с TLR в микроглии и на астроцитах, что в свою очередь активирует фактор транскрипции NFκB и продукцию медиаторов воспаления, которые индуцируют экспрессию адгезивных молекул на эндотелиальных клетках, проникающих в паренхиму мозга и усугубляющих его повреждение. Лиганды, циркулирующие в крови людей с ишемическим инсультом, активируют клетки иммунной и сердечно-сосудистой системы, что усиливает воспалительную реакцию после инсульта. Автор диссертации допускает мысль о том, что уровень экспрессии TLRs на клетках периферической крови является маркером исхода заболевания. Блокада лигандов и TLRs может способствовать ослаблению воспалительной реакции [124].

1.3.4. Генетический полиморфизм толл-подобных рецепторов у больных ишемическим инсультом

В последнее время в источниках литературы появились данные нескольких исследований, посвященных изучению роли генетического

полиморфизма толл-белков в патогенезе церебральных инсультов [124,164,178]. Так, согласно исследованию корейских ученых, некоторые полиморфизмы в гене *TLR6* связаны с ишемическим инсультом в корейской популяции, более того два SNP *TLR6* (rs3821985 и rs3775073) коррелировали с тяжестью заболевания, три SNP (rs1039559, rs3821985 и rs3775073) показали ассоциацию с МВІ (индекс Бартела, оценивающий социальную адаптацию) [164].

В некоторых работах показана важная роль генетического полиморфизма rs3804099 и rs3804100 *TLR2* в постишемическом воспалительном ответе и ишемическом повреждении головного мозга [174]. Причем SNP (rs3804099) был связан с тяжестью инсульта [110]. Опыты с участием животных, также продемонстрировали значение TLRs в патогенезе церебральной ишемии. Мыши, не имеющие дефектов гена *TLR4*, имели меньшие размеры инфаркта мозга и показали лучшие результаты неврологических тестов, чем мыши с мутациями *TLR4*. Результаты исследований полиморфизмов гена *TLR2* являются спорными. Есть ряд работ, описывающих более высокие показатели смертности от инсульта у мышей, не имеющих мутации гена *TLR2*, в отличие от носителей минорной аллели. В других источниках указывают на противоположные результаты [112,126,156,172].

1.4. Заключение

Открытые сравнительно недавно толл-подобные рецепторы привлекли внимание ученых всего мира, поскольку проведенные многочисленные исследования доказали первостепенную роль этих белков в патогенезе как инфекционных, так и неинфекционных заболеваний.

На сегодняшний день достаточно работ посвящено изучению toll-like рецепторов и полиморфизма их генов при аутоиммунных, онкологических заболеваниях, туберкулезе легких, сепсисе, хроническом гепатите С, артритах, болезни Альцгеймера и т.д. В исследованиях последних лет показано, что полиморфизмы некоторых TLR ассоциированы с риском развития ишемического инсульта и влияют на тяжесть его течения. Обнаружена связь

полиморфизмов данных рецепторов с атеросклерозом, ишемической болезнью сердца, ожирением, которые являются факторами риска ОНМК [40, 77,90,99, 103,105,149,173]. Данные исследования были проведены среди жителей Кавказа, Кореи, у населения Китая, Америки, Испании [103,124,149,158,161]. Однако нам не встретились работы, посвященные роли генетического полиморфизма толл-подобных рецепторов в патогенезе ишемического инсульта, а также влиянию SNP на экспрессию toll-like рецепторов при этой патологии. Это вызывает интерес в изучении особенностей иммунологических механизмов у больных церебральным инсультом, при котором такие факторы риска, как метаболический синдром, артериальная гипертензия, атеросклероз, и другие, основаны на иммуногенетических механизмах, в том числе и в связи с генетическим полиморфизмом toll-like рецепторов. Дальнейшее изучение TLRs, попытка откорректировать нейроиммунные взаимосвязи возможно станут перспективным направлением современной медицины, заслуживающим внимания неврологов и иммунологов.

II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика клинического материала

При обследовании людей соблюдались этические принципы согласно Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской ассоциации (WRRld Medical Association Declaration of Helsinki 1964, в редакции 2013 г., изменения внесены на 64-ой Генеральной Ассамблее ВМАЮ Форталеза, Бразилия, октябрь 2013), и «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 266 от 19.06.2003 г.). Этическая экспертиза диссертационного исследования проведена 9 ноября 2011 года на заседании ЛЭК (протокол № 30).

Исследования проводились в период с 2009 г. по 2013 г. в клинко-диагностической лаборатории ГУЗ «Краевая клиническая больница» (главный врач – Заслуженный работник Здравоохранения, к.м.н. В. А. Шальнев), лаборатории экспериментальной, клинической биохимии и иммунологии и в лаборатории молекулярной генетики НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (ректор – Заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А. В. Говорин).

Все участники исследования были разделены на 2 группы: клиническую и контрольную. В клиническую группу были включены 115 больных ишемическим инсультом (62 женщины (53,9%) и 53 мужчины (46,1%)), средний возраст которых составил 60 (54;66) лет. Диагноз был выставлен на основании сбора жалоб, анамнеза заболевания, данных клинического неврологического обследования и по результатам нейровизуализационных методов исследования (МРТ, КТ). Все пациенты с ишемическим инсультом госпитализировались в первые сутки от момента мозгового удара и находились на лечении в отделении неврологии, в отделении нарушений мозгового кровообращения Регионального сосудистого центра и отделении интенсивной терапии Краевой клинической больницы г. Чита в период с 2009 по 2013 год.

Контрольную группу составили 94 человека (58 женщин (61,7%) и 36 мужчин (38,3%)) в возрасте 51 (45; 55) год, проживающих в Забайкальском крае и считающих себя относительно здоровыми. Всеми наблюдаемыми было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

2.2. Развернутая характеристика групп исследования

2.2.1. Характеристика исследуемых контрольной группы

В группу вошли 94 человека (58 женщин (61,7%) и 36 мужчин (38,3%)) в возрасте 51 (45; 55) год, проживающих в Забайкальском крае и считающих себя относительно здоровыми. На момент исследования по результатам неврологического, нейропсихологического тестирования, инструментальных данных (УЗДГ брахицефальных сосудов, холтеровское мониторирование, УЗИ сердца и сосудов) и лабораторных методов (липидный спектр, уровень глюкозы крови) представители контрольной группы не имели объективных признаков цереброваскулярной патологии. Забор крови на исследования осуществлялся единожды.

Критерии включения в контрольную группу:

- отсутствие объективных признаков цереброваскулярной патологии, гипергликемии, дислипидемии, артериальной гипертензии;
- люди, считающие себя относительно здоровыми и проживающие на территории Забайкальского края.

Критерии исключения из контрольной группы:

- беременность;
- острые заболевания и хронические в стадии рецидива;
- злокачественные новообразования;
- гематологические заболевания.

Наиболее многочисленными явились группы исследуемых в возрасте от 40 до 49 лет и от 50 до 59 лет. Женщины преобладали в возрастной группе от 40 до 49 лет, а мужчины – от 50 до 59 лет (таблица 2.2.1.1.)

Распределение здоровых лиц по возрасту и полу, n=114

возраст	Женщины (n=62)		Мужчины (n=52)		Всего (n=114)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
18–29	4	6,5	17	32,7	21	18,4
30–39	6	9,7	5	9,6	11	9,6
40–49	32	51,6	4	7,7	36	31,6
50–59	18	29	23	44,2	41	36
60 и более	2	3,2	3	5,8	5	4,4

2.2.2. Характеристика исследуемых клинической группы

Группу составили 115 больных ишемическим инсультом (62 женщины (53,9%) и 53 мужчины (46,1%)), у которых средний возраст оказался 60 (54; 66) лет. Из сопутствующих заболеваний у пациентов были выявлены хроническая обструктивная болезнь лёгких в стадии ремиссии, хронический пиелонефрит, хронический панкреатит, стенокардия напряжения I–II ф.кл., хронический холецистит, язвенная болезнь желудка в стадии ремиссии, хронический гастрит, сахарный диабет. На момент выписки из стационара в удовлетворительном состоянии находилось 87,9 % человек, в состоянии ближе к удовлетворительному – 7,8%, летальный исход заболевания наблюдался в 4,3 % случаев (у 2 мужчин и 3 женщин).

Критерии включения в клиническую группу:

- больные лакунарным и атеротромботическим ишемическим инсультом;
- обращение за медицинской помощью в стационар в первые сутки от начала заболевания.

Критерии исключения из клинической группы:

- злокачественные новообразования;
- беременность;
- острые воспалительные заболевания и хронические в стадии рецидива; хронические инфекционные заболевания, в том числе вне стадии обострения;

- больные гемодинамическим, кардиоэмболическим вариантами ишемического инсульта;
- использование тромболитических и антикоагулянтных препаратов.

Все больные ишемическим инсультом по степени тяжести заболевания (согласно шкале NIHSS) были разделены на три группы (табл. 2.2.2.1.):

1-я группа (34 человека) включала больных с легким течением заболевания – оценка степени тяжести инсульта до 5 баллов;

2-я (47 человек) – пациентов со средней степенью тяжести инсульта – средний балл от 5 до 9 баллов;

3-я группа (34 человека) – больных с тяжелой степенью инсульта – с оценкой 10 баллов и более.

Таблица 2.2.2.1.

Распределение больных ишемическим инсультом по степени тяжести и полу, n=115

Величины	Легкая степень тяжести (1–4 балла), n=34		Средняя степень тяжести (5–9 баллов) n=47		Тяжелая степень тяжести (10 и более баллов), n=34	
	мужчины	женщины	мужчины	женщины	мужчины	женщины
Абс.	13	21	25	22	15	19
%	38,2	61,8	53,2	46,8	44,1	55,9

Первичные случаи ишемического инсульта отмечены у 86 пациентов (38 мужчин и 48 женщин), а повторные эпизоды – у 29 пациентов (15 мужчин и 14 женщин). При распределении по группам с учетом возраста, максимальное количество исследуемых наблюдалось в возрасте от 50 до 59 лет и от 60 и более лет. Женщины преобладали в возрастной группе 50–59 лет, мужчины – 60 лет и более (табл. 2.2.2.2.).

Таблица 2.2.2.2.

Распределение больных ишемическим инсультом по возрасту и полу, n=115

возраст	Женщины (n=62)		Мужчины (n=53)		Всего (n=115)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Менее 40	0	0	3	5,7	3	2,6
40–49	8	12,9	4	7,5	12	10,4

50–59	16	25,8	24	45,3	40	34,8
60 и более	38	61,3	22	41,5	60	52,2

2.3. Методы исследования клинической и контрольной группы

2.3.1. Клинические методы исследования

Все пациенты с ОНМК, участвующие в исследовании, были госпитализированы в первые сутки от начала заболевания. Клиническое обследование включало в себя жалобы, анамнез заболевания, анализ данных клинического неврологического обследования. При осмотре пациентов клинической группы использовалась шкала NIHSS (шкала тяжести инсульта Национального института здоровья, 1989 г.) в 1-е и 14-е сутки от момента ОНМК. С учетом анамнеза заболевания и результатов нейровизуализационных методов исследования (МРТ, КТ) выявлялись первичные и повторные случаи ишемического инсульта. В момент госпитализации все больные консультировались кардиологом и, при необходимости, – нефрологом, эндокринологом, пульмонологом, сосудистым хирургом и другими специалистами.

2.3.2. Инструментальные методы исследования

Из инструментальных методов исследования проводилась компьютерная томография головного мозга на спиральном компьютерном томографе «Нix speed Dxi (GE, США), либо магнитно-резонансная томография и магнитно-резонансная ангиография церебральных сосудов с помощью аппарата Achieva 1,5t (Philips, Москва) или «Opact» (Thoshiba, Япония), эхоэнцефалоскопия (Ангиодин-Эхо/У; «БИОС», Москва), электроэнцефалография (16-канальный «Энцефалон», версия 4,2М, Таганрог), ультразвуковая доплерография (EUB 515A, «Hitachi», Япония), офтальмоскопия, УЗИ сердца, УЗИ внутренних органов, рентгенологическое исследование органов грудной полости на аппарате RO 1750 ROT 350 «Philih» (Германия). Мониторинг частоты

сердечных сокращений, артериального давления и ЭКГ-исследование (Dr Lee eleastrocardiograph ECG-310A, Корея) осуществлялся в течение всего периода госпитализации или диспансерного наблюдения.

2.3.3. Лабораторные методы исследования

Для уточнения диагноза и исследования общего соматического состояния использовались: проба Зимницкого, проба Нечипоренко, общий анализ мочи, биохимический анализ крови с определением глюкозы, аспарагиновой и аланиновой трансаминаз, общего белка, креатинфосфокиназы, индекса атерогенности). Забор периферической крови проводился при пунктировании кубитальной вены в вакуутейнеры («Vacurette», Austria) по стандартной методике.

2.3.3.1. Общий анализ крови

Исследовали благодаря автоматическому гематологическому анализатору «Pentra –120» («HRRiba ABX», Франция) в момент госпитализации, на 10-14 сутки от начала заболевания и к окончанию острого периода инсульта (21 сутки). У здоровых респондентов забор крови осуществлялся однократно.

2.3.3.2. Определение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА)

Проводили на свежей цитратной крови обследуемых (метод Ю. А. Витковского и соавт. (1999)) [14,15]. Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты подсчитывали на 100 клеток в камере Горяева с помощью световой микроскопии. Лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс (ЛТИ) рассчитывали как среднее арифметическое количество тромбоцитов, присоединившихся к одному лимфоциту. Кровь на исследование у пациентов с ОНМК забирали трижды: в острейший период заболевания (1-е сутки от начала инсульта), к окончанию формирования инфаркта мозга (10-е сутки) и к концу острого периода заболевания (21-е сутки). У участников контрольной группы—однократно.

2.3.3.3. Определение агрегационной активности тромбоцитов

Первичный гемостаз, в частности спонтанная и индуцированная агрегатометрия, изучался с помощью турбидиметрического метода Борна на двухканальном лазерном анализаторе «АЛАТ-2» в модификации 230 LA-2 (НПФ «БИОЛА», Россия) с использованием реактивов фирмы ООО «Технология стандарт». Агрегатограмму записывали в течение 7 минут при 37°C.

Кровь на исследования у больных ишемическим инсультом забиралась в 1-е, на 10-е и 21-е сутки ОНМК. У исследуемых контрольной группы забор крови осуществлялся однократно. В роли индукторов выступали АДФ в конечной концентрации 5 мг/мл и 1,25 мг/мл, коллаген (1 мг/мл), ристомицин в концентрации 15 мг/мл, адреналин в конечной концентрации 5 мг/мл.

Дальнейший анализ агрегационной кривой заключался в оценке типа агрегатограммы и определении степени агрегации – максимального процента светопропускания плазмы и размера радиуса агрегатов (опт. ед.), скорости агрегации (опт. ед.). Поскольку вторая волна агрегации регистрировалась у незначительной части случаев, то степень и время агрегации на всех кривых рассчитывалась по отношению к первой агрегационной волне.

2.3.3.4. Определение концентрации цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-10)

Исследование цитокинов: – интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-10 (IL-10) – проводили в плазме крови с помощью твердофазного иммуноферментного анализа («сэндвич»-метод) с использованием тест-систем фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Для проведения использовалось следующее оборудование: шейкер-термостат «ElmiST-3» (Латвия), автоматический вошер «Atlantis-4» (Великобритания) иммуноферментный анализатор «Expert 96 IFA-Rider» (Великобритания). Концентрацию интерлейкинов выражали в пг/мл. Минимально достоверная концентрация интерлейкинов в исследуемых образцах, определяемая набором – 0,5 пг/мл. Кровь для определения 1 β и IL-6 у больных ишемическим инсультом

исследовалась в 1-е, на 10-е и 21-е сутки, содержание IL-10 – в 1-е и на 10-е сутки от начала заболевания, у индивидуумов контрольной группы – единожды.

2.3.3.5. Исследование уровня экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови

Материалом для исследования послужила цельная кровь, взятая единожды у здоровых респондентов и у больных ишемическим инсультом на 10-е сутки заболевания. Общее количество моноцитов (абс. и относит.) периферической крови (CD14+), количество моноцитов, экспрессирующих TLR2 (CD14+CD282+), TLR4 (CD14+CD284+), количество активированных моноцитов (CD14+HLADR+) и количество активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2 (CD14+CD282+HLADR+) и TLR4 (CD14+CD284+HLADR+) изучали мультипараметрическим методом иммунофлюоресцентного анализа с использованием панели моноклональных антител (Nycultbiotechnology, Голландия), (Beckman Coulter, США). Пробоподготовку проводили путем удаления эритроцитов с применением лизирующего раствора «OptiLise C» (Immunotex, Франция) по прилагаемому протоколу. Образцы анализировали на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, США) по стандартному протоколу. Полученные данные трактовали с помощью программы «СХР Cytometer» (Beckman Coulter, США). Также оценивали уровень экспрессии исследуемых поверхностных рецепторов по средней интенсивности флюоресценции (MFI – mean fluorescence intensity).

2.3.3.6. Молекулярно-генетические исследования

В качестве материала для молекулярно-генетического анализа использовали образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови с помощью реагентов ДНК-Экспресс-кровь (НПФ «Литех», Москва). Амплификация фрагментов генов проводилась в термоциклере «Бис-M112»

(ООО «Бис-Н», Новосибирск). Визуализация продуктов амплификации осуществлялась с помощью электрофореза в 3% агарозном геле с добавлением бромистого этидия, в проходящем в ультрафиолетовом свете. Полученные результаты анализировали согласно инструкции набора. Забор крови для данного исследования осуществлялся однократно в обеих группах наблюдения. Выявляли следующие полиморфные маркеры:

Таблица 2.3.3.6.1.

Генетический полиморфизм толл-подобных рецепторов

TLR	ген. locus	SNP ID	замена	Производитель реактивов
TLR2	4q32	rs5743708	Arg753Gln	НПФ«Литех»
TLR3	4q35	rs3775291	Leu412Phe	НПФ«Литех» (Москва)
TLR4	9q32-33	rs4986790	Asp299Gly	НПФ«Литех» (Москва)
TLR6	4p13	rs5743810	Ser249Pro	НПФ«Литех» (Москва)
TLR9	3p21.3	rs5743836	T -1237C	НПФ«Литех» (Москва)

2.4. Статистическая обработка материала

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программ BIOSTAT, Microsoft Excel 2007, Statistica 6,0 (StatSoftInc.,USA). Предварительно до начала анализа вариационные ряды проверялись на нормальность методом асимметрии и эксцессов. Медиану, 25 и 75 процентиля вычисляли при помощи описательной статистики. Для сравнения двух несвязанных групп использовали критерий Манна-Уитни. Достоверными признавались различия при $p < 0,05$. Взаимосвязь между количественными признаками выявлялась с помощью корреляционного анализа Спирмена, статистически значимым считался результат при $r_s > 0,3$, $p < 0,05$.

Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в двух субпопуляциях использовался критерий χ^2 (Пирсона). Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к изучаемой патологии судили по величине относительного риска заболевания (RR). Границы 95%-го доверительного интервала (CI) вычисляли методом В.

Woolf. Значения уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

Кроме этого, вычисляли индивидуальный генетический индекс (IGI) являющийся ранжированной величиной, характеризующей совокупный эффект носительства изучаемого генетического полиморфизма (кумулятивная полимерия) у индивидуума с учетом, что нормальная гомозигота – это «1», гетерозигота – «2», мутантная гомозигота – «3» для *TLR6* (Ser249Pro) и *TLR9* (T1237-C), для *TLR2* (Arg753Gln) и *TLR4* (Asp299Gly) нормальная гомозигота принималась за «3», гетерозигота – за «2», мутантная гомозигота – за «1» [87].

Формула расчета:

индивидуальный генетический индекс (IGI) у одного исследуемого:

$$IGI = \frac{A_{HP\ TLR2(Arg753Gln)} + A_{HP\ TLR4(Asp299Gly)} + A_{HP\ TLR6(Ser249Pro)} + A_{HP\ TLR9(T-1237C)}}{N}$$

где, А – числовое значение генотипа; HP – выявленный генотип полиморфизма определенного толл-подобного рецептора; N – количество генотипов.

После унификации (когда качественные показатели переводятся в количественные, соизмеримые по значимости) и суммации баллов находили М (медиану) и сравнивали с подобными значениями здоровых пациентов с помощью критерия Мана-Уитни.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Сравнительная частота генетического полиморфизма toll-like рецепторов (*TLR2*(Arg753Gln), *TLR3*(Phe412Leu), *TLR4*(Asp299Gly), *TLR6*(Ser249Pro), *TLR9*(Т - 1237 С)) у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае

По итогам молекулярно-генетического исследования выявлены все искомые аллели в гомо- и гетерозиготном состоянии. Распределение частот генотипов среди представителей контрольной группы соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg Equilibrium). У представителей клинической группы отклонение от равновесия Харди-Вайнберга обнаружено для полиморфизма *TLR4*(Asp299Gly), *TLR6*(Ser249Pro) преимущественно за счет разницы наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (табл.3.1.1)

Таблица 3.1.1.

Отклонение Харди-Вайнберга (HWE) для изучаемых генетических полиморфизмов у больных ишемическим инсультом, df=1

полиморфизм	генотип	Наблюдаемые частоты	HWE	χ^2	P
<i>TLR4</i> (Asp299Gly)	-299Asp/Asp	0,722	0,612	47,43	p<0,001
	-299Asp/Gly	0,122	0,340		
	-299Gly/Gly	0,157	0,047		
<i>TLR6</i> (Ser249Pro)	-249Ser/Ser	0,174	0,082	23,03	p<0,001
	-249Ser/Pro	0,226	0,409		
	-249Pro/Pro	0,600	0,508		

При сравнении частот аллелей и генотипов изучаемых толл-рецепторов в клинической и контрольной группах отчетливые различия наблюдались по генотипу -753Arg/Arg *TLR2* с большей частотой встречаемости последнего у больных ишемическим инсультом (p=0,02). Генотип -753Arg/Gln и аллель -753Gln *TLR2* чаще встречался у здоровых резидентов (p=0,02; p=0,01

соответственно) (табл. 3.1.2). Относительный риск развития церебрального инсульта у обладателей Arg/Arg-генотипа составил 2,41 [CI 95%: 1.33-4.36], для носителей генотипа Arg/Gln—0,44 [CI 95%: 0,24-0,81], для лиц, имеющих дикий аллель равен 2,21[CI 95%: 1,29-3,78], для резидентов, несущих Gln- аллель — 0,45[CI 95%: 0,26-0,78].

При изучении полиморфизма *TLR4* (Asp299Gly) в клинической и контрольной группах среди больных чаще встречались носители дикого аллеля *TLR4* (Asp299Gly) — 0,783 против 0,707 у здоровых респондентов, причем зарегистрировано 1,6 кратное увеличение носительства в состоянии гомозиготы, гетерозиготное же состояние наблюдалось в 4,9 раза реже, чем у исследуемых контрольной группы ($p < 0,0001$). Gly/Gly-генотип *TLR4* выявлялся чаще у больных ишемическим инсультом. Риск развития данной патологии у носителей Asp/Asp-генотипа составил 2,82 [CI 95%: 1,59-5,02], у гетерозигот — 0,16 [CI 95%: 0,08-0,33], у мутантных гомозигот —2,72 [1,03-7,16]. Для обладателей Asp- аллеля RR составил 1,49 [CI 95%: 0,96-2,32], для носителей минорного аллеля — 0,67 [CI 95%: 0,43-1,05].

В группе больных носителей Pro/Pro-генотипа и Pro-аллеля *TLR6* ($p=0,0002$) было больше, степень риска развития заболевания для них составила 3,2 [CI 95%: 1,81-5,67] и 2,14 [CI 95%: 1,43-3,21] соответственно. Гетерозигот оказалось меньше, чем в группе контроля ($p=0,0002$), для которых степень риска инсульта оказалась равной 0,38 [CI 95%: 0,21-0,69]. Обладатели дикого аллеля *TLR6* (Ser249Pro) встречались чаще среди здоровых резидентов ($p=0,0002$), RR для развития ОНМК составил 0,47 [CI 95%: 0,31-0,7].

При сравнении частот по полиморфному варианту *TLR9* (T1237C) у лиц клинической группы отмечалось более частое носительство мутантного аллеля по отношению к обследуемым контрольной группы ($p=0,03$), относительный риск заболевания для больных с ОНМК оказался равным 1,93 [CI 95%: 1,06-3,5], причем данный показатель для обладателей аллеля —1237C в гомозиготном состоянии составил 3,35 [CI 95%: 0,37-30,51], (табл. 3.1.2)

Таблица 3.1.2.

Генетический полиморфизм toll-like рецепторов у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае

полиморфизм	Генотип, аллель	Частота генотипа, аллеля, n (%)		p	χ^2	RR [95% CI:]
		Клиническая группа (n=115)	Контрольная группа (n=94)			
<i>TLR2</i> (Arg753Gln)	-753Arg/Arg	95 (82,6)	62 (66)	0,02	7,78	2,45 [1,29 – 4,67]
	-753Arg/Gln	19 (16,5)	31 (33)			0,4 [0,21 – 0,77]
-753Gln/Gln	1 (0,9)	1 (1)	0,82 [0,05 – 13,2]			
	-753Arg	0,909	0,824	0,01	6,52	2,12 [1,18 – 3,80]
	-753Gln	0,091	0,176			0,47 [0,26 – 0,85]
<i>TLR3</i> (Phe412Leu)	-412Phe/Phe	53 (46)	47 (50)	0,31	2,35	0,85 [0,50 – 1,48]
	-412Phe/Leu	54 (47)	36 (38,3)			1,43 [0,82 – 2,48]
	-412Leu/Leu	8 (7)	11 (11,7)			0,56 [0,22 – 1,47]
	-412Phe	0,696	0,691	0,93	0,01	1,02 [0,67 – 1,55]
	-412Leu	0,304	0,309			0,98 [0,65 – 1,49]
<i>TLR4</i> (Asp299Gly)	-299Asp/Asp	84 (72,2)	45 (47,9)	p<0,001	30,23	2,82 [1,59 – 5,02]
	-299Asp/Gly	14 (12,2)	43 (45,7)			0,16 [0,08 – 0,33]
	-299Gly/Gly	18 (15,7)	6 (6,4)			2,72 [1,03 – 7,16]
	-299Asp	0,783	0,707	0,08	3,11	1,49 [0,96 – 2,32]
	-299Gly	0,217	0,293			0,67 [0,43 – 1,05]
<i>TLR6</i> (Ser249Pro)	-249Ser/Ser	20 (17,4)	23 (24,5)	p=0,0002	16,99	0,65 [0,33 – 1,27]
	-249Ser/Pro	26 (22,6)	41 (43,6)			0,38 [0,21 – 0,69]
	-249Pro/Pro	69 (60)	30 (31,9)			3,2 [1,81 – 5,67]
	-249Ser	0,287	0,463	p=0,0002	13,78	0,47 [0,31 – 0,70]
	-249Pro	0,713	0,537			2,14 [1,43 – 3,21]
<i>TLR9</i> (T - 1237 C)	-1237T/T	80 (69,5)	77 (81,9)	0,1	4,58	0,5 [0,26 – 0,97]
	-1237T/C	31 (27)	16 (17)			1,8 [0,91 – 3,54]
	-1237C/C	4 (3,5)	1 (1,1)			3,35 [0,37 – 30,51]
	-1237T	0,830	0,904	0,03	4,79	0,52 [0,29 – 0,94]
	-1237C	0,170	0,096			1,93 [1,06 – 3,50]

Таким образом, в отличие от здоровых резидентов у больных ишемическим инсультом наблюдалось более частое носительство нормального аллеля *TLR2* (Arg753Gln) и рискованного аллеля *TLR6* (Ser249Pro), *TLR9* (T-1237C).

Таблица 3.1.3.

Генетический полиморфизм toll-like рецепторов у больных с повторным ишемическим инсультом в Забайкальском крае

полиморфизм	Генотип, аллель	Частота генотипа, аллеля, n (%)			p	χ^2	RR [95% CI:]	p	χ^2	RR [95% CI:]
		Ишемический инсульт (n=86)	Повторный инсульт (n=29)	Контрольная группа (n=94)						
<i>TLR2</i> (Arg753Gln)	-753Arg/Arg	73 (84,9)	22 (75,9)	62 (66)	0,17 ³	3,59	0,56 [0,2 – 1,58] 1,46 [0,5 – 4,28] 9,11[0,36– 229,8]	0,01 ¹	8,92	2,9[1,40–6,00] 0,36[0,17–0,75] 0,36[0,01–8,96]
	-753Arg/Gln	13 (15,1)	6 (20,7)	31 (33)						
	-753Gln/Gln	0 (0)	1 (3,4)	1 (1)						
	-753Arg	0,924	0,862	0,824	0,15 ³	2,03	0,51[0,20–1,30] 1,96[0,77–4,99]	0,0005 ¹	8,05	2,6[1,32–5,13] 0,38[0,19–0,76]
-753Gln	0,076	0,138	0,176				0,5 ²	0,45	1,33[0,58– 3,07] 0,75[0,33–1,73]	
<i>TLR3</i> (Phe412Leu)	-412Phe/Phe	42 (48,8)	11 (37,9)	47 (50)	0,57 ³	1,12	0,64[0,27 – 1,51] 1,55 [0,67 – 3,63] 0,99 [0,19 – 5,19]	0,48 ¹	1,45	0,95[0,53–1,71] 1,28[0,70–2,31] 0,57[0,20–1,60]
	-412Phe/Leu	38 (44,2)	16 (55,2)	36 (38,3)						
	-412Leu/Leu	6 (7)	2 (6,9)	11 (11,7)						
	-412Phe	0,709	0,655	0,691	0,44 ³	0,6	0,78[0,41– 1,47] 1,28[0,68– 2,42]	0,71 ¹	0,14	1,09[0,69–1,71] 0,92[0,58–1,44]
-412Leu	0,291	0,345	0,309				0,6 ²	0,27	0,85[0,45–1,58] 1,18[0,63–2,20]	
<i>TLR4</i> (Asp299Gly)	-299Asp/Asp	61 (70,9)	22 (75,9)	45 (47,9)	0,65 ³	0,85	1,29 [0,49 – 3,40] 1,22 [0,35 – 4,22] 0,55 [0,15 – 2,04]	p<0,001 ¹	26,52	2,66[1,43–4,92] 0,16[0,07–0,34] 3,1[1,14–8,40]
-299Asp/Gly	10 (11,6)	4 (13,8)	43 (45,7)							
-299Gly/Gly	15 (17,4)	3 (10,3)	6 (6,4)							

								0,008 ²	9,58	3,42[1,33–8,78] 0,19[0,06–0,59] 1,69[0,40–7,24]
	-299Asp -299Gly	0,767 0,233	0,828 0,172	0,707 0,293	0,34 ³	0,92	1,45[0,68–3,13] 0,69[0,32–1,48]	0,2 ¹	1,66	1,36[0,85–2,19] 0,73[0,46–1,18]
								0,07 ²	3,29	1,98[0,94–4,20] 0,5[0,24–1,07]
<i>TLR6</i> (Ser249Pro)	-249Ser/Ser -249Ser/Pro -249Pro/Pro	12 (14) 20 (23,3) 54 (62,8)	8 (27,6) 6 (20,7) 15(51,7)	23 (24,5) 41 (43,6) 30 (31,9)	0,24 ³	2,82	2,35 [0,85 – 6,50] 0,86 [0,31 – 2,41] 0,63 [0,27 – 1,48]	0,0002 ¹	17,22	0,5[0,23–1,08] 0,39[0,21–0,75] 3,6[1,94–6,66]
								0,06 ²	5,51	1,18[0,46–3,01] 0,34[0,13–0,90] 2,29[0,98–5,34]
	-249Ser -249Pro	0,256 0,744	0,379 0,621	0,463 0,537	0,07 ³	3,23	1,78[0,95–3,34] 0,56[0,30–1,06]	p<0,001 ¹	16,62	0,4[0,26–0,62] 2,51[1,60–3,92]
								0,26 ²	1,25	0,71[0,39–1,30] 1,41[0,77–2,58]
<i>TLR9</i> (T-1237C)	-1237T/T -1237T/C -1237C/C	56 (65,1) 26 (30,2) 4 (4,7)	24 (82,8) 5 (17,2) 0(0)	77 (81,9) 16 (17) 1 (1,1)	0,16 ³	3,68	2,57 [0,89 – 7,43] 0,48 [0,17 – 1,40] 0,31 [0,02 – 5,95]	0,03 ¹	7,16	0,41[0,21–0,82] 2,11[1,04–4,29] 4,54[0,50–41,41]
								0,86 ²	0,31	1,06[0,35–3,18] 1,02[0,34–3,06] 1,06[0,04–26,64]
	-1237T -1237C	0,802 0,198	0,914 0,086	0,904 0,096	0,05 ³	3,83	2,61[0,97–7,03] 0,38[0,14–1,03]	0,006 ¹	7,55	0,43[0,23–0,79] 2,33[1,26–4,30]
								0,83 ²	0,05	1,12[0,40–3,17] 0,89[0,32–2,52]

Примечание: ¹ – сравнение пациентов с впервые диагностированным ишемическим инсультом с представителями контрольной группой; ² – сравнение больных с повторным ишемическим инсультом со здоровыми пациентами; ³ – отличия между больными с впервые диагностированным ишемическим инсультом и больными с повторным ишемическим инсультом.

Таблица 3.1.4.

Генетический полиморфизм toll-like рецепторов у больных ишемическим инсультом разной степени тяжести заболевания

полиморфизм	Генотип, аллель	Частота генотипа, аллеля, n (%)			p	χ^2	RR [95% CI:]	p	χ^2	RR [95% CI:]
		Легкая степень тяжести (n=34)	Тяжелая степень состояния (n=34)	Контрольная группа (n=94)						
<i>TLR2</i> (Arg753Gln)	-753Arg/Arg	30 (88,2)	28 (82,4)	62 (66)	0,79 ³	0,47	1,61[0,41 – 6,30] 0,62[0,16 – 2,44] 1,0[0,02 – 51,85]	0,05 ¹	6,2	3,87[1,25–11,95] 0,27[0,09 – 0,84] 0,9[0,04 – 22,71]
	-753Arg/Gln	4 (11,8)	6 (17,6)	31 (33)						
	-753Gln/Gln	0 (0)	0 (0)	1 (1)				0,19 ²	3,35	2,41[0,90 – 6,41] 0,44[0,16 – 1,16] 0,9[0,04 – 22,71]
	-753Arg	0,941	0,912	0,824	0,51 ³	0,43	1,55[0,42 – 5,75] 0,65[0,17 – 2,40]	0,02 ¹	5,5	3,41[1,16–10,01] 0,29[0,10 – 0,86]
	-753Gln	0,059	0,088	0,176				0,09 ²	2,95	2,2[0,88 – 5,51] 0,45[0,18 – 1,14]
<i>TLR3</i> (Phe412Leu)	-412Phe/Phe	17 (50)	15 (44,1)	47 (50)	0,84 ³	0,36	1,27[0,49 – 3,29] 0,89[0,34 – 2,31] 0,65[0,10 – 4,13]	0,59 ¹	1,04	1,0[0,46 – 2,19] 1,27[0,57 – 2,82] 0,47[0,10 – 2,25]
	-412Phe/Leu	15 (44,1)	16 (47,1)	36 (38,3)						
	-412Leu/Leu	2 (5,9)	3 (8,8)	11 (11,7)				0,66 ²	0,84	0,79[0,36 – 1,74] 1,43[0,65 – 3,16] 0,73[0,19 – 2,79]
	-412Phe	0,721	0,676	0,691	0,58 ³	0,31	1,23[0,59 – 2,57] 0,81[0,39 – 1,69]	0,65 ¹	0,2	1,15[0,62 – 2,13] 0,87[0,47 – 1,61]
	-412Leu	0,279	0,324	0,309				0,82 ²	0,05	0,93[0,51 – 1,69] 1,07[0,59 – 1,94]

<i>TLR4</i> (Asp299Gly)	-299Asp/Asp	20 (58,8)	27 (79,4)	45 (47,9)	0,13 ³	4,15	3,72[0,91– 15,22] 0,37[0,13 – 1,09] 1,29[0,32 – 5,30]	0,0004 ¹	15,6	1,56[0,70 – 3,44] 0,2[0,07 – 0,57] 5,28[1,72–16,25]
	-299Asp/Gly	5 (14,7)	4 (11,8)	43 (45,7)						
	-299Gly/Gly	9 (26,5)	3(8,8)	6 (6,4)	0,009³	6,76	2,96[1,28 – 6,86] 0,34[0,15 – 0,78]	0,48 ¹	0,49	0,81[0,45 – 1,46] 1,24[0,68 – 2,24]
	-299Asp	0,662	0,853	0,707						
	-299Gly	0,338	0,147	0,293				0,02 ²	5,58	2,4[1,14 – 5,03] 0,42[0,20 – 0,87]
<i>TLR6</i> (Ser249Pro)	-249Ser/Ser	7 (20,6)	5(14,7)	23 (24,5)	0,8 ³	0,45	0,8[0,22 – 2,94] 0,88[0,32 – 2,40] 1,5[0,43 – 5,31]	0,002 ¹	12,58	0,8[0,31 – 2,08] 0,22[0,08 – 0,63] 3,91[1,71 – 8,94]
	-249Ser/Pro	5 (14,7)	6(17,6)	41 (43,6)						
	-249Pro/Pro	22 (64,7)	23(67,6)	30 (31,9)	0,56 ³	0,35	0,79[0,37 – 1,72] 1,26[0,58 – 2,72]	0,009 ¹	6,92	0,53[0,18 – 1,54] 0,28[0,10 – 0,73] 4,46[1,93–10,32]
	-249Ser	0,279	0,235	0,463						
	-249Pro	0,721	0,765	0,537				0,001 ²	10,75	0,36[0,19 – 0,67] 2,8[1,49 – 5,25]
<i>TLR9</i> (T – 1237C)	-1237T/T	24 (70,6)	22 (64,7)	77 (81,9)	0,79 ³	0,47	0,86[0,30 – 2,50] 0,48[0,04 – 5,61] 1,31[0,47 – 3,63]	0,35 ¹	2,11	0,53[0,21 – 1,31] 1,76[0,69 – 4,46] 2,82[0,17– 46,35]
	-1237T/C	9 (26,5)	10 (29,4)	16 (17)						
	-1237C/C	1 (2,9)	2 (5,9)	1 (1,1)	0,51 ³	0,44	0,74[0,31 – 1,78] 1,34[0,56 – 3,22]	0,14 ¹	2,17	0,4[0,17 – 0,97] 2,03[0,82 – 5,06] 5,81[0,51– 66,28]
	-1237T	0,838	0,794	0,904						
	-1237C	0,162	0,206	0,096				0,02 ²	5,54	0,55[0,24 – 1,23] 1,82[0,81 – 4,09] 0,41[0,19 – 0,88] 2,45[1,14 – 5,25]

Примечание: ¹ – сравнение больных легкой степени тяжести с пациентами контрольной группы; ² – сравнение больных с тяжелой степенью состояния со здоровыми пациентами; ³ – отличия между пациентами с легкой и тяжелой степенью состояния.

Сравнивая полиморфизм TLR9 (T-1237C) у больных с впервые возникшим инфарктом мозга и у пациентов с повторным церебрососудистым эпизодом, мы выявили, что в группе последних носителей нормального аллеля оказалось больше, в то время как у пациентов с впервые диагностированным инсультом чаще встречался рискованный аллель ($\chi^2=3,83$; $p=0,05$). RR для аллеля -1237T был равен 2,61 [95%CI: 0,97–7,03], для -1237C- аллеля – 0,38 [95%CI: 0,14–1,03]. Носительство других полиморфных вариантов генов toll-like рецепторов, изучаемых нами, не различалось в данных группах наблюдения (табл.3.1.3.).

У пациентов с легкой степенью тяжести чаще встречался рискованный аллель TLR4 (Asp299Gly), в то время как в группе наблюдаемых с тяжелой степенью ОНМК – нормальный аллель TLR4(Asp299Gly) ($\chi^2=6,76$; $p=0,009$). Относительный риск составил 1,34 [95% CI:0,56 – 3,22] и 0,74 [95% CI:0,31 – 1,78] соответственно. При сравнении частот аллелей и генотипов других изучаемых нами полиморфных маркеров у пациентов с различной тяжестью заболевания отчетливых различий не выявлено (табл.3.1.4.).

Далее мы определили лиц с комплексным носительством полиморфизма из 4-х предикторных аллелей. Хотя по результатам статистически значимой разницы между сравниваемыми группами выявлено не было, тем не менее, среди больных носителей комбинации аллелей было больше – 25,2% против 17% (табл. 3.1.5.).

Таблица 3.1.5.

Комплексное носительство 4 аллелей полиморфизма генов toll-like рецепторов у больных ишемическим инсультом

комплексное носительство аллелей TLR	клиническая группа (n=115)	контрольная группа (n=94)
-753Arg TLR2, -299Asp TLR4, -249Pro TLR6, -1237C TLR9	29 (25,2%)	16 (17%)
-753Gln TLR2, -299Gly TLR4, -249Ser TLR6, -1237T TLR9	86 (74,8%)	78 (83%)

Примечание: χ^2 - статистически значимой разницы между группами сравнения не выявлено.

Следующим этапом исследования, проведенного нами, было вычисление индивидуального генетического индекса с целью оценки аддитивного влияния предиктивных аллелей. По результатам полученных данных мы отметили, что генетический индекс в пределах 2,2–2,4 (то есть наличие в геноме более двух рискованных аллелей изучаемого полиморфизма) чаще наблюдался у больных ишемическим инсультом по сравнению со здоровыми резидентами ($\chi^2=9,5$; $p=0,02$), в то время как индекс 1,4–1,6 встречался реже, чем в контрольной группе ($\chi^2=8,9$; $p=0,03$) (табл.3.1.6.).

Расчет генетического индекса у больных ишемическим инсультом разной степени тяжести показал, что среди больных с тяжелой степенью инсульта индекс 1,4–1,6 наблюдался у 2,9% исследуемых, индекс 1,8–2 у 26,5% против 14,9% и 48,9% у доноров контрольной группы ($\chi^2=13,1$; $p=0,004$ и $\chi^2=11,4$; $p=0,01$ соответственно). IGI=2,2–2,4 в 2,2 раза встречался чаще у больных с тяжелой степенью заболевания в сравнении со здоровыми респондентами ($\chi^2=17,7$; $p=0,0005$) (табл.3.1.7.).

У больных с повторным церебрососудистым эпизодом индекс 1,4–1,6 наблюдался реже, а индекс 2,2–2,4 чаще, чем у пациентов с впервые диагностированным ишемическим инсультом и у здоровых резидентов (55,2%, 47,7% и 28,7% соответственно), ($\chi^2=17,1$; $p=0,0007$), (табл.3.1.8.).

Таблица 3.1.6.

Генетический индекс у больных ишемическим инсультом
в Забайкальском крае

Группы наблюдения	Индивидуальный генетический индекс			
	1,4–1,6	1,8–2	2,2–2,4	Более 2,4
Клиническая группа (n=115)	5,2% ($\chi^2=8,9$; $p=0,03$) ¹	37,4%	48,7% ($\chi^2=9,5$; $p=0,02$) ¹	8,7%
Контрольная группа (n=94)	14,9%	48,9%	28,7%	7,5%

Примечание: χ^2 ¹ - сравнение показателей между больными ишемическим инсультом и здоровыми исследуемыми;

Таблица 3.1.7.

Генетический индекс у больных ишемическим инсультом в
Забайкальском крае в зависимости от степени тяжести заболевания

Группы наблюдения	генетический индекс			
	1,4–1,6	1,8–2	2,2–2,4	Более 2,4
Легкая степень тяжести (n=34)	8,8%	38,3%	44,1%	8,8%
Тяжелая степень состояния (n=34)	2,9% ($\chi^2=13,1$; $p=0,004$) ¹	26,5% ($\chi^2=11,4$; $p=0,01$) ¹	61,8% ($\chi^2=17,7$; $p=0,0005$) ¹	8,8%
Контрольная группа (n=94)	14,9%	48,9%	28,7%	7,5%

Примечание: χ^2 ¹ – статистически значимая разница между пациентами с тяжелой степенью заболевания и пациентами контрольной группы; при сравнении IGI пациентов с легкой степенью тяжести с больными с тяжелой степенью заболевания, а также пациентов с легкой степенью тяжести со здоровыми респондентами статистически значимых отличий выявлено не было.

Таблица 3.1.8.

Генетический индекс у больных с повторным ишемическим инсультом в
Забайкальском крае

Группы наблюдения	генетический индекс			
	1,4–1,6	1,8–2	2,2–2,4	2,4 и более
ишемический инсульт (n=86)	4,7% ($\chi^2=9,7$; $p=0,02$) ²	36%	47,7% ($\chi^2=8,9$; $p=0,03$) ²	11,6% ($\chi^2=17,1$; $p=0,0007$) ¹
повторный ишемический инсульт (n=29)	6,9%	37,9%	55,2% ($\chi^2=13,4$; $p=0,004$) ³	0% ($\chi^2=12,4$; $p=0,006$) ³
Контрольная группа (n=94)	14,9%	48,9%	28,7%	7,5%

Примечание: χ^2 ¹ – сравнение больных с впервые диагностированным инсультом с пациентами с повторным ОНМК; χ^2 ² – сравнение пациентов с впервые диагностированным ишемическим инсультом с исследуемыми контрольной группы; χ^2 ³ – сравнение пациентов с повторным ОНМК и здоровых респондентов;

Таким образом, чем больше количество аллельных вариантов, повышающих риск возникновения ишемического инсульта, тем выше риск развития ишемического инсульта, часто с тяжелым течением.

По итогам исследования генетического полиморфизма Toll-рецепторов (*TLR2*(Arg753Gln), *TLR3*(Phe412Leu), *TLR4*(Asp299Gly), *TLR6*(Ser249Pro), *TLR9*(T–1237C)) у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае

отмечалась высокая частота носительства аллелей –753 Arg *TLR2*, –299Asp *TLR4*, –249 Pro *TLR6*, –1237C *TLR9* и генотипа –753Arg/Arg *TLR2*, –299 Asp/Asp *TLR4*, –299 Gln/Gln *TLR4*, –249 Pro/Pro *TLR6*. Выявлено, что аллель –299Asp *TLR4* ассоциируется с тяжелым течением заболевания, а –1237C *TLR9* – с повторным сосудистым эпизодом. Индивидуальный генетический индекс в пределах 2,2–2,4 чаще наблюдается у больных ОНМК, нежели у резидентов контрольной группы.

3.2. Экспрессия TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом, в том числе с учетом носительства полиморфизма генов толл-подобных рецепторов

3.2.1. Уровень экспрессии TLR2 и TLR4 на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом

Нами было выявлено, что общее количество моноцитов, количество моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, количество активированных моноцитов и количество активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, у представителей клинической группы было больше, чем у здоровых резидентов (u , $p < 0,001$). MFI также оказался выше у представителей клинической группы в сравнении с контрольной (u , $p < 0,001$) (табл.3.2.1.1.).

У исследуемых как с впервые диагностированным инсультом, так и с повторным ОНМК общее количество моноцитов, количество моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, а также количество активированных моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, TLR4, было больше, чем у здоровых респондентов (u , $p < 0,001$; $p < 0,05$). У пациентов с повторным ОНМК MFI был выше (u , $p < 0,001$), а общее относительное количество моноцитов меньше (u , $p < 0,05$), нежели у исследуемых с впервые диагностированным инсультом (табл.3.2.1.2.), что, вероятно, связано с большей миграцией моноцитов через поврежденный ГЭБ.

Для сравнения экспрессии toll-like рецепторов на моноцитах, в том числе и на активированных моноцитах, с учетом степени тяжести в связи с небольшой численностью группы больные ишемическим инсультом были разделены на пациентов с легкой степенью тяжести (NHISS $4,2 \pm 1,6$) и на пациентов с более тяжелой степенью инсульта (NHISS $11,4 \pm 4$). Выявлено, что у пациентов с легкой степенью тяжести общее количество моноцитов, количество активированных моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, TLR4, было больше, нежели у больных с тяжелой степенью заболевания (u ; $p < 0,001$) (табл.3.2.1.3).

Таким образом, общее количество моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, TLR4, количество активированных моноцитов, количество активированных моноцитов с экспрессированными TLR2, TLR4 у больных ишемическим инсультом увеличивалось, причем при тяжелом течении инсульта отмечалось снижение данных показателей, что может иметь клинико-прогностическое значение.

Таблица 3.2.1.1.

Количество моноцитов периферической крови, экспрессирующих TLR2, TLR4, у больных ишемическим инсультом, Me [P25-P75]

Группа наблюдения	CD14+ (%)	CD14+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD282+ (%)	CD14+ CD282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD284+ (%)	CD14+ CD284+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR + 282+ (%)	CD14+ HLADR+ 282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR + 284+ (%)	CD14+ HLADR+ 284+ (x10 ² /мкл)	MFI
Клиническая группа (n=20)	8,65 (7,6; 10,7) ¹	8,49 (6,96; 11,63) ¹	39,55 (32,6; 43,8) ¹	3,64 (2,2; 4,87) ¹	37,6 (34,6; 51,6) ¹	2,88 (2,69; 3,84) ¹	94,85 (91,87; 95,47)	8,07 (6,41; 10,67) ¹	36,85 (28,7; 44,45) ¹	3,45 (1,78; 4,17) ¹	34 (29,62; 48,6) ¹	2,58 (2,15; 3,06) ¹	337,75 (244,5; 446) ¹
Контрольная группа (n=40)	5,95 (5,1; 6,55)	4,55 (4,3; 5,68)	22,6 (21,8; 26,75)	1,16 (0,94; 1,61)	25,4 (22,3; 31,3)	1,32 (1,07; 1,42)	93,25 (91,5; 94,8)	4,31 (4,06; 5,27)	22,7 (20,4; 26,62)	0,98 (0,82; 1,42)	25,65 (22,5; 27,1)	1,13 (0,93; 1,31)	124 (95; 153,1)

Примечание: u,¹ – p<0,001 – статистически значимая разница показателей между больными инсультом и здоровыми резидентами.

Таблица 3.2.1.2.

Количество моноцитов периферической крови, экспрессирующих TLR2, TLR4, у больных с первичным и повторным ишемическим инсультом, Me [P25-P75]

Группа наблюдения	CD14+ (%)	CD14+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD282+ (%)	CD14+ CD282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD284+ (%)	CD14+ CD284+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR + (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ 282+ (%)	CD14+ HLADR+ 282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ 284+ (%)	CD14+ HLADR+ 284+ (x10 ² /мкл)	MFI
Клиническая группа Ишемич. инсульт (n=10)	9,45 (7,82; 11,45) ^{1,5}	9,9 (7,13; 13,6) ¹	39,55 (35,45; 43,8) ¹	4,11 (2,71; 5,28) ¹	37,6 (33,55; 51,55) ¹	3,38 (2,71; 6,91) ¹	94,85 (92,5; 95,5)	9,2 (6,62; 12,91) ¹	37,15 (28,3; 44,8) ¹	3,66 (2,09; 4,85) ¹	32,7 (28,3; 47,8) ¹	2,8 (2,09; 6,03) ¹	139,25 (107,5; 147) ⁴

	Повтор-инсульт (n=10)	7,4 (4,1; 9,4)	7,58 (6,96; 9,4) ²	42,9 (30; 44,9) ²	3,25 (2,09; 4,03) ²	37,7 (36,7; 38,6) ³	2,78 (2,69; 2,98) ³	93,6 (91,6; 96,2)	7,21 (6,28; 8,94) ²	36,3 (24,1; 43,1)	3,11 (1,89; 3,8) ²	35,65 (32,2; 43,2) ³	2,51 (2,39; 2,66) ³	261 (239; 468,5) ³
Контроль-ная группа (n=40)		5,95 (5,1; 6,55)	4,55 (4,3; 5,68)	22,6 (21,8; 26,75)	1,16 (0,94; 1,61)	25,4 (22,3; 31,3)	1,32 (1,07; 1,42)	93,25 (91,5; 94,8)	4,31 (4,06; 5,27)	22,7 (20,4; 26,62)	0,98 (0,82; 1,42)	25,65 (22,5; 27,1)	1,13 (0,93; 1,31)	124 (95; 153,1)

Примечание: u_1^1 – $p < 0,001$ – разница между показателями больных с первичным случаем инсульта и исследуемыми контрольной группы; u_2^2 – $p < 0,01$; u_3^3 – $p < 0,001$ – отличие показателей больных с повторным ОНМК со здоровыми резидентами; u_4^4 – $p < 0,001$; u_5^5 – $p < 0,05$ – сравнение показателей больных с впервые диагностированным инсультом и пациентов с повторным инфарктом мозга.

Таблица 3.2.1.3.

Уровень экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом разной степени тяжести, Me [P25-P75]

Группа наблюдения		CD14+ (%)	CD14+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD282+ (%)	CD14+ CD282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD284+ (%)	CD14+ CD284+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR + 282+ (%)	CD14+ HLADR+ 282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR + 284+ (%)	CD14+ HLADR+ 284+ (x10 ² /мкл)	MFI
Клиническая группа (n=20)	Легкая степень (n=10)	11 (9,7; 11,45) ^{2,3}	12,2 (9,4; 13,6) ^{2,3}	42,9 (42,9; 43,8) ^{1,3}	4,97 (4,03; 5,28) ^{2,3}	36,7 (36,7; 51,1) ³	3,98 (3,45; 6,91) ^{2,3}	95,1 (95,1; 95,5)	11,2 (8,94; 12,91) ^{2,3}	43,1 (42,5; 44,7) ^{1,3}	4,21 (3,8; 4,85) ^{2,3}	34,8 (33,2; 47,7) ³	3,09 (2,97; 6,03) ^{2,3}	120,5 (98,5; 138,5)
	Тяжелая степень (n=10)	7,4 (4,92; 7,77) ⁴	6,97 (6,84; 7,43) ⁴	33,1 (29,3; 42,7)	2,31 (2; 3,07) ⁴	38,1 (32,1; 38,6) ⁴	2,69 (2,49; 2,75) ⁵	92,1 (91,8; 94,6)	6,42 (6,31; 7,01) ⁴	27,3 (26,4; 30,1)	1,82 (1,71; 2,81) ⁴	30,6 (29,3; 38,1) ⁵	2,23 (1,98; 2,48) ⁵	168 (133,4; 246,1) ^{1,4}
Контрольная группа (n=40)		5,95 (5,1; 6,55)	4,55 (4,3; 5,68)	22,6 (21,8; 26,75)	1,16 (0,94; 1,61)	25,4 (22,3; 31,3)	1,32 (1,07; 1,42)	93,25 (91,5; 94,8)	4,31 (4,06; 5,27)	22,7 (20,4; 26,62)	0,98 (0,82; 1,42)	25,65 (22,5; 27,1)	1,13 (0,93; 1,31)	124 (95; 153,1)

Примечание: u_1^1 – $p < 0,05$; u_2^2 – $p < 0,001$ – сравнение показателей больных с легкой степенью тяжести и пациентов с тяжелой степенью заболевания; u_3^3 – $p < 0,001$ – отличия между показателями у больных с легкой степенью тяжести и контрольной группы; u_4^4 – $p < 0,05$; u_5^5 – $p < 0,001$ – разница показателей больных с тяжелой степенью заболевания с показателями здоровых исследуемых.

3.2.2. Взаимосвязь уровня экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови и количества лейкоцитов (нейтрофилов и лимфоцитов) у больных ишемическим инсультом

Одной из задач нашего исследования являлось изучение корреляционных связей между общим количеством моноцитов и количеством активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, и содержанием общего количества лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов как в норме, так и у больных ишемическим инсультом. Среди исследуемых контрольной группы умеренная обратная корреляционная связь была найдена между количеством активированных моноцитов и количеством лейкоцитов ($R = -0,5$; $p = 0,04$), сильная прямая связь MFI с количеством моноцитов (табл.3.2.2.1.). В обеих группах наблюдения отмечалась сильная положительная связь количества моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, количества активированных моноцитов, в том числе с экспрессированными TLR2, TLR4 с общим количеством моноцитов (табл.3.2.2.1.; 3.2.2.2.).

Таблица 3.2.2.1.

Коэффициент корреляции Спирмена между экспрессией TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови и количеством лейкоцитов (лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов) у относительно здоровых резидентов, $n = 40$

показатели	Кол-во лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)	Кол-во нейтрофилов ($\times 10^9/\text{л}$)	Кол-во лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)	Кол-во моноцитов ($\times 10^2/\text{мкл}$)
CD14+CD282+ (%)	$R = -0,1$ $p = 0,69$	$R = -0,1$ $p = 0,91$	$R = -0,1$ $p = 0,83$	$R = 0,7$ $p = 0,001$
CD14+CD282+ ($\times 10^2/\text{мкл}$)	$R = -0,2$ $p = 0,39$	$R = -0,2$ $p = 0,46$	$R = -0,2$ $p = 0,42$	$R = 0,9$ $p < 0,001$
CD14+CD284+ (%)	$R = -0,1$ $p = 0,79$	$R = 0,1$ $p = 0,72$	$R = 0,2$ $p = 0,46$	$R = 0,3$ $p = 0,26$
CD14+CD284+ ($\times 10^2/\text{мкл}$)	$R = -0,3$ $p = 0,15$	$R = -0,3$ $p = 0,28$	$R = -0,02$ $p = 0,48$	$R = 0,8$ $p < 0,001$
CD14+HLADR+CD282+ (%)	$R = -0,1$ $p = 0,84$	$R = -0,2$ $p = 0,33$	$R = -0,1$ $p = 0,62$	$R = 0,6$ $p = 0,03$
CD14+HLADR+CD282+ ($\times 10^2/\text{мкл}$)	$R = -0,2$ $p = 0,08$	$R = 0,2$ $p = 0,37$	$R = -0,2$ $p = 0,34$	$R = 0,9$ $p < 0,001$
CD14+HLADR+CD284+ (%)	$R = -0,1$ $p = 0,36$	$R = 0,2$ $p = 0,36$	$R = 0,2$ $p = 0,39$	$R = 0,2$ $p = 0,47$
CD14+HLADR+CD284+ ($\times 10^2/\text{мкл}$)	$R = 0,1$ $p = 0,61$	$R = 0,2$ $p = 0,37$	$R = 0,2$ $p = 0,42$	$R = 0,9$ $p < 0,001$

CD14+HLADR+ (%)	R= -0,3 p=0,16	R= -0,4 p=0,06	R= -0,3 p=0,24	R= -0,3 p=0,23
CD14+HLADR+ (x10 ² /мкл)	R= -0,5 p=0,04	R= -0,1 p=0,79	R= -0,3 p=0,14	R= 0,9 p<0,001
MFI	R= -0,3 p=0,24	R= -0,2 p=0,36	R= -0,2 p=0,49	R= 0,9 p<0,001

Примечание: корреляционные связи между показателями исследуемых контрольной группы не выявлены.

Таблица 3.2.2.2.

Коэффициент корреляции Спирмена между экспрессией TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови и количеством лейкоцитов (лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов) у больных ишемическим инсультом, n=20

показатели	Кол-во лейкоцитов (x10 ⁹ /л)	Кол-во нейтрофилов (x10 ⁹ /л)	Кол-во лимфоцитов (x10 ⁹ /л)	Кол-во моноцитов (x10 ² /мкл)
CD14+CD282+ (%)	R= 0,2 p=0,61	R= 0,1 p=0,82	R= 0,4 p=0,26	R= 0,8 p=0,005
CD14+CD282+ (x10 ² /мкл)	R= 0,1 p=0,78	R= 0,02 p=0,95	R= 0,4 p=0,32	R= 0,9 p<0,001
CD14+CD284+ (%)	R= -0,4 p=0,29	R= -0,4 p=0,26	R= 0,1 p=0,73	R= 0,2 p=0,66
CD14+CD284+ (x10 ² /мкл)	R= -0,1 p=0,76	R= -0,2 p=0,59	R= 0,4 p=0,35	R= 0,9 p<0,001
CD14+HLADR+CD282+ (%)	R= 0,2 p=0,65	R= 0,1 p=0,82	R= 0,5 p=0,21	R= 0,9 p=0,002
CD14+HLADR+CD282+ (x10 ² /мкл)	R= 0,2 p=0,65	R= 0,1 p=0,82	R= 0,5 p=0,21	R= 0,9 p<0,001
CD14+HLADR+CD284+ (%)	R= -0,4 p=0,35	R= -0,4 p=0,29	R= 0,2 p=0,69	R= 0,2 P=0,63
CD14+HLADR+CD284+ (x10 ² /мкл)	R= -0,1 p=0,77	R= -0,2 p=0,61	R= 0,4 p=0,26	R= 0,9 p<0,001
CD14+HLADR+ (%)	R= -0,4 p=0,38	R= -0,3 p=0,42	R= -0,4 p=0,29	R= 0,1 p=0,73
CD14+HLADR+ (x10 ² /мкл)	R= 0,2 p=0,57	R= 0,2 p=0,65	R= 0,2 p=0,61	R= 0,9 p<0,001
MFI	R= 0,1 p=0,78	R= 0,02 p=0,95	R= 0,4 p=0,32	R= 0 p=1

Таким образом, в условиях нормы количество активированных моноцитов обратно зависит от общего количества лейкоцитов. При повышении общего количества моноцитов MFI, косвенно показывающий уровень экспрессии TLR2, TLR4, увеличивается, чего не наблюдается при ишемическом инсульте.

3.2.3. Экспрессия TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом в зависимости от носительства генетического полиморфизма и генетического индекса

Среди пациентов с ишемическим инсультом, у которых проводилось исследование моноцитов, экспрессирующих TLR2, носителей Gln-аллеля оказалось недостаточным для статистического расчета, поэтому данная группа не принималась во внимание. Среди здоровых – носителей различных аллелей *TLR2* (Arg753Gln) – разницы в количестве моноцитов, экспрессирующих TLR2, количестве активированных моноцитов, в том числе с экспрессируемым TLR2, MFI не выявлено (табл.3.2.3.1.). У исследуемых как контрольной, так и клинической группы носителей различных аллелей генетического полиморфизма *TLR4* (Asp299Gln) значимых отличий в количестве моноцитов, экспрессирующих одноименный рецептор, а также между значениями MFI найдено не было (табл.3.2.3.2.).

Исследование количества моноцитов с экспрессией TLR2, TLR4, в том числе и активированных моноцитов, с учетом генетического индекса, не выявило разницы значений у здоровых резидентов, однако среди больных инсультом в группе с высоким IGI обнаружено снижение количества моноцитов с экспрессированным TLR2, количества активированных моноцитов и количества активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, по сравнению с больными с низким IGI ($p < 0,05$), (табл. 3.2.3.3.).

Таким образом, как среди больных, так и у здоровых не удалось выявить связи между носительством различных аллелей изучаемого полиморфизма TLR2, TLR4 и экспрессией одноименных рецепторов на моноцитах. Вероятно, это связано с недостаточным количеством наблюдений. Однако нами отмечена зависимость количества моноцитов, в том числе и активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, от количества предиктивных для ОНМК аллелей в геноме.

Таблица 3.2.3.1.

Носительство генетического полиморфизма *TLR2*(Arg753Gln) и степень экспрессии данного рецептора на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом, Me [P25–P75]

Группа наблюдения	полиморфизм	аллель	CD14+ CD282+ (%)	CD14+CD282 + (10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR+ (10 ² /мкл)	CD14+HLADR+ CD282+ (%)	CD14+HLADR +CD282+ (10 ² /мкл)	MFI
Клиническая группа (n=20)	<i>TLR2</i> (Arg753Gln)	-753Arg	34,9 (30,5;35,95) ¹	3,64 (2,2;4,87) ¹	94,85 (91,87;95,47) ¹	8,1 (6,41;10,67) ¹	36,85 (28;44,45) ²	3,45 (1,78;4,17) ¹	337,7 (244,5;446) ¹
Контрольная группа (n=40)	<i>TLR2</i> (Arg753Gln)	-753Arg	22,8 (21,25;26,8)	1,08 (0,85;1,65)	93,4 (91,2;94,9)	4,3 (3,96;5,25)	22,7 (19,8;26,65)	0,98 (0,77;1,46)	117,5 (91;154,75)
		-753Gln	22,8 (21,25;30,4)	1,25 (0,86;1,77)	93,1 (92,05;96,05)	4,98 (4,28;5,38)	22,7 (19,95;30,35)	1,19 (0,74;1,61)	131,5 (107,75;163)

Примечание: u_1^1 – $p < 0,001$; u_2^2 – $p < 0,01$ – статистически значимая разница между показателями больных инсультом и носителей одноименного аллеля контрольной группы; у здоровых резидентов между носителями разных аллелей статистически значимых отличий найдено не было.

Таблица 3.2.3.2.

Носительство генетического полиморфизма *TLR4* (Asp299Gln) и уровень экспрессии данного рецептора на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом, Me [P25–P75]

Группа наблюдения	полиморфизм	аллель	CD14+CD284 + (%)	CD14+CD284 + (10 ² /мкл)	CD14+HLAD R+ (%)	CD14+HLAD R+ (10 ² /мкл)	CD14+HLAD R+CD284+(%))	CD14+HLADR +CD284+TLR4(%)	MFI
Клиническая группа (n=20)	<i>TLR4</i> (Asp299Gly)	-299Asp	38,6 (34,6;62,05) ¹	3,45 (2,55;5,93) ¹	95,1 (93,1;96,2)	8,94 (6,35;12,34) ¹	38,1 (30,4;55,35) ¹	2,97 (2,23;5,05) ¹	374 (220,2;555,7) ¹
		-299Gly	37,6 (33,55;51,57) ²	2,88 (2,69;3,84) ³	94,85 (91,87;95,47)	8,07 (6,41;10,67) ²	34 (29,62;48,6) ²	2,58 (2,15;3,06) ³	337,75 (244,5;446) ³
Контрольная группа (n=40)	<i>TLR4</i> (Asp299Gly)	-299Asp	25,2 (21,55;31,3)	1,27 (1,02;1,4)	93,4 (91,2;94,9)	4,3 (3,96;5,19)	25,7 (19,5;27,1)	1,12 (0,8;1,26)	117,5 (91;143)
		-299Gly	30,1 (25,2;31,8)	1,38 (1,22;1,45)	92,6 (91,6;97)	4,36 (4,27;5,37)	26,6 (25,6;28,8)	1,24 (1,12;1,38)	131,5 (98,5;158)

Примечание: u_1^1 – $p < 0,001$ – сравнение показателей больных инсультом – носителей Asp–аллеля с показателями носителей одноименного аллеля контрольной группы; u_2^2 – $p < 0,01$; u_3^3 – $p < 0,001$ – сравнение показателей больных инсультом – носителей Gly–аллеля с носителями одноименного аллеля контрольной группы; при сравнении показателей между носителями дикого и рискового аллеля внутри наблюдаемых групп отличий не выявлено.

Таблица 3.2.3.3.

Степень экспрессии и активация TLR2, TLR4 в зависимости от генетического индекса у больных ишемическим инсультом, Me [P25–P75]

Показатели	генетический индекс (IGI)			
	клиническая группа, n=20		контрольная группа, n=40	
	1,4–2 (n=9)	более 2 (n=11)	1,4–2 (n=26)	более 2 (n=14)
CD14+CD282+ (%)	44,9 (42,9;46,6)^{1,4}	35,2 (32,6;35,7)³	21,95 (18,15;29,07)	24,6 (22,5;26,62)
CD14+CD282+ (10 ² /мкл)	3,25 (2,61;4,31) ¹	3,75 (2,42;5,07) ³	1,02 (0,76;1,67)	1,27 (1,05;1,5)
CD14+CD284+ (%)	36,7 (33,45;52,95) ¹	38,55 (37;42,92) ³	24,95 (21,17;31)	26,9 (24,3;30,7)
CD14+CD284+ (10 ² /мкл)	2,78 (2,6;3,21) ²	3,33 (2,69;4,95) ³	1,25 (1,03;1,41)	1,38 (1,14;1,75)
CD14+HLADR+ (%)	95,1 (94,72;96,37)⁴	91,7 (91,25;92,75)	93,5 (92,52;95)	91,2 (90,75;93,67)
CD14+HLADR+ (10 ² /мкл)	7,21 (6,82;9,01) ¹	8,81 (6,38;11,77) ³	4,29 (3,79;5,22)	4,65 (4,13;5,29)
CD14+HLADR+CD282+ (%)	42,8 (30,42;44,45)^{1,4}	30,65 (29,4;34,72)³	21,7 (17,92;28,57)	23,55 (21,95;25,37)
CD14+HLADR+CD282+ (10 ² /мкл)	3,11 (2,41;3,94) ¹	3,05 (1,86;4,42) ³	0,91 (0,68;1,49)	1,03 (0,89;1,31)
CD14+HLADR+CD284+ (%)	34 (30,27;52,65) ¹	34,35 (29,85;41,6) ³	25,3 (17,5;27,57)	26,5 (23,47;26,97)
CD14+HLADR+CD284+ (10 ² /мкл)	2,51 (2,29;2,82) ²	2,74 (2,28;4,07) ³	1,14 (0,67;1,27)	1,13 (0,97;1,38)
MFI	301,5 (173;376,3) ¹	364,8 (255,5;512,1) ³	117,3 (89;147,3)	132,3 (109,7;162,2)

Примечание: u,¹– p<0,05; u,²– p<0,001– сравнение показателей больных ОНМК с индексом 1,4–2 с пациентами контрольной группы, имеющими аналогичный индекс; u,³ – p<0,001– сравнение показателей больных ОНМК с индексом более 2 с пациентами контрольной группы, имеющими аналогичный индекс; u,⁴– p<0,05 – разница показателей больных с IGI=1,4–2 и показателей больных, имеющих индекс более 2; в группе контроля между показателями пациентов с IGI = 1,4–2 и доноров с IGI = более 2 значимой разницы не выявлено.

3.3. Концентрация IL-1 β , IL-6, IL-10 у больных ишемическим инсультом – носителей полиморфизмов толл-подобных рецепторов

3.3.1. Содержание IL-1 β , IL-6, IL-10 в крови больных ишемическим инсультом в динамике острого периода заболевания

В динамике острого периода ишемического инсульта мы отметили увеличение уровня исследуемых цитокинов, причем IL-1 β максимально к концу острого периода, IL-6 – к окончанию формирования инфаркта мозга (10 сутки), пик уровня IL-10 наблюдался в острейший период заболевания (1-е сутки) (табл.3.3.1.1.).

Таблица 3.3.1.1.

Содержание цитокинов в крови больных мозговым инсультом в динамике острого периода заболевания, пг/мл, Me [P25–P75]

Цитокины	Клиническая группа, n=68			Контрольная группа, n=78
	1-е сутки (n=68)	10-е сутки (n=56)	21-е сутки (n=33)	
IL-1 β	0 (0; 0) ^{3,4}	1,09 (0;10,98) ¹	1,25(0; 12,36) ¹	0(0; 0)
IL-6	6,29(3,72;13,17) ^{1,3,4}	7,64(4,54;37,39) ¹	3,07(2;5,02) ¹	1,74(1,05;3,31)
IL-10	0,65(0;5,86) ²	0,03(0;0,24)	не исследован	0(0; 0)

Примечание: u,¹ – p<0,0001; u,² – p<0,05 – сравнение показателей клинической группы с показателями здоровых резидентов; u,³ – p<0,0001 – разность концентраций интерлейкина у больных в 1-е сутки и на 21 сутки от начала инсульта; u,⁴ – p<0,0001 – отличие значений интерлейкина в 1-е сутки от 10-х суток ОНМК;

У лиц с повторным церебрососудистым эпизодом на 10-е сутки заболевания содержание IL-1 β превышало в 9,6 раза (p<0,05) аналогичный показатель у больных с первичным инсультом. Максимальный уровень IL-6 выявлен на 10-е сутки болезни для обеих групп больных. Концентрация IL-10 увеличивалась незначительно, преимущественно в первые сутки болезни у пациентов с повторным ОНМК (табл.3.3.1.2.).

Таблица 3.3.1.2.

Концентрация IL-1 β , IL-6 в крови больных с повторным ишемическим инсультом в динамике острого периода заболевания, пг/мл, Me [P25–P75]

Цитокины	Клиническая группа, n=68						Контрольная группа, n=78
	1-е сутки (n=68)		10-е сутки (n=44)		21-е сутки (n=36)		
	Ишемический инсульт (n=51)	Повтор. ишемич. инсульт (n=17)	Ишемический инсульт (n=30)	Повтор. ишемич. инсульт (n=14)	Ишемический инсульт (n=18)	Повтор. ишемич. инсульт (n=8)	
IL-1 β	0 (0;0)	0 (0;0)	1,09 (0;8,85) ⁴	10,51 (1,34;20,26) ^{1,2,3}	4,71 (0;12,92) ^{4,5}	3,19 (0;15,04)	0 (0; 0)
IL-6	6,88 (4,06;13,51) ³	5,92 (3,48;9,32) ³	7,15 (4,68;28,1) ^{2,3}	8,19 (3,53;13,21) ³	2,97 (2,68;4,79) ⁴	3,36 (1,46;5,22) ⁵	1,74 (1,05;3,31)
IL-10	0,22 (0;5,86) ⁴	2,17 (0;4,64) ⁴	0 (0;0,03)	0,25 (0,25;1,03)	не исследован		0 (0; 0)

Примечание: $u,^1$ – $p < 0,05$ – сравнение показателей у больных с впервые возникшим инсультом и у больных с повторным инсультом в пределах одного временного промежутка; $u,^2$ – $p < 0,05$ – отличие показателей, полученных на 10-е сутки, от показателей в 1-е сутки заболевания у больных с одноименным инсультом; $u,^3$ – $p < 0,001$, $u,^4$ – $p < 0,05$ – разница показателей клинической и контрольной группы; $u,^5$ – $p < 0,05$ – отличие значений, полученных на 21-е сутки, от показателей в 1-е сутки заболевания у больных с одноименным инсультом.

При сравнении концентрации цитокинов у больных с разной степенью тяжести в динамике заболевания оказалось, что содержание IL-1 β значительно выше у пациентов с тяжелой степенью, нежели у исследуемых с легкой и средней степенью тяжести (u , $p < 0,05$), особенно в острейший период заболевания в динамике инсульта. Содержание IL-6 было наибольшим в период формирования инфаркта мозга у тяжело больных и у обследуемых со средней степенью тяжести инсульта (табл.3.3.1.3.). Концентрация IL-10 на 10 сутки от начала ОНМК у тяжелобольных пациентов оказалась выше, чем у пациентов с легкой степенью тяжести (u , $p < 0,05$). В динамике инсульта у исследуемых легкой и средней степени тяжести уровень данного цитокина был максимальным в острейший период и снижался к 10-м суткам заболевания, в то время как у больных с тяжелой степенью заболевания, напротив, наблюдалось увеличение концентрации IL-10 к окончанию периода формирования инфаркта мозга (u , $p < 0,05$) (табл.3.3.1.3.).

3.3.2. Взаимосвязь концентрации IL-1 β , IL-6 с количеством моноцитов периферической крови, экспрессирующих TLR2, TLR4 у больных ишемическим инсультом

У больных ишемическим инсультом обнаружена обратная сильная связь IL-1 β с количеством моноцитов, экспрессирующих TLR4 ($R = -0,8$; $p < 0,001$), отрицательная умеренная связь с количеством активированных моноцитов, экспрессирующих TLR4 ($R = -0,6$; $p = 0,03$) (табл.3.3.2.1.). У здоровых участников исследования связи не найдены (табл. 3.3.2.2.).

Таблица 3.3.2.1.

Коэффициент корреляции Спирмена между экспрессией TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови и IL-1 β , IL-6 у больных ишемическим инсультом (10 сутки заболевания), n=56

IL	CD14+ (%)	CD14+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD282+ (%)	CD14+ CD282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD284+ (%)	CD14+ CD284+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ 282+ (%)	CD14+ HLADR+ 282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ 284+ (%)	CD14+ HLADR+ 284+ (x10 ² /мкл)	MFI
IL-1 β (пг/мл)	R= -0,1 p=0,71	R= -0,1 p=0,77	R= 0,1 p=0,66	R= -0,1 p=0,85	R= -0,8 p=0,001	R= -0,1 p=0,68	R= -0,3 p=0,43	R= 0,02 p=0,95	R= 0,1 p=0,71	R= -0,1 p=0,9	R= -0,6 p=0,03	R= -0,1 p=0,71	R= -0,1 p=0,71
IL-6 (пг/мл)	R= -0,6 p=0,07	R= -0,3 p=0,31	R= -0,3 p=0,35	R= -0,4 p=0,23	R= 0,2 p=0,66	R= -0,3 p=0,31	R= 0,3 p=0,38	R= -0,3 p=0,41	R= -0,3 p=0,38	R= -0,4 p=0,26	R= 0,3 p=0,41	R= -0,3 p=0,36	R= -0,5 p=0,15

Таблица 3.3.2.2.

Коэффициент корреляции Спирмена между экспрессией TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови и IL-1 β , IL-6 у здоровых респондентов, n=74

IL	CD14+ (%)	CD14+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD282+ (%)	CD14+ CD282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ CD284+ (%)	CD14+ CD284+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR+ + (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ 282+ (%)	CD14+ HLADR+ 282+ (x10 ² /мкл)	CD14+ HLADR+ 284+ (%)	CD14+ HLADR+ 284+ (x10 ² /мкл)	MFI
IL-1 β (пг/мл)	R= 0,2 p=0,45	R= 0,2 p=0,32	R= -0,2 p=0,43	R= 0,04 p=0,88	R= 0,4 p=0,06	R= 0,3 p=0,19	R= 0,3 p=0,24	R= 0,2 p=0,34	R= -0,2 p=0,52	R= 0,03 p=0,89	R= 0,4 p=0,08	R= 0,4 p=0,12	R= 0,1 p=0,63
IL-6 (пг/мл)	R= 0,1 p=0,78	R= -0,01 p=0,96	R= -0,1 p=0,74	R= -0,1 p=0,69	R= 0,1 p=0,71	R= -0,1 p=0,67	R= -0,02 p=0,93	R= 0,02 p=0,99	R= -0,2 p=0,48	R= -0,1 p=0,72	R= 0,1 p=0,83	R= -0,02 p=0,94	R= -0,1 p=0,82

3.3.3. Концентрация IL-1 β , IL-6, IL-10 у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания в зависимости от носительства полиморфизма toll-like рецепторов и генетического индекса

При изучении уровня IL-1 β , IL-6 плазмы крови в динамике заболевания в зависимости от носительства генетических вариантов изучаемых полиморфизмов в клинической группе среди носителей минорного аллеля *TLR2* (Arg753Gln) и *TLR9* (T-1237C) выявлена тенденция к повышению уровня IL-1 β и IL-6 на всем протяжении острого периода инсульта, в большей мере к 10-му дню заболевания в отличие от носителей нормального аллеля этих SNP. Содержание IL-1 β было максимальным на 21 сутки, а IL-6 – на 10-е сутки церебрального инсульта у обладателей -299Asp-аллеля *TLR4*, в отличие от пациентов, несущих -299Gly-аллель (u , $p < 0,05$). В целом, при сравнении полученных значений, как в контрольной группе, так и у пациентов клинической группы, носителей различных аллелей полиморфизма генов toll-like рецепторов значимых отличий не выявлено (табл. 3.3.3.2.).

Таблица 3.3.3.1.

Концентрация IL-1 β , IL-6, IL-10 у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания с учетом генетического индекса, Me [P25–P75]

цитокины		Клиническая группа, (n=68)		Контрольная группа, (n=78)	
		генетический индекс		генетический индекс	
		1,4–2	более 2	1,4–2	более 2
IL-1 β (пг/мл)	1сутки	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	1,54 (1,05;3,22)
	10 сутки	5,35 (0;13,81) ²	0 (1,19;9,3)		
	21 сутки	1,25 (0;9,41) ²	7,48 (0;13,81) ⁴		
IL-6 (пг/мл)	1 сутки	5,6 (3,57;11,97) ¹	6,24 (3,77;12,82) ³	0 (0;0,11)	1,83 (1,14;3,3)
	10 сутки	8,52 (4,72;53,93) ¹	7,22 (4,33;15,95) ³		
	21 сутки	2,68 (1,61;3,46) ⁵	4,43 (2,87;6,56) ³		
IL-10 (пг/мл)	1 сутки	0,33 (0;5,65)	0,12 (0;0,79)		
	10 сутки	0,65 (0;5,11)	0,08 (0;0,24)		

Примечание: u^1 – $p < 0,001$; u^2 – $p < 0,05$ – сравнение показателей пациентов клинической группы с IGI=1,4–2 со здоровыми исследуемыми, имеющими аналогичный индекс; u^3 – $p < 0,001$; u^4 – $p < 0,05$ – сравнение показателей пациентов клинической группы с IGI=2 и более со здоровыми исследуемыми, имеющими аналогичный индекс; u^5 – $p < 0,05$ – разница между показателями больных с индексом 1,4–2 и больных с индексом более 2; в контрольной группе между показателями респондентов, имеющих индекс 1,4–2, и респондентами с индексом 2 и более отличий не выявлено.

Исследование концентрации интерлейкинов с учетом генетического индекса показало, что среди здоровых с высоким IGI имеется тенденция к повышению уровня IL-1 β и IL-6. У больных с индексом более 2-х к концу острого периода заболевания сохранялись высокие концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β и IL-6, $p < 0,05$) и сниженные у IL-10 ($p < 0,05$) (табл.3.3.3.1.).

Таким образом, концентрация цитокинов у исследуемых – носителей различных аллелей полиморфизма генов толл-подобных рецепторов – различна и переменна, тогда как носительство двух и более предиктивных по отношению к ишемическому инсульту аллелей в геноме более значимо влияет на уровень интерлейкинов, в частности, повышение провоспалительных и снижение уровня противовоспалительных белков к концу острого периода заболевания. Это, в свою очередь, создает цитокиновый дисбаланс, влияющий на завершение формирования зоны инфаркта мозга и, соответственно, на постинсультное восстановление неврологических функций.

Таблица 3.3.1.3.

Содержание IL-1 β , IL-6, IL-10 у больных ишемическим инсультом разной степени тяжести, пг/мл, Ме [P25–P75]

цитокины	Легкая степень тяжести (n=20)			Средняя степень тяжести (n=26)			Тяжелая степень (n=22)			Контрольная группа (n=78)
	1сутки	10 сутки	21 сутки	1сутки	10 сутки	21 сутки	1сутки	10 сутки	21 сутки	
IL-1 β	0 (0;0) ¹	3,05 (0;8,85) ⁴	6,93 (0;11,6) ^{1,6}	0 (0;0) ⁵	2,67 (0;14,29) ⁷	7,48 (0;12,36) ^{2,8}	0,23 (0;6,72)	2,39 (0;13,81) ²	0 (0;0)	0 (0; 0)
IL-6	4,78 (4,03;6,45) ^{1,3}	7,09 (4,33;17,51) ³	2,87 (2,46;3,14)	5,97 (3,55;13,4) ³	6,19 (4,19;11,7) ³	2,87 (2;4,99) ^{2,8}	9,26 (4,39;20,1) ³	11,68 (5,6;85,95) ³	3,56 (2,78;6,82) ^{2,9}	1,74 (1,05;3,31)
IL-10	3 (0;4,13)	0 (0;0,12) ^{1,4}	–	0,65 (0;2,83) ²	0 (0;0,08) ⁷	–	1,96 (0,76;8,03) ³	2,14 (1,98;2,3)	–	0 (0; 0)

Примечание: u_1 – $p < 0,05$ – статистически значимая разница больных легкой степени тяжести и больных с тяжелой степенью инсульта в одноименный временной промежуток; u_5 – $p < 0,05$ – статистически значимая разница больных средней степени тяжести и больных с тяжелой степенью инсульта в одноименный временной промежуток; u_2 – $p < 0,05$, u_3 – $p < 0,001$ – сравнение данных клинической и контрольной групп; u_4 – $p < 0,05$ – разница показателей между 10-ми и 1-ми сутками заболевания у больных с легкой степенью тяжести; u_6 – $p < 0,05$ – отличие показателей между 21-ми и 1-ми сутками заболевания у больных с легкой степенью тяжести; u_7 – $p < 0,05$ – сравнение показателей на 10-е и 1-е сутки заболевания у больных со средней степенью тяжести; u_8 – $p < 0,05$ – разница показателей между 21-ми и 1-ми сутками заболевания у больных со средней степенью тяжести; u_9 – $p < 0,05$ – разница показателей между 21-ми и 1-ми сутками заболевания у больных с тяжелой степенью заболевания.

Таблица 3.3.3.2.

Содержание IL-1 β , IL-6, IL-10 (пг/мл) у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания в зависимости от генетического полиморфизма toll-like рецепторов, пг/мл, Me [P25–P75]

TLR	аллель	Клиническая группа (n=68)								Контрольная группа (n=78)	
		IL-1 β			IL-6			IL-10		IL-1 β	IL-6
		1 сут.	10 сут.	21 сут.	1 сут.	10 сут.	21 сут.	1 сут.	10 сут.		
<i>TLR2</i> (Arg753 Gln)	-753Arg	0 (0;0)	1,09 (0;10,78) ²	1,25 (0;12,36)	6,29 (3,72;13,16) ¹	7,31 (4,54;19,25) ^{1,6}	3,07 (2;5,02) ⁸	0,65 (0;5,86)	0,03 (0;0,24)	0 (0;0)	1,74 (1,04;3,32)
	-753Gln	0 (0;0)	8,85 (0;22,79) ^{2,3}	8,58 (1,73;11,46) ⁵	7,67 (4,27;33,93) ¹	15,61 (9,63;37,38) ¹	3,55 (2,85;4,77)	–	–	0 (0;0)	1,64 (1,14;2,38)
<i>TLR3</i> (Phe412 Leu)	-412Phe	0 (0;0)	1,09 (0;10,78)	1,25 (0;10,64) ^{2,5}	6,34 (3,96;14,2) ¹	7,22 (4,43;19,02) ¹	2,87 (2;5,02) ⁸	0,65 (0;5,86)	0,03 (0;0,24)	0 (0;0)	1,78 (1,12;3,38)
	-412Leu	0 (0;0)	1,09 (0;8,37)	3,19 (0;16,14) ⁵	6,34 (3,96;14,2) ¹	7,09 (4,54;17,25) ¹	3,36 (2,8;5,71) ⁸	0,11 (0;3,81)	0 (0;0,24)	0 (0;0)	1,9 (1,44;3,32)
<i>TLR4</i> (Asp299 Gly)	-299Asp	0 (0;0)	1,09 (0;8,85) ²	3,74 (0;15,86) ⁵	6,34 (3,86;13,62) ¹	7,64 (4,3;37,38) ^{1,6}	3,21 (2,31;5,45) ⁹	0,65 (0;5,86)	0,04 (0;0,24)	0 (0;0)	1,83 (1,05;3,45)
	-299Gly	0 (0;0)	5,9 (0;12,16) ^{2,4}	4,44 (0;10,36)	6,01 (3,28;14,25) ¹	6,08 (3,19;11,93) ¹	2,77 (1,85;3,92) ⁸	–	–	0 (0;0)	1,83 (1,29;3,77)
<i>TLR6</i> (Ser249 Pro)	-249Ser	0 (0;0)	1,09 (0;8,85)	2,5 (0;12,02)	5,92 (4,01;12,77) ¹	8,11 (4,23;19,25) ¹	2,87 (2,14;4,55)	0,65 (0;5,14)	0 (0;0,24)	0 (0;0)	1,74 (1,04;2,99)
	-249Pro	0 (0;0)	1,09 (0;10,78) ²	2,5 (0;12,84)	6,88 (3,57;12,82) ¹	7,64 (4,67;22,58) ¹	3,07 (1,95;5,12) ⁸	0,65 (0;5,86)	0,24 (0;1,03)	0 (0;0)	1,83 (1,14;3,28)
<i>TLR9</i> (T – 1237 C)	-1237T	0 (0;0)	1,09 (0;10,78) ²	1,25 (0;13,32) ⁵	6,08 (3,72;13,16) ¹	7,31 (4,48;22,58) ^{1,7}	3,07 (2;5,16) ⁸	0,65 (0;5,86)	0,04 (0;0,24)	0 (0;0)	1,74 (1,04;3,32)
	-1237C	0 (0;0)	8,85 (0;11,19) ^{2,3}	1,25 (0;9,41)	8,04 (3,98;25,28) ¹	15,02 (5,26;58,17) ¹	3,7 (2,09;6,69)	2,83 (1,96;10,48)	0 (0;0)	0 (0;0)	1,54 (0,75;1,93)

Примечание: u¹ – p<0,001, u² – p<0,05 – сравнение показателей цитокинов у носителей одноименных аллелей клинической и контрольной групп; u³ – p<0,05, u⁴ – p<0,001 – разница показателей IL-1 β на 10-е сутки и значений полученных в 1-е сутки инсульта; u⁵ – p<0,05 – сравнение показателей IL-1 β на 21-е сутки и значений, полученных в 1-е сутки инсульта; u⁶ – p<0,05, u⁷ – p<0,001 – отличие значений IL-6 на 10-е сутки от 1-х суток инсульта; u⁸ – p<0,05, u⁹ – p<0,001 – отличие значений IL-6 между 21-ми и 1-ми сутками инсульта; при сравнении концентраций цитокинов между носителями разных аллелей одного рецептора как в клинической, так и в контрольной группе отличий не выявлено.

3.4. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и агрегация тромбоцитов у больных ишемическим инсультом, в том числе с учетом носительства полиморфизма генов толл-подобных рецепторов

3.4.1. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных ишемическим инсультом

Как и в предыдущих исследованиях [88], нами установлено значительное увеличение ЛТА и ЛТИ в остром периоде ОНМК, преимущественно на первые и 10-е сутки болезни (u , $p < 0,001$), (табл. 3.4.1.1.). В динамике заболевания прослеживалась тенденция к постепенному снижению данных показателей к завершению острого периода до контрольных значений.

Таблица 3.4.1.1.

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания, Me [P25–P75]

Показатель	Клиническая группа (n=113)			Контрольная группа (n=98)
	1сут.	10сут.	21сут.	
ЛТА($\times 10^9$ /л)	0,39(0,23;0,51) ¹	0,23(0,15;0,31) ^{1,2}	0,15(0,09;0,19) ^{3,4}	0,13(0,08;0,18)
ЛТИ	5,92(4,74;7,02) ¹	5,57(4,55;6,86) ¹	4,46(3,55;5,43) ^{3,4}	4,48(3,41;5,39)

Примечание: u^1 – $p < 0,001$ – разница показателей клинической группы и показателей здоровых резидентов; u^2 – $p < 0,001$ – сравнение показателей, полученных на 10-е сутки, с 1-ми сутками ОНМК; u^3 – $p < 0,001$ – отличие показателей, полученных на 21-е сутки, от показателей 1-ых суток заболевания; u^4 – $p < 0,001$ – разница показателей между 21-ми и 10-ми сутками инсульта.

У больных с повторным сосудистым эпизодом количество агрегатов и адгезированных к одному лимфоциту тромбоцитов на 21-е сутки мозгового удара было больше, чем у обследуемых с впервые диагностированным инсультом (u , $p < 0,05$; u , $p < 0,001$), что, вероятно, связано с более активной аутоиммунизацией к тканям мозга у этой категории больных (табл.3.4.1.2.).

Таблица 3.4.1.2.

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс у больных с повторным ишемическим инсультом, Ме [P25–P75]

показатель	Клиническая группа						Контрольная группа (n=94)
	Ишемический инсульт (n=84)			Повторный ишемический инсульт (n=28)			
	1 сутки	10 суток	21 сутки	1 сутки	10 суток	21 сутки	
ЛТА ($\times 10^9/\text{л}$)	0,38 (0,23;0,51) ¹	0,23 (0,15;0,31) ¹	0,11 (0,09;0,17) ³	0,39 (0,26;0,5) ¹	0,25 (0,18;0,3) ¹	0,26 (0,26;0,3) ²	0,13 (0,08;0,18)
ЛТИ	5,92 (4,65;6,91) ¹	5,69 (4,62;6,58) ¹	4,22 (3,21;5,01) ⁴	6,1 (5,1;7,11) ¹	5,13 (4,23;7,2) ²	5,47 (5,31;6,1) ²	4,48 (3,41;5,39)

Примечание: u_1^1 – $p < 0,001$; u_2^2 – $p < 0,05$ – сравнение показателей клинической и контрольной групп; u_3^3 – $p < 0,001$; u_4^4 – $p < 0,05$ – отличия между показателями у больных с впервые диагностированным инсультом и у больных с повторным церебрососудистым эпизодом на 21-е сутки заболевания; при сравнении показателей в 1-е и на 10-е сутки инсульта между группами больных отличий не выявлено.

При исследовании лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и ЛТИ у больных в зависимости от степени тяжести заболевания оказалось, что у пациентов с тяжелой степенью инсульта в острейший период ЛТИ выше, чем у исследуемых с более легкой степенью тяжести заболевания (u , $p < 0,05$), однако в динамике инсульта отмечено, что, чем тяжелее протекает заболевание, тем меньшие значения ЛТА и ЛТИ регистрируются (u , $p > 0,05$) (табл.3.4.1.3.).

Таблица 3.4.1.3.

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс у больных ишемическим инсультом в зависимости от степени тяжести, Ме [P25–P75]

показатель	Легкая степень тяжести (n=33)			Средняя степень тяжести (n=47)			Тяжелая степень (n=33)			Контрольная группа (n=94)
	1сут.	10сут.	21сут.	1сут.	10сут.	21сут.	1сут.	10сут.	21сут.	
ЛТА ($\times 10^9/\text{л}$)	0,37 (0,26; 0,51) ¹	0,28 (0,19; 0,31) ¹	0,17 (0,14; 0,17)	0,36 (0,22; 0,51) ¹	0,23 (0,16; 0,35) ¹	0,11 (0,09; 0,19)	0,41 (0,24; 0,53) ¹	0,21 (0,15; 0,3) ¹	0,14 (0,08; 0,21)	0,13 (0,08; 0,18)
ЛТИ	6,01 (4,57; 6,91) ¹	5,69 (5,32; 7,39) ¹	4,46 (4,27; 5,31)	5,61 (3,84; 6,78) ²	5,37 (4,51; 6,35) ²	5,06 (4,49; 5,35)	6,2 (5,51; 7,22) ^{2,3}	5,6 (4,26; 6,92) ²	3,82 (3,17; 4,96)	4,48 (3,41; 5,39)

Примечание: u_1^1 – $p < 0,001$; u_2^2 – $p < 0,05$ – сравнение показателей больных ишемическим инсультом с показателями здоровых резидентов; u_3^3 – $p < 0,05$ – отличие показателей в 1-е сутки инсульта между тяжелобольными и больными со средней степенью тяжести; при сравнении показателей у больных с легкой степенью тяжести и у пациентов со средней и тяжелой степенью статистической разницы не найдено.

Таким образом, в первые дни ОНМК в периферической крови наблюдалось увеличение лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов и количества адгезированных тромбоцитов к 1 лимфоциту со снижением этих показателей к концу острого периода заболевания. При повторном ишемическом инсульте сохраняются более высокие значения ЛТА и ЛТИ на 21 сутки заболевания. Большое количество ЛТА в 1-е сутки от начала инсульта с последующим значительным снижением их концентрации ассоциировано с тяжелым течением заболевания.

3.4.2. Взаимосвязь степени экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови, концентрации IL-1 β , IL-6 и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных ишемическим инсультом

В контрольной группе были найдены умеренные и сильные отрицательные связи между ЛТА и: общим количеством моноцитов ($R = -0,7$; $p < 0,001$), количеством моноцитов с экспрессированным TLR2 ($R = -0,5$; $p = 0,02$), TLR4 ($R = -0,7$; $p < 0,001$), количеством активированных моноцитов ($R = -0,8$; $p < 0,001$), в том числе и экспрессирующих TLR2 ($R = -0,5$; $p = 0,03$), TLR4 ($R = -0,7$; $p < 0,001$), а также MFI ($R = -0,6$; $p = 0,003$) (табл. 3.4.2.2.). Среди участников клинической группы выявлены средние прямые связи ЛТА с количеством моноцитов, экспрессирующих TLR2 ($R = 0,6$; $p = 0,04$), с количеством активированных моноцитов с экспрессированным TLR2 ($R = 0,7$; $p = 0,012$). ЛТИ связан умеренной прямой связью с количеством моноцитов, экспрессирующих TLR4 ($R = 0,6$; $p = 0,04$), с количеством активированных моноцитов с экспрессированным на мембране TLR4 ($R = 0,6$; $p = 0,04$) (табл.3.4.2.1.).

Таблица 3.4.2.1.

Коэффициент корреляции Спирмена между ЛТА, ЛТИ и количеством моноцитов периферической крови, экспрессирующих TLR2, TLR4, концентрацией IL-1 β , IL-6 у здоровых резидентов, n=40

показатель	IL-1 β (пг/мл)	IL-6 (пг/мл)	CD14+ (%)	CD14+ (x10 ² / мкл)	CD14+ CD282 + (%)	CD14+ CD282+ (x10 ² /мк л)	CD14+ CD284+ (%)	CD14+ CD284+ (x10 ² / мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR + (x10 ² / мкл)	CD14+ HLADR + 282+ (%)	CD14+ HLADR + 282+ (x10 ² / мкл)	CD14+ HLADR + 284+ (%)	CD14+ HLADR + 284+ (x10 ² /м кл)	MFI
ЛТА ($\times 10^9$ /л)	R= 0,1 p=0,67	R= 0,1 p=0,67	R= -0,7 p<0,001	R= -0,7 p<0,001	R=-0,3 p=0,13	R= -0,5 p=0,02	R= -0,3 p=0,22	R= -0,7 p<0,001	R= 0,2 p=0,38	R= -0,8 p<0,001	R= -0,2 p=0,37	R= -0,5 p=0,03	R= -0,1 p=0,77	R= -0,7 p<0,001	R= -0,6 p=0,003
ЛТИ	R= -0,01 p=0,95	R= -0,5 p=0,04	R= 0,1 p=0,83	R= 0,1 p=0,66	R= 0,1 p=0,64	R= 0,1 p=0,7	R= -0,2 p=0,46	R= 0,01 p=0,95	R= 0,1 p=0,77	R= 0,1 p=0,67	R= 0,2 p=0,44	R= 0,1 p=0,71	R= -0,1 p=0,64	R= 0,1 p=0,77	R= 0,1 p=0,75

Таблица 3.4.2.2.

Коэффициент корреляции Спирмена между ЛТА, ЛТИ и количеством моноцитов периферической крови, экспрессирующих TLR2, TLR4, концентрацией IL-1 β , IL-6 у больных ишемическим инсультом (10 сутки заболевания), n=28

показатель	IL-1 β (пг/мл)	IL-6 (пг/мл)	CD14+ (%)	CD14+ (x10 ² / мкл)	CD14+ CD282 + (%)	CD14+ CD282+ (x10 ² /мк л)	CD14+ CD284+ (%)	CD14+ CD284+ (x10 ² / мкл)	CD14+ HLADR+ (%)	CD14+ HLADR R+ (x10 ² / мкл)	CD14+ HLADR + 282+ (%)	CD14+ HLADR + 282+ (x10 ² / мкл)	CD14+ HLADR + 284+ (%)	CD14+ HLADR + 284+ (x10 ² /мк л)	MFI
ЛТА ($\times 10^9$ /л)	R= -0,2 p=0,49	R= -0,3 p=0,41	R= 0,3 p=0,35	R= 0,6 p=0,07	R= 0,6 p=0,04	R= 0,6 p=0,06	R= 0,1 p=0,75	R= 0,5 p=0,11	R= -0,2 p=0,62	R= 0,5 p=0,13	R= 0,7 p=0,012	R= 0,6 p=0,04	R= 0,2 p=0,59	R= 0,5 p=0,09	R= 0,5 p=0,11
ЛТИ	R= 0,3 p=0,42	R= 0,1 p=0,86	R= 0,4 p=0,26	R= 0,5 p=0,09	R= 0,4 p=0,27	R= 0,5 p=0,09	R= -0,1 p=0,86	R= 0,6 p=0,04	R= 0,4 p=0,18	R= 0,5 p=0,08	R= 0,4 p=0,17	R= 0,5 p=0,11	R= 0,1 p=0,79	R= 0,6 p=0,04	R= 0,3 p=0,31

Таким образом, у больных ишемическим инсультом повышение как общего количества моноцитов, так и активированных с экспрессированным TLR2 сопровождается повышением количества лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов. Увеличение общего количества моноцитов и активированных моноцитов, экспрессирующих TLR4, ассоциировано с высоким ЛТИ.

3.4.3. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных ишемическим инсультом, в том числе с учетом носительства полиморфизма генов толл-подобных рецепторов

Изучение ЛТА и ЛТИ у больных ишемическим инсультом в зависимости от генетического полиморфизма toll-like рецепторов выявило разнонаправленные сдвиги показателей у носителей различных аллелей генетического полиморфизма толл-подобных рецепторов. Определено, что в 1-е сутки заболевания у носителей минорного аллеля *TLR9* (T-1237C) количество адгезированных тромбоцитов на лимфоците больше, чем у обладателей дикого аллеля ($u, p < 0,05$) (табл. 3.4.3.1.).

Больные, имеющие IGI=2,4 и более, имели большее значение ЛТА и ЛТИ в 1-е ($u, p < 0,05$) и 10-е ($u, p > 0,05$) сутки инсульта в отличие от больных с меньшим IGI. Нами отмечена следующая тенденция: чем больше предиктивных аллелей в геноме у больного ишемическим инсультом, тем меньшее количество ЛТ-агрегатов регистрируется в кровотоке к 21 суткам заболевания (таблица 3.4.3.2.). Возможно, носительство рискованных аллелей опосредованно, через экспрессию toll-like рецепторов и систему цитокинов, влияет на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию.

Таким образом, носительство отдельных аллельных вариантов не выявило влияния на феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, однако комплексное носительство рискованных аллелей в геноме косвенным путем ассоциировано с изменением этой функции.

Таблица 3.4. 3.1.

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс у больных с ишемическим инсультом – носителей аллелей toll-like рецепторов, Me [P25–P75]

TLR	аллель	Клиническая группа (n=113)						Контрольная группа(n=98)	
		ЛТА($\times 10^9$ /л)			ЛТИ			ЛТА	ЛТИ
		1 сут.	10 сут.	21 сут.	1 сут.	10 сут.	21 сут.		
<i>TLR2</i> (Arg753Gln)	-753Arg	0,39 (0,23;0,51) ¹	0,23 (0,15;0,31) ¹	0,13 (0,09;0,19)	5,92 (4,72;7,03) ¹	5,57 (4,55;6,86) ¹	4,51 (3,6;5,39)	0,13 (0,08;0,18)	4,37 (3,47;5,32)
	-753Gln	0,36 (0,23;0,62) ¹	0,16 (0,12;0,19) ¹	0,1 (0,09;0,15) ²	6,01 (5,42;6,53) ²	4,84 (4,37;6,13) ²	5,11 (4,81;5,76)	0,13 (0,08;0,2)	4,93 (3,91;6,01)
<i>TLR3</i> (Phe412Leu)	-412Phe	0,38 (0,23;0,5) ¹	0,23 (0,15;0,31) ¹	0,13 (0,09;0,19)	5,9 (4,74;6,94) ¹	5,57 (4,53;7,15) ¹	4,5 (3,64;5,35)	0,13 (0,08;0,18)	4,31 (3,45;5,36)
	-412Leu	0,41 (0,27;0,53) ¹	0,23 (0,19;0,31)	0,17 (0,09;0,2)	6,18 (4,79;7,11) ²	6,38 (5,46;8,51)	5,01 (4,12;5,71)	0,12 (0,09;0,17)	4,44 (3,4;5,23)
<i>TLR4</i> (Asp299Gly)	-299Asp	0,39 (0,24;0,51) ¹	0,23 (0,15;0,31) ¹	0,12 (0,09;0,19)	5,81 (4,79;6,89) ¹	5,69 (4,34;7,33) ¹	4,42 (3,51;5,11)	0,13 (0,08;0,17)	4,48 (3,49;5,32)
	-299Gly	0,34 (0,18;0,49) ¹	0,25 (0,19;0,3) ¹	0,19 (0,16;0,26)	6,36 (4,51;7,14) ¹	5,69 (5,11;6,58) ¹	4,94 (4,48;5,81)	0,12 (0,08;0,18)	4,63 (3,61;5,96)
<i>TLR6</i> (Ser249Pro)	-249Ser	0,4 (0,21;0,51) ¹	0,25 (0,2;0,31) ¹	0,12 (0,1;0,19)	5,9 (4,5;7,11) ¹	6,14 (4,32;6,58) ¹	4,86 (4,01;5,53)	0,13 (0,08;0,17)	4,48 (3,51;5,42)
	-249Pro	0,39 (0,24;0,51) ¹	0,23 (0,15;0,31) ¹	0,11 (0,09;0,17)	5,87 (4,81;7,01) ¹	5,56 (4,55;6,53) ¹	4,33 (3,28;5,08)	0,12 (0,08;0,17)	4,44 (3,5;5,23)
<i>TLR9</i> (T-1237C)	-1237T	0,38 (0,23;0,51) ¹	0,23 (0,15;0,31) ¹	0,17 (0,1;0,19)	5,9 (4,74;7,02) ¹	5,55 (4,49;6,51) ¹	4,58 (3,69;5,47)	0,13 (0,08;0,18)	4,44 (3,47;5,34)
	-1237C	0,4 (0,25;0,52) ¹	0,28 (0,21;0,34) ²	0,14 (0,1;0,17)	6,44 (5,55;7,25) ^{1,3}	5,98 (4,37;8,66) ²	4,18 (3,43;4,97)	0,12 (0,09;0,24)	4,34 (3,5;4,79)

Примечание: $u,^1$ – $p < 0,001$; $u,^2$ – $p < 0,05$ – сравнение показателей пациентов клинической группы с показателями здоровых резидентов – носителей одноименной аллели; $u,^3$ – $p < 0,05$ – разница показателей у носителей рискового аллеля и носителей дикого аллеля одноименного рецептора клинической группы; при сравнении показателей у носителей рискового аллеля и носителей дикого аллеля одноименного рецептора контрольной группы отличий не выявлено.

Таблица 3.4.3.2.

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия и лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс у больных ишемическим инсультом в динамике заболевания в зависимости от генетического индекса, Me [P25–P75]

показатель	Клиническая группа, (n=113)									Контрольная группа, (n=98)		
	1,4–1,8			2–2,2			2,4 и более			1,4–1,8	2–2,2	2,4 и более
	1 сутки	10сутки	21сутки	1 сутки	10сутки	21сутки	1 сутки	10сутки	21сутки			
ЛТА ($\times 10^9/\text{л}$)	0,29 (0,19; 0,46) ^{1,3}	0,22 (0,14; 0,3) ²	0,17 (0,15; 0,25)	0,36 (0,23; 0,5) ^{1,6}	0,23 (0,15; 0,31) ¹	0,14 (0,09; 0,19)	0,43 (0,3; 0,53) ^{1,7}	0,26 (0,19; 0,32) ^{1,8}	0,11 (0,08; 0,17)	0,14 (0,09; 0,19)	0,12 (0,08; 0,17)	0,11 (0,06; 0,13)
ЛТИ	5,41 (3,93; 7,14)	6,09 (5,11; 6,58)	5,71 (4,96; 5,91)	5,86 (4,84; 6,92) ^{1,6}	5,13 (4,31; 6,25) ^{1,6}	4,56 (3,64; 5,35)	6,11 (5,1; 7) ^{2,7}	6,26 (5,42; 8,72) ^{2,4}	4,13 (2,92; 4,79)	4,91 (3,7; 5,96) ⁵	3,93 (3,36; 4,57)	4,48 (3,87; 4,82)

Примечание: u^1 – $p < 0,001$; u^2 – $p < 0,05$ – сравнение значений больных ишемическим инсультом и значений здоровых резидентов, имеющих идентичный генетический индекс; u^3 – $p < 0,05$ – отличия показателей больных с IGI=1,4–2 и больных с индексом 2,4 и более; u^4 – $p < 0,05$ – сравнение показателей у больных с индексом 2,4 и более и у больных, имеющих индекс 2–2,2; u^5 – $p < 0,05$ – сравнение показателей между пациентами с IGI=1,4–1,8 и пациентами с индексом 2–2,2 в контрольной группе; u^6 – $p < 0,001$ – сравнение показателей, полученных в 1-е и на 10-е сутки, с 21 сутками заболевания у больных с индексом 2–2,2; u^7 – $p < 0,001$ – сравнение показателей, полученных в 1-е и на 10-е сутки, с 21 сутками заболевания у больных с индексом 2,4 и более; u^8 – $p < 0,001$ – разница показателей, полученных на 10-е и 1-е сутки заболевания у больных, имеющих генетический индекс = 2,4 и более.

3.4.4. Агрегационная активность тромбоцитов у больных ишемическим инсультом

По данным проведенного нами исследования, у пациентов клинической группы на протяжении всего острого периода инсульта в сравнении с группой контроля степень индуцированной агрегации тромбоцитов была сравнительно больше при внесении адреналина ($p < 0,05$; $p < 0,001$), но снижалась при добавлении АДФ в концентрациях 5 и 1,25 мкг/мл ($p < 0,05$; $p < 0,001$), а также коллагена ($p < 0,05$). Спонтанная агрегация тромбоцитов была больше у больных на 10–е сутки заболевания, чем у добровольцев контрольной группы (табл.3.4.4.1.). Скорость агрегации тромбоцитов у больных ишемическим инсультом по отношению к здоровым резидентам снижалась при внесении коллагена, АДФ 1,25 мкг/мл, адреналина ($p < 0,05$; $p < 0,001$). В динамике заболевания скорость агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ 5 мкг/мл, АДФ 1,25 мкг/мл, адреналином, увеличивалась к концу острого периода, скорость же спонтанной агрегации снижалась ($p < 0,05$; $p < 0,001$) (табл.3.4.4.2.).

У пациентов с впервые возникшим ОНМК к завершению острого периода степень и скорость агрегации тромбоцитов при внесении коллагена оказалась выше, нежели у больных с повторным ишемическим инсультом ($p < 0,05$) (табл.3.4.4.3., табл.3.4.4.4.). В динамике у больных первичным ишемическим инсультом степень агрегации, индуцированной коллагеном, АДФ 5 мкг/мл и адреналином, была максимальной к концу острого периода ($p < 0,05$), в то время как у пациентов с повторным ишемическим инсультом при внесении коллагена отмечалось ее снижение к 21 суткам ОНМК ($p < 0,05$), что, вероятно, связано со значительным потреблением тромбоцитов у этой категории больных.

При сравнении результатов агрегации у больных с разной степенью тяжести инсульта выявлено, что пациенты с легкой степенью имели более высокую степень агрегации тромбоцитов, индуцированную АДФ 5 мкг/мл и коллагеном, к 21 суткам ОНМК, чем больные со средней степенью тяжести ($p < 0,05$).

Степень агрегации среди участников исследования, страдающих ишемическим инсультом тяжелой степени, при внесении АДФ 5 мкг/мл была значительно ниже, чем у пациентов с легкой и средней степенью тяжести ($p < 0,05$). Скорость агрегации, индуцированной адреналином, у больных со средней степенью тяжести, нарастала от 1 к 21 суткам заболевания, в то время как у исследуемых с тяжелой степенью состояния наблюдалась тенденция к ее снижению в указанный временной промежуток и соответственно к концу острого периода этот показатель имел значимые отличия ($p < 0,05$). В процессе анализа агрегации тромбоцитов в динамике заболевания разница была найдена в группе больных с легкой степенью тяжести, а именно степень агрегации при добавлении коллагена, степень и скорость агрегации, индуцированной АДФ 5 мкг/мл и адреналином, постепенно увеличивалась от начала мозгового удара и достигала своего пика к 21 суткам инсульта (табл.3.4.4.5, табл.3.4.4.6.). Полученные нами данные согласуются с результатами исследований, проведенных Морозовой И.Ю. и соавт. (2014 г.) [62].

Таким образом, у больных ишемическим инсультом в острейший период и в период формирования инфаркта мозга отмечалось увеличение скорости и степени спонтанной агрегации и ее снижение к концу острого периода. При внесении АДФ 5 мкг/мл, 1,25 мкг/мл и коллагена скорость и степень агрегации в 1-е и на 10-е сутки инсульта была снижена, но увеличивалась к 21 суткам. Повторные случаи ОНМК в острейший период сопровождались повышением агрегации при внесении АДФ 1,25 мкг/мл и снижением агрегации, индуцированной коллагеном, к 21 суткам заболевания. Тяжелая степень заболевания сопровождалась низкой степенью и скоростью агрегации тромбоцитов, преимущественно при индукции АДФ 5 мкг/мл.

3.4.5. Взаимосвязь экспрессии TLR2, TLR4 на моноцитах периферической крови и агрегации тромбоцитов у больных ишемическим инсультом

При расчете коэффициента корреляции Спирмена у здоровых участников исследования выявлены положительные связи разной силы между общим количеством моноцитов, количеством активированных моноцитов, в том числе с экспрессированными TLR2 и TLR4 и степенью и скоростью агрегации, индуцированной адреналином, и степенью агрегации при внесении АДФ 5 мкг/мл (табл.3.4.5.1., 3.4.5.2.).

В группе больных ишемическим инсультом обнаружены сильные связи прямые по направлению между общим количеством моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, количеством активированных моноцитов, экспрессирующих данные толл-рецепторы, и степенью агрегации, индуцированной АДФ 1,25 мкг/мл. Общее количество моноцитов, в том числе экспрессирующих TLR2, количество активированных моноцитов, в том числе с экспрессированным на мембране TLR2 и MFI, имеют сильную отрицательную связь со степенью агрегации при внесении адреналина (табл.3.4.5.1., 3.4.5.2.).

При сравнении концентрации интерлейкинов с агрегацией тромбоцитов среди больных ишемическим инсультом в острейший период заболевания и в период окончания формирования инфаркта мозга между концентрацией цитокинов и агрегацией тромбоцитов корреляционная зависимость не найдена. К концу острого периода заболевания обнаружена умеренной силы и обратная по направлению связь IL-6 с агрегацией, индуцированной коллагеном ($R = -0,5$; $p = 0,03$), АДФ 5 мкг/мл ($R = -0,4$; $p = 0,04$) и адреналином ($R = -0,4$; $p = 0,03$). В группе здоровых исследуемых выявлена слабая прямая зависимость уровня этого же интерлейкина и спонтанной агрегации тромбоцитов ($R = 0,3$; $p = 0,02$) (табл. 3.4.5.5., 3.4.5.6.).

Таким образом, при ОНМК увеличение MFI, общего количества моноцитов, количество активированных моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, сопровождается снижением агрегационной активности, индуцируемой адреналином, повышение количества моноцитов, количества активированных моноцитов, включая клетки с экспрессированными

TLR2, TLR4, ассоциировано с увеличением степени агрегации, индуктором которой является АДФ 1,25 мкг/мл. Учитывая, что индуцированная гипоагрегация *in vitro* у больных инсультом говорит не о снижении агрегационной активности тромбоцитов, а, скорее, о тромбастении либо (и) их активном потреблении, то правильнее степень агрегационной активности кровяных пластинок ассоциировать с увеличением количества активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2. При ишемическом инсульте уменьшение концентрации IL-6 коррелирует с увеличением агрегационной активности при внесении коллагена, АДФ 5 мкг/мл, адреналина, увеличение содержания IL-6 сопровождается снижением данной агрегации. В условиях нормы рост концентрации IL-6 ассоциируется с увеличением спонтанной агрегации тромбоцитов.

Таблица 3.4.4.1.

Степень спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных ишемическим инсультом, Ме [P25–P75]

Группы наблюдения		Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная	
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%
Клиническая группа (n=100)	1сут.	7,05 (5,27;9,32)	54,8 (40,77;76,22)	5,52 (4,13;7,97)	14,1 (3,54;33,85) ¹	5,29 (4,04;6,78) ²	26,65 (10,82;58,65) ²	5,85 (3,81;7,51) ¹	73,4 (31,85;100) ²	1,16 (1,04;1,46)	1,99 (1,11;3,28)
	10сут.	6,54 (5,67;9,18)	53,7 (33,45;67,8)	6,31 (4,34;7,97)	20 (7,5;36,65) ^{2,3}	6,03 (5,09;7,12) ¹	25,6 (14,42;40,27) ¹	5,62 (4,29;7,11)	77,9 (50,35;88,75) ²	1,27 (1,13;1,48) ¹	1,96 (1,12;2,79)
	21сут.	8,23 (6,52;9,51)	59,8 (38,27;69,7) ¹	6,64 (5,53;9,04)	16,4 (6,11;36,32) ¹	6,46 (4,64;8,48) ⁴	22,5 (17,65;37,1) ¹	6,5 (5,56;7,75)	92 (78,8;120,25) ¹	1,15 (1,03;1,42)	1,37 (0,99;2,78) ⁵
Контрольная группа (n=89)		7,89 (6,01;9,77)	71 (53,5;79,8)	7,23 (5,39;9,15)	41,25 (11;63,72)	6,21 (4,72;7,79)	58,2 (22,7;79,6)	6,47 (4,81;7,93)	73,9 (56,32;91,05)	1,13 (1,01;1,44)	1,99 (1,23;3,48)

Примечание: u_1 – $p < 0,05$; u_2 – $p < 0,001$ – сравнение показателей клинической группы с показателями контрольной группы; u_3 – $p < 0,001$ – различия показателей, полученных на 10-е сутки инсульта, и данных в 1-е сутки заболевания при добавлении АДФ 5 мкг/мл; u_4 – $p < 0,001$ – сравнение показателей, полученных на 21-е сутки инсульта, с показателями в 1-е сутки при добавлении АДФ 1,25 мкг/мл; u_5 – $p < 0,001$ – отличия между показателями спонтанной агрегации на 21 и 1-е сутки ОНМК.

Таблица 3.4.4.2.

Скорость спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных ишемическим инсультом, Ме [P25–P75]

Группы наблюдения		Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная	
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%
Клиническая группа (n=100)	1сутки	10,4 (4,74;16,4) ¹	71,5 (30,9;119,5)	16,9 (9,6;25,45)	65,4 (46,57;93,92)	9,69 (6,81;19,3) ¹	27,5 (12,22;53,1) ²	3,88 (2,21;5,98) ¹	15,6 (7,77;34,4) ²	0,25 (0,17;0,42)	2,08 (1,33;3,5)
	10сутки	10 (4,12;13,85) ¹	61,4 (37,8;86,55) ²	18 (12,75;24,05)	66,7 (49,15;105,5)	13,7 (7,62;20,9)	33,55 (20,3;67,9)	5,85 (3,82;8,67)	15,4 (8,52;30,07) ^{2,5}	0,24 (0,18;0,36)	1,71 (1,11;2,61) ⁶
	21сутки	8,31 (5,81;15,02)	74,1 (51,97;160,75)	19,7 (15,12;27,05) ³	78,4 (54;102,05)	12,6 (9,47;23,72) ⁴	25,8 (11,37;57,82)	5,33 (3,79;9,61) ⁵	15,2 (9,85;23,47) ²	0,22 (0,18;0,37)	1,75 (1,28;2,77)
Контрольная группа (n=89)		14,1 (8;19,45)	86,8 (64,07;132)	21,5 (11,8;28,6)	70,7 (53,1;90,1)	16,2 (9,42;22,17)	40,9 (22,8;60,37)	5,49 (3,2;8)	42,5 (16;62,3)	0,24 (0,14;0,43)	1,79 (1,3;3,05)

Примечание: u_1 – $p < 0,05$; u_2 – $p < 0,001$ – сравнение показателей больных ишемическим инсультом и здоровых резидентов; u_3 – $p < 0,001$ – различия показателей, полученных на 21-е сутки инсульта, и данных агрегации в 1-е сутки заболевания при добавлении АДФ 5 мкг/мл; u_4 – $p < 0,001$ – сравнение показателей, полученных на 21-е сутки инсульта, с показателями в 1-е сутки при добавлении АДФ 1,25 мкг/мл; u_5 – $p < 0,001$ – отличия между показателями агрегации, индуцированной адреналином, с 1-ми сутками ОНМК; u_6 – $p < 0,001$ – отличия между показателями спонтанной агрегации на 10-е и 1-е сутки ОНМК.

Таблица 3.4.4.3.

Степень спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных с повторным ишемическим инсультом, Ме [P25–P75]

Группы наблюдения		Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная		
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	
Клиническая группа	ИИ (n=75)	1сут.	5,86 (3,72;7,51)	73,3 (26,37;97,4)	7,13 (5,25;9,39)	55,9 (42,1;6,25)	5,44 (3,91;8,39) ¹	13,3 (2,88;34,2) ¹	5,3 (4,12;6,64)	28,4 (11;60,3) ¹	1,13 (1,03;1,29)	1,99 (1,08;3,21)
		10сут	5,62 (4,21;7,1)	69,4 (49,65;86,5)	7,21 (5,78;9,77) ⁵	52,45 (32,35;69,2) ²	6,26 (4,31;8,22)	20 (6,72;46,6)	6,3 (5,11;7,45)	28,6 (12,15;47,9) ²	1,26 (1,12;1,45)	1,96 (1,06;2,78)
		21сут	6,98 (5,56;7,67)	109 (83,15;126,5) ^{1,3,4}	8,54 (7,55;9,88) ⁴	60,7 (35,8;73,75)	7,06 (4,78;9,44)	23,6 (4,43;49,15) ¹	7,04 (6,15;8,39) ⁴	29,1 (18,75;61,05) ¹	1,2 (1,07;1,52)	1,29 (1,03;2,53)
	Повторный ИИ (n=25)	1сут.	5,76 (4,2;7,37)	77,8 (53,3;105,5)	6,79 (5,42;8,84)	53,6 (37,5;70,5)	6,33 (4,46;7,68)	27,1 (11,4;33,6)	5,21 (3,8;6,9)	21,9 (8,52;45,9) ¹	1,41 (1,04;1,89)	2,06 (1,27;3,82)
		10сут	6,44 (4,37;7,38)	82,4 (63,4;95,9)	6,86 (6,15;8,24)	54,55 (44,37;59) ¹	6,47 (4,82;7,39)	18,2 (6,26;31,15)	6,19 (5,31;6,57)	18 (15,32;31,57) ¹	1,42 (1,17;1,79) ¹	2,21 (1,21;5,2)
		21сут	6,09 (5,03;6,22)	61,7 (61,1;72,2) ⁶	6,11 (5,03;7,55)	42,55 (36,77;62,3)	7,3 (5,86;8,94)	9,77 (6,96;16,02)	3,96 (3,36;5,51)	14,9 (9,81;23,27)	1,04 (0,93;1,21)	2,43 (1,99;2,89)
Контрольная группа (n=89)		7,89 (6,01;9,77)	71 (53,5;79,8)	7,23 (5,39;9,15)	41,25 (11;63,72)	6,21 (4,72;7,79)	58,2 (22,7;79,6)	6,47 (4,81;7,93)	73,9 (56,32;91,05)	1,13 (1,01;1,44)	1,99 (1,23;3,48)	

Примечание: u^1 – $p < 0,05$; u^2 – $p < 0,001$ – сравнение показателей больных инсультом и контрольной группы; u^3 – $p < 0,05$ – разница значений агрегации больных с впервые диагностированным инсультом и больных с повторным ишемическим инсультом в одинаковые временные промежутки; u^4 – $p < 0,05$ – отличия показателей, полученных на 21-е сутки инсульта, от показателей 1-х суток заболевания у пациентов с первичным случаем ОНМК; u^5 – $p < 0,05$ – отличия между показателями на 10-е и 21-е сутки заболевания у пациентов с первичным случаем ОНМК; u^6 – $p < 0,05$ – отличия показателей, полученных на 21-е сутки инсульта, от показателей 1-х суток заболевания у пациентов с повторным ОНМК.

Таблица 3.4.4.4.

Скорость спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных с повторным ишемическим инсультом, Ме [P25–P75]

Группы наблюдения		Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная		
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	
Клиническая группа	ИИ (n=75)	1сут.	10,6 (4,68;16,52)	77,75 (29,62;118,8)	17,7 (9,76;28)	67,3 (48,95;93,15)	8,73 (6,39;18,9) ¹	26,2 (10,95;43,7) ^{1,3}	3,89 (2,31;5,33) ¹	16,5 (7,89;37,25) ²	0,25 (0,17;0,43)	2,09 (1,36;3,56)
		10сут	10,2 (3,76;15,3) ¹	61,3 (35,1;86,7) ²	19 (13,35;24,85) ⁶	61,6 (48;103,25)	13,7 (7,23;22,2)	31,2 (19,1;70,4)	6,02 (3,66;9,03)	15,7 (8,76;33,05) ²	0,24 (0,17;0,34)	1,77 (1,12;2,29)
		21сут	11,6 (6,62;17,4)	89,7 (63;172) ³	23,4 (17,25;30,7)	84,7 (45,25;110,5)	14,6 (7,04;24,85)	33,4 (10,18;66,8)	7,63 (4,02;10,89) ⁴	17,2 (12,85;48,7) ¹	0,22 (0,18;0,29)	1,75 (1,26;2,65)
	Повторный ИИ (n=25)	1сут.	8,36 (4,89;14,45)	64,4 (39,35;116)	13,4 (9,28;22,2)	50,9 (37,4;100)	11,7 (7,66;19,6)	37,5 (21;69,8)	3,88 (2,05;6,8)	13,2 (5,94;20,8) ²	0,27 (0,16;0,42)	2,03 (1,23;2,81)
		10сут	9,71 (6,18;11,6)	58,9 (56,9;75,1)	17,4 (12,77;22,75)	74,95 (60,02;97,35)	12,75 (7,96;16,5)	33,55 (14,35;41,52)	4,86 (3,91;8,03) ⁵	13,05 (8,01;23,7) ¹	0,34 (0,18;0,49)	1,61 (1,29;3,03)
		21сут	8,05 (6,43;8,08)	44,1 (42,1;51,8)	14,25 (12,44;21,5)	71,15 (54,12;81,67)	13,3 (9,91;23,37)	24,7 (22,07;44,92) ⁵	2,24 (2,08;4,03)	8,56 (5,65;11,55)	0,21 (0,17;0,42)	2,33 (1,88;2,86)
Контрольная группа (n=89)		14,1 (8;19,45)	86,8 (64,07;132)	21,5 (11,8;28,6)	70,7 (53,1;90,1)	16,2 (9,42;22,17)	40,9 (22,8;60,37)	5,49 (3,2;8)	42,5 (16;62,3)	0,24 (0,14;0,43)	1,79 (1,3;3,05)	

Примечание: u^1 – $p<0,001$; u^2 – $p<0,05$ – сравнение показателей клинической и контрольной группы; u^3 – $p<0,05$ – разница значений агрегации больных с впервые диагностированным инсультом и больных с повторным ОНМК в одинаковые периоды заболевания; u^4 – $p<0,05$ – отличия показателей, полученных на 21-е сутки инсульта и в 1-е сутки заболевания у больных с первичным случаем инсульта; u^5 – $p<0,05$ – отличия показателей, полученных на 10-е и 21-е сутки инсульта, от значений в 1-е сутки заболевания у больных с повторным ОНМК; u^6 – $p<0,05$ –сравнение показателей на 10-е и 21-е сутки инсульта у больных с первичным случаем инсульта.

Таблица 3.4.4.5.

Степень спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных с разной степенью тяжести инсульта, Me [P25–P75]

Группы наблюдения	сутки	Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная		
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	
Клиническая группа	Легкая степень (n=30)	1	5,24 (3,48;6,66) ^{1,2}	77,5 (37,8;95,5)	7,58 (5,54;10,35)	55,55 (44,4;81,07)	5,87 (4,17;7,83)	14,3 (3,83;31,62) ¹	5,25 (4,09;6,11) ¹	28,55 (15,3;55,6) ¹	1,12 (1,02;1,24)	2,31 (1,28;2,92)
		10	6,36 (4,41;8,51) ⁵	78,1 (49,8;83,05)	7,6 (6,4;10,2) ⁶	55,9 (34,9;68,65)	7,18 (4,35;7,95)	19,7 (10,3;34,7)	6,74 (5,19;7,95) ⁵	31,2 (16,1;48,9)	1,17 (1,07;1,44)	2,66 (1,45;3,35)
		21	7,39 (5,78;8,06)	128 (94,5;179) ^{1,2}	9,35 (8,55;10,92) ^{1,2,4}	61,7 (38,7;107,9)	6,84 (5,61;9,66)	22,4 (5,65;51,05)	6,97 (6,03;8,16)	48,4 (18,7;67,35)	1,14 (1,08;1,34)	1,67 (1,01;2,26)
	Средняя степень (n=41)	1	6,63 (4,47;7,99)	74,1 (28,17;96,8)	7,6 (5,4;9,33)	55,9 (38,2;69,6) ¹	6,29 (4,27;8,7)	12,9 (3,14;41,6) ¹	5,32 (4,01;6,82)	24,1 (8,88;57,7) ¹	1,15 (1,05;1,52)	2,37 (1,4;3,6)
		10	5,62 (4,44;7,08)	64,5 (53;87,8)	7,82 (5,78;9,5)	55,4 (41,85;67,2) ³	5,18 (4,79;7,47)	20 (5,9;46,6)	6,4 (5,31;7,05)	25 (14,45;43,8) ¹	1,33 (1,19;1,56)	2,03 (0,92;2,75)
		21	5,33 (4,86;5,91)	75,45 (57,4;82,85)	7,49 (5,73;8,36)	66,4 (55,37;71,65) ³	8,71 (6,41;10,89)	24,6 (9,88;41,42)	6,07 (4,07;8,01)	28,45 (17,01;30,55)	1,33 (1,19;1,64) ^{1,3}	2,58 (1,64;4,14)
	Тяжелая степень (n=29)	1	4,98 (3,8;7,73)	73,1 (32,0;108,5)	6,12 (4,22;7,74) ¹	53,2 (30,6;77,1)	4,69 (3,87;6,78) ¹	14,4 (3,96;33,6)	5,21 (4,08;7,5)	25,5 (11;58,6) ¹	1,23 (1,04;1,67)	1,23 (0,73;2,75)
		10	5,39 (4,22;6,71)	82,9 (53,05;87,2)	6,45 (5,36;7,41) ⁷	35,1 (13,25;57,77) ¹	7,17 (4,06;7,81)	20,5 (10,01;28,7)	5,61 (4,52;6,84)	20,1 (8,6;30,8)	1,22 (1,13;1,43)	1,68 (1,22;2,56)
		21	6,22 (5,57;7,23)	92 (67,9;118)	7,25 (5,88;8,16)	44,2 (25,1;58,2) ¹	6,64 (2,7;8,92)	6,87 (2,12;28,5) ¹	6,26 (4,42;6,98)	20,1 (6,98;30,4)	1,03 (0,94;1,25)	1,29 (1,11;2,53)
	Контрольная группа (n=89)		7,89 (6,01;9,77)	71 (53,5;79,8)	7,23 (5,39;9,15)	41,25 (11;63,72)	6,21 (4,72;7,79)	58,2 (22,7;79,6)	6,47 (4,81;7,93)	73,9 (56,32;91,05)	1,13 (1,01;1,44)	1,99 (1,23;3,48)

Примечание: u_1 – $p < 0,05$ – сравнение значений агрегации клинической и контрольной групп; u_2 – $p < 0,05$ – отличия показателей больных с легкой степенью тяжести от показателей пациентов со средней степенью тяжести в одинаковые временные промежутки; u_3 – $p < 0,05$ – разница показателей между больными со средней степенью тяжести и больными с тяжелой степенью в одинаковые периоды инсульта; u_4 – $p < 0,05$ – разница показателей между больными с легкой степенью тяжести и больными с тяжелой степенью в одинаковые периоды инсульта; u_5 – $p < 0,05$ – сравнение показателей на 10-е и 1-е сутки заболевания у больных с легкой степенью тяжести; u_6 – $p < 0,05$ – сравнение значений, полученных на 10-е сутки, с показателями на 21-е сутки инсульта у больных с легкой степенью тяжести; u_7 – $p < 0,05$ – сравнение значений, полученных на 10-е сутки, с показателями на 21-е сутки инсульта у больных с тяжелой степенью заболевания.

Таблица 3.4.4.6.

Скорость спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных с разной степенью тяжести инсульта, Me [P25–P75]

Группы наблюдения	сутки	Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная		
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	
Клиническая группа	Легкая степень (n=30)	1	9,75 (4,98;16,4)	80,5 (29,1;105)	20,7 (10,08;31,6) ³	70,25 (49,05;94,57)	10,45 (7,79;18,45)	27,45 (12,97;50,4)	3,67 (2,11;5,08) ¹	15,65 (8,08;28,82) ¹	0,23 (0,16;0,37)	1,88 (1,22;3,12) ²
		10	10,3 (4,03;20,7)	57,5 (35,05;86,7)	19,1 (15,55;25,2) ⁵	60,9 (48,25;93,15)	16,1 (7,32;21,8)	31,2 (22;49,3)	6,36 (4,01;9,19) ⁴	17,3 (12,5;37,6)	0,24 (0,17;0,42)	1,74 (1,16;2,08)
		21	20,6 (8,4;22,85)	180 (106,45;187)	26,6 (22,15;32,27)	86,55 (42,85;121)	12,55 (8,24;25,62)	30,4 (14,79;52,65)	4,73 (3,83;6,58) ⁴	22,5 (16,4;73,52) ³	0,22 (0,16;0,36)	1,85 (1,51;2,49)
	Средняя степень (n=41)	1	12,8 (4,99;16,65)	68,3 (43,87;117,5)	17,7 (10,9;23,4)	63,8 (49;93,4)	11,6 (6,86;19,6)	26,3 (12,6;51,9)	3,88 (1,99;5,1)	14,1 (7,06;40,1) ¹	0,26 (0,19;0,49)	2,1 (1,33;3,15)
		10	10,2 (3,76;14,3)	58,9 (48,3;81,65) ¹	18 (12,45;24,55)	69,6 (54,85;95,4)	13,1 (7,78;14,2)	29,8 (16,15;67,25)	5,25 (3,93;7,78)	15,4 (8,81;27,45) ¹	0,24 (0,17;0,41)	1,71 (1,13;3,02)
		21	6,02 (5,13;6,9)	52,15 (42,1;55,4)	17,65 (14,5;21)	78 (64,65;90,1)	14,05 (11,07;32,4)	29,6 (23,55;67,95)	5,95 (2,27;9,66)	15,7 (11,95;16,82)	0,24 (0,19;0,39)	2,08 (1,94;2,95)
	Тяжелая степень (n=29)	1	9,21 (4,61;14,67)	72,2 (28,9;135)	13,4 (7,75;21,1) ¹	62,8 (37,4;92,7)	8,31 (5,29;16,6) ¹	30,9 (11,8;62,5)	4,93 (2,48;6,8)	16,4 (10,4;34,3) ¹	0,25 (0,18;0,43)	2,09 (1,33;3,69)
		10	8,75 (4,61;10,67) ¹	67,95 (37,47;75,02) ¹	17,45 (13,57;20,87)	66,4 (20,85;102,1)	16,5 (5,77;22,4)	33,9 (11,89;70,4)	4,45 (2,88;10,6)	14,2 (6,21;24,4) ¹	0,24 (0,21;0,31)	1,71 (1,16;2,05)
		21	10,1 (8,05;11,9)	76,5 (46,9;130)	20,9 (13,6;23,35)	75,2 (31,6;90,85)	17,1 (4,31;22,5)	13,4 (7,6;46,05)	4,09 (3,23;9,33)	9,8 (6,27;20,95) ¹	0,2 (0,16;0,25)	1,51 (0,78;2,74)
Контрольная группа (n=89)		14,1 (8;19,45)	86,8 (64,07;132)	21,5 (11,8;28,6)	70,7 (53,1;90,1)	16,2 (9,42;22,17)	40,9 (22,8;60,37)	5,49 (3,2;8)	42,5 (16;62,3)	0,24 (0,14;0,43)	1,79 (1,3;3,05)	

Примечание: u_1 – $p < 0,05$ – сравнение показателей клинической и контрольной групп; u_2 – $p < 0,05$ – отличия значений спонтанной агрегации больных с легкой степенью тяжести и пациентов со средней степенью тяжести в одноименный промежуток времени; u_3 – $p < 0,05$ – разница показателей пациентов с легкой степенью тяжести и пациентов с тяжелой степенью заболевания; u_4 – $p < 0,05$ – сравнение значений на 10-е и 21-е сутки с данными, полученными в 1-е сутки заболевания у больных с легкой степенью тяжести; u_5 – $p < 0,05$ – сравнение показателей на 10-е и 21-е сутки у пациентов с легкой степенью тяжести; при сравнении значений агрегации между больными со средней степенью тяжести и пациентами с тяжелой степенью заболевания значимых отличий не выявлено; при сравнении показателей в динамике инсульта у больных как средней, так и тяжелой степени разница не найдена.

Таблица 3.4.5.3.

Коэффициент корреляции Спирмена между количеством моноцитов периферической крови, экспрессирующих TLR2, TLR4, и степенью агрегации тромбоцитов у больных ишемическим инсультом, n=48

показатель	АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная	
	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%
CD14+ (%)	R=0,4 p=0,31	R=0,5 p=0,14	R=0,2 p=0,57	R=0,2 p=0,66	R= -0,7 p=0,03	R= -0,04 p=0,91	R= -0,5 p=0,16	R=0,1 p=0,78
CD14+ (x10 ² /мкл)	R=0,2 p=0,61	R=0,4 p=0,33	R=0,2 p=0,61	R=0,2 p=0,66	R= -0,7 p=0,02	R= -0,1 p=0,83	R= -0,3 p=0,46	R= -0,3 p=0,52
CD14+282+ (%)	R=0,1 p=0,79	R=0,3 p=0,43	R=0,2 p=0,58	R=0,2 p=0,69	R= -0,7 p=0,03	R= -0,04 p=0,91	R= -0,2 p=0,64	R= -0,4 p=0,33
CD14+282+ (x10 ² /мкл)	R=0,2 p=0,61	R= -0,1 p=0,86	R=0,7 p=0,03	R= -0,2 p=0,66	R= -0,2 p=0,59	R= -0,1 p=0,76	R= -0,02 p=0,96	R= -0,1 p=0,83
CD14+284+ (%)	R=0,01 p=0,97	R= -0,6 p=0,09	R=0,5 p=0,13	R= -0,5 p=0,12	R=0,4 p=0,29	R= -0,5 p=0,14	R=0,5 p=0,15	R= -0,4 p=0,28
CD14+284+ (x10 ² /мкл)	R=0,2 p=0,57	R= -0,2 p=0,64	R=0,8 p=0,01	R= -0,3 p=0,38	R= -0,2 p=0,68	R= -0,2 p=0,54	R=0,1 p=0,76	R= -0,1 p=0,73
CD14+HLADR+(%)	R=0,1 p=0,75	R= -0,1 p=0,86	R=0,1 p=0,75	R= -0,4 p=0,28	R=0,4 p=0,34	R= 0,1 p=0,81	R=0,2 p=0,69	R= -0,03 p=0,93
CD14+HLADR+ (x10 ² /мкл)	R=0,3 p=0,45	R=0,5 p=0,17	R=0,1 p=0,73	R=0,2 p=0,61	R= -0,8 p=0,01	R= 0,03 p=0,93	R= -0,4 p=0,26	R= -0,1 p=0,76
CD14+HLADR+282+ (%)	R=0,2 p=0,65	R=0,2 p=0,54	R=0,4 p=0,35	R= -0,03 p=0,93	R= -0,8 p=0,02	R= -0,1 p=0,76	R= -0,2 p=0,64	R= -0,3 p=0,51
CD14+HLADR+282+ (x10 ² /мкл)	R=0,2 p=0,61	R=0 p=1	R=0,7 p=0,04	R= -0,1 p=0,73	R= -0,3 p=0,44	R= 0,1 p=0,73	R= -0,1 p=0,86	R= -0,1 p=0,73
CD14+HLADR+284+ (%)	R= -0,02 p=0,95	R= -0,4 p=0,31	R=0,4 p=0,28	R= -0,5 p=0,14	R= 0,3 p=0,5	R= -0,3 p=0,49	R=0,5 p=0,22	R= -0,4 p=0,29
CD14+HLADR+284+ (x10 ² /мкл)	R=0,4 p=0,35	R=0,04 p=0,91	R=0,7 p=0,04	R= -0,4 p=0,35	R= -0,7 p=0,06	R= -0,3 p=0,53	R= -0,1 p=0,86	R= -0,1 p=0,82
MFI	R=0,2 p=0,61	R=0,4 p=0,31	R=0,1 p=0,76	R=0,1 p=0,73	R= -0,8 p=0,008	R= -0,1 p=0,76	R= -0,3 p=0,41	R= -0,2 p=0,54

Таблица 3.4.5.4.

Коэффициент корреляции Спирмена между количеством моноцитов периферической крови, экспрессирующих TLR2, TLR4, и скоростью агрегации тромбоцитов у больных ишемическим инсультом, n=48

показатель	АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная	
	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%
CD14+ (%)	R=0,1 p=0,78	R=0,4 p=0,29	R=0,1 p=0,86	R=0,1 p=0,71	R= -0,4 p=0,23	R= -0,1 p=0,84	R=0,4 p=0,27	R= -0,1 p=0,81
CD14+ (x10 ² /мкл)	R= -0,02 p=0,96	R=0,2 p=0,57	R= -0,03 p=0,93	R=0,1 p=0,76	R= -0,5 p=0,17	R= -0,2 p=0,64	R=0,5 p=0,14	R= -0,4 p=0,28
CD14+282+ (%)	R=0,008 p=0,98	R=0,1 p=0,72	R= -0,1 p=0,84	R=0,1 p=0,88	R= -0,5 p=0,2	R= -0,1 p=0,72	R=0,5 p=0,17	R= -0,4 p=0,27
CD14+282+ (x10 ² /мкл)	R=0,5 p=0,12	R= -0,2 p=0,64	R=0,5 p=0,18	R= -0,1 p=0,83	R= 0,01 p=0,96	R= -0,1 p=0,79	R=0,3 p=0,52	R= 0,1 p=0,73
CD14+284+ (%)	R=0,3 p=0,39	R= -0,4 p=0,34	R=0,3 p=0,39	R= -0,3 p=0,36	R= 0,3 p=0,51	R= -0,5 p=0,13	R= -0,02 p=0,96	R= -0,5 p=0,19
CD14+284+ (x10 ² /мкл)	R=0,6 p=0,09	R=0,2 p=0,61	R=0,6 p=0,11	R= -0,2 p=0,64	R= 0,02 p=0,96	R= -0,2 p=0,54	R=0,3 p=0,46	R= 0,1 p=0,89
CD14+HLADR+(%)	R=0,3 p=0,5	R=0,2 p=0,62	R= -0,1 p=0,74	R= -0,5 p=0,21	R= 0,2 p=0,6	R= -0,2 p=0,68	R= -0,6 p=0,11	R= -0,2 p=0,68
CD14+HLADR+ (x10 ² /мкл)	R=0 p=1	R=0,3 p=0,38	R= -0,1 p=0,79	R=0,1 p=0,79	R= -0,5 p=0,15	R= -0,1 p=0,76	R=0,4 p=0,26	R= -0,3 p=0,43
CD14+HLADR+282+ (%)	R=0,2 p=0,7	R=0,1 p=0,89	R=0,01 p=0,96	R= -0,1 p=0,76	R= -0,5 p=0,15	R= -0,3 p=0,49	R=0,4 p=0,26	R= -0,3 p=0,46
CD14+HLADR+282+ (x10 ² /мкл)	R=0,5 p=0,17	R= -0,1 p=0,76	R=0,4 p=0,26	R= -0,1 p=0,86	R= -0,1 p=0,89	R= 0,2 p=0,7	R=0,3 p=0,46	R= 0 p=1
CD14+HLADR+284+ (%)	R=0,3 p=0,49	R= -0,2 p=0,7	R=0,1 p=0,86	R= -0,5 p=0,18	R= 0,1 p=0,76	R= -0,4 p=0,24	R= -0,2 p=0,56	R= -0,5 p=0,22
CD14+HLADR+284+ (x10 ² /мкл)	R=0,5 p=0,16	R=0,1 p=0,86	R=0,3 p=0,45	R= -0,3 p=0,42	R= -0,5 p=0,21	R= -0,5 p=0,23	R=0,4 p=0,29	R= -0,3 p=0,49
MFI	R= -0,1 p=0,89	R=0,3 p=0,49	R= -0,1 p=0,76	R=0,1 p=0,86	R= -0,6 p=0,09	R= -0,3 p=0,51	R=0,5 p=0,12	R= -0,5 p=0,21

Таблица 3.4.5.5.

Коэффициент корреляции Спирмена между концентрацией IL-1 β , IL-6 и агрегацией тромбоцитов у больных ишемическим инсультом к концу острого периода (21 сутки заболевания)

группы наблюдений		Показатель	Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная	
			Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%
клиническая группа, n=25	степень	IL-1 β (пг/мл)	R=0,03 p=0,89	R=0,4 p=0,11	R=0,3 p=0,17	R=-0,1 p=0,66	R=-0,1 p=0,76	R=-0,1 p=0,56	R=-0,2 p=0,47	R=-0,2 p=0,36	R=-0,03 p=0,85	R=-0,06 p=0,74
		IL-6 (пг/мл)	R= -0,5 p=0,03	R=-0,1 p=0,64	R=-0,01 p=0,97	R= -0,4 p=0,04	R=-0,1 p=0,49	R=-0,1 p=0,72	R= -0,4 p=0,03	R=-0,4 p=0,06	R=0,02 p=0,93	R=0,3 p=0,15
	скорость	IL-1 β (пг/мл)	R=0,1 p=0,58	R=0,2 p=0,32	R=0,2 p=0,36	R=-0,02 p=0,89	R=-0,03 p=0,88	R=-0,1 p=0,77	R=-0,1 p=0,62	R=-0,1 p=0,62	R=-0,1 p=0,66	R=0,1 p=0,58
		IL-6 (пг/мл)	R=-0,1 p=0,81	R=-0,1 p=0,54	R=-0,01 p=0,94	R=-0,3 p=0,09	R=-0,2 p=0,34	R=-0,2 p=0,34	R=-0,3 p=0,12	R= -0,4 p=0,03	R=-0,02 p=0,91	R=-0,03 p=0,85
контрольная группа, n=52	степень	IL-1 β (пг/мл)	R=-0,004 p=0,97	R=0,2 p=0,22	R=0,2 p=0,15	R=-0,1 p=0,63	R=0,1 p=0,33	R=-0,003 p=0,97	R=0,03 p=0,82	R=0,1 p=0,39	R=-0,1 p=0,61	R=0,1 p=0,29
		IL-6 (пг/мл)	R=0,05 p=0,71	R=-0,2 p=0,14	R=0,1 p=0,62	R=-0,03 p=0,82	R=-0,006 p=0,95	R=0,03 p=0,77	R=0,3 p=0,82	R=-0,03 p=0,8	R=0,01 p=0,63	R=0,03 p=0,75
	скорость	IL-1 β (пг/мл)	R=-0,1 p=0,32	R=0,2 p=0,23	R=0,2 p=0,11	R=0,2 p=0,17	R=0,1 p=0,61	R=-0,03 p=0,8	R=0,2 p=0,18	R=0,1 p=0,39	R=0,03 p=0,76	R=-0,04 p=0,73
		IL-6 (пг/мл)	R=-0,1 p=0,53	R=-0,2 p=0,23	R=-0,005 p=0,96	R=-0,02 p=0,87	R=-0,01 p=0,39	R=0,04 p=0,71	R=-0,05 p=0,69	R=0,005 p=0,96	R=0,2 p=0,19	R=0,3 p=0,02

Примечание: при расчете коэффициента Спирмена между концентрацией IL-1 β , IL-6 и агрегацией тромбоцитов у больных ишемическим инсультом в 1-е и на 10-е сутки заболевания корреляционных связей не выявлено.

3.4.6. Агрегационная активность тромбоцитов с учетом носительства генетического полиморфизма toll-like рецепторов и генетического индекса у больных ишемическим инсультом

При сравнении результатов агрегации тромбоцитов в зависимости от носительства генетического полиморфизма *TLR2*(Arg753Gln) было выявлено, что больные – носители дикого аллеля данного рецептора – имели более низкие показатели степени агрегации при внесении АДФ 1,25 мкг/мл, степени и скорости агрегации при добавлении АДФ 5 мкг/мл и адреналина, чем таковые в контрольной группе ($p<0,05$; $p<0,001$). Отмечено, что степень спонтанной агрегации в период формирования инфаркта мозга была достоверно больше у больных–носителей минорного аллеля *TLR2*(Arg753Gln), нежели у больных–носителей нормального аллеля *TLR2*(Arg753Gln) ($p<0,05$). Анализ результатов в динамике заболевания показал, что у обладателей –753Arg – аллеля степень и скорость агрегации при внесении АДФ 5 мкг/мл увеличивалась к концу острого периода мозгового инсульта, у носителей –753Gln – аллеля отмечалась более высокая степень спонтанной агрегации тромбоцитов в период формирования инфаркта мозга по сравнению с острейшим периодом НМК (табл. 3.4.6.1., табл.3.4.6.2.).

Исследование агрегации кровяных пластинок с учетом носительства полиморфного варианта *TLR3* (Phe412Leu) продемонстрировало, что у пациентов–носителей как нормального, так и рискованного аллеля степень агрегации, индуцированной АДФ 1,25 мкг/мл, степень и скорость при внесении АДФ 5 мкг/мл и адреналином, а также скорость агрегации при добавлении коллагена была меньше, чем у здоровых респондентов ($p<0,05$; $p<0,001$). Следует отметить, что степень агрегации, индуцированной коллагеном, у обладателей –412Phe-аллеля *TLR3*(Phe412Leu) на 21 сутки инфаркта мозга превышала таковую у носителей аналогичного аллеля контрольной группы ($p<0,05$). Оценивая результаты изучаемых показателей в динамике ОНМК, мы выявили, что у носителей дикого аллеля *TLR3* (Phe412Leu) степень агрегации

при внесении АДФ 5 мкг/мл имела тенденцию к снижению, в то время как при добавлении адреналина отмечалось ее увеличение к концу острого периода ($p < 0,05$; $p < 0,001$). При индукции агрегации коллагеном и АДФ 1,25 мкг/мл было зарегистрировано повышение ее скорости на 10 сутки ишемического инсульта, что отличалось от значений, полученных в 1-е и 21-е сутки заболевания ($p < 0,05$) (табл. 3.4.6.1., табл.3.4.6.2.).

Степень и скорость агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ 5 мкг/мл, АДФ 1,25 мкг/мл и адреналином, у пациентов–носителей –299Asp-аллеля и –299Gly-аллеля *TLR4*(Asp299Gly) определились в более низких значениях в сравнении с идентичными носителями контрольной группы ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Обладатели как нормального, так и минорного аллеля *TLR4*(Asp299Gly), страдающие ишемическим инсультом, показали высокие значения степени агрегации при внесении коллагена по отношению к здоровым лицам ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Однако при добавлении данного индуктора скорость агрегации у носителей дикого аллеля *TLR4*(Asp299Gly) снижалась в отличие от таковых контрольной группы ($p < 0,05$; $p < 0,001$). При сравнении среднего размера агрегатов у носителей разных аллелей клинической группы оказалось, что у больных, имеющих –299Gly-аллель *TLR4*(Asp299Gly), при внесении коллагена и адреналина этот показатель был больше, чем у больных–носителей нормального аллеля данного полиморфизма ($p < 0,05$; $p < 0,001$). В динамике заболевания статистически значимые отличия были найдены для носителей рискованного аллеля *TLR4* (Asp299Gly), у которых скорость агрегации, индуцированной АДФ 1,25 мкг/мл и адреналином, была максимальной к окончанию периода формирования инфаркта мозга и, соответственно, отличалось от значений, полученных в 1-е и 21-е сутки инсульта ($p < 0,05$) (табл.3.4.6.1., табл.3.4.6.2.).

У больных–носителей –Ser-аллеля и –Pro-аллеля *TLR6* (Ser249Pro) значения среднего радиуса тромбоцитов при внесении АДФ 5 мкг/мл, а также степень и скорость агрегации, индуцированной адреналином, были меньше в

отличие от здоровых резидентов ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Пациенты с ОНМК, обладающие минорным аллелем *TLR6* (Ser249Pro), имели тенденцию к снижению степени и скорости агрегации тромбоцитов при добавлении АДФ 1,25 мкг/мл в сравнении с представителями контрольной группы ($p < 0,05$; $p < 0,001$). У этих же больных при индукции агрегации коллагеном отмечалось увеличение среднего радиуса кровяных пластинок, но снижение скорости образования агрегатов в сравнении со здоровыми людьми. У носителей нормального аллеля *TLR6* (Ser249Pro) в клинической группе степень и скорость спонтанной агрегации оказалась выше, чем в контрольной группе и у больных-обладателей патологического аллеля *TLR6* (Ser249Pro) ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Наблюдение за результатами агрегации в течение всего острого периода инсульта в зависимости от полиморфизма *TLR6* (Ser249Pro) показало, что носители –Ser- аллеля *TLR6* имеют склонность к снижению скорости агрегации тромбоцитов от начала мозгового удара к окончанию острого периода при внесении коллагена ($p < 0,05$). У обладателей –Pro-аллеля *TLR6* замечена тенденция к увеличению скорости образования агрегатов от 1 к 21 суткам заболевания при добавлении АДФ 5 мкг/мл и адреналина ($p < 0,05$) (табл. 3.4.6.1., табл.3.4.6.2.).

При исследовании агрегации у носителей полиморфизма *TLR9*(T –1237C) выявлено, что среди больных-обладателей дикого и минорного аллеля степень и скорость агрегации, индуцированной АДФ 1,25 мкг/мл и адреналином, была ниже, чем у респондентов контрольной группы ($p < 0,05$). Среди пациентов клинической группы, имеющих –T-аллель *TLR9* (T–1237C), в отличие от здоровых участников исследования средний радиус агрегатов был меньше при добавлении АДФ 5 мкг/мл и больше при исследовании спонтанной агрегации ($p < 0,05$). При сравнении изучаемых показателей у пациентов-носителей разных аллелей внутри групп наблюдения статистически значимые отличия были найдены только для здоровых резидентов, где обладатели –C-аллеля *TLR9*

(T-1237C) имели повышенную скорость агрегации тромбоцитов, чем носители нормального аллеля ($p < 0,05$) (табл. 3.4.6.1., табл.3.4.6.2.).

Сравнительный анализ показателей агрегации в зависимости от генетического индекса в группе контроля не дал достоверных результатов, однако радиус агрегатов как при спонтанной, так и индуцированной различными активаторами агрегации у здоровых резидентов с IGI 2,0 и более был больше, чем у наблюдаемых с индексом менее 2,0. У больных с индексом 1,4–1,8 отмечалось увеличение степени и скорости спонтанной агрегации в 1-е и снижение скорости агрегации, индуцированной АДФ 5 мкг/мл, на 10 сутки в отличие от пациентов с IGI=2–2,2. В динамике заболевания обладатели индекса 1,4–1,8 имели тенденцию к увеличению агрегации тромбоцитов при внесении АДФ 5 мкг/мл к концу острого периода. У наблюдаемых клинической группы с IGI=2,4 и более, в отличие от лиц с индексом 2–2,2, наблюдалась низкая степень и скорость агрегации, индуцированной коллагеном. В течение острого периода ОНМК больные с индексом 2,4 и более показали снижение скорости агрегации от момента мозгового удара к концу периода формирования инфаркта мозга (табл. 3.4.6.3.). Также нами отмечено, что у пациентов с IGI более 2-х в динамике заболевания при индукции агрегации различными активаторами радиус агрегатов увеличивался, у больных с IGI менее 2 картина была разнородной.

Таким образом, у носителей предиктивных аллелей генетического полиморфизма toll-like рецепторов параметры агрегации тромбоцитов разнонаправленные, однако у больных–обладателей двух и более предиктивных для развития ишемического инсульта аллелей в геноме индуцированная (преимущественно коллагеном и низкими дозами АДФ) агрегация сопровождается увеличением радиуса агрегатов в динамике заболевания, а также более низкой степенью светопропускающей способности при индукции агрегации.

Таблица 3.4.6.1.

Степень спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных ишемическим инсультом с учетом носительства аллелей toll-like рецепторов, Me [P25–P75]

Группы наблюдения	су т.	Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная			
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%		
Клиническая группа	TLR2(Arg753Gln)	-753Arg	1	5,81 (3,8;7,43)	73,3 (30,52;100)	7 (5,25;9,3)	53,6 (40,65;75,35) ¹	5,5 (4,11;7,83) ²	14 (3,49;33,5) ²	5,3 (4,06;6,78) ¹	27,8 (10,95;58,7) ²	1,17 (1,04;1,47)	2 (1,11;3,29)
			10	5,71 (4,21;7,23)	71,25 (50,22;87,72)	7,11 (5,87;9,44) ⁴	53,1 (33,72;68) ²	6,26 (4,33;7,9) ¹	20 (6,38;38,6) ^{1,4}	6,3 (5,17;7,13)	25 (13,95;43,8) ²	1,26 (1,13;1,46)	1,97 (1,06;2,79)
			21	6,36 (5,42;7,39)	93,65 (77,07;122) ¹	8,26 (6,5;9,29)	59,8 (35,65;69,8) ¹	7,06 (5,28;9,02)	19 (5,28;40,25) ¹	6,39 (4,31;7,99)	27,6 (14,2;48,4) ¹	1,15 (1,03;1,42)	1,98 (1,11;2,79)
		-753Gln	1	6,75 (4,94;7,37)	81,7 (58,9;96,6)	6,09 (4,26;9,2)	50,9 (40,9;77,8)	6,88 (4,46;8,8)	26,5 (13,6;52,4)	5,9 (3,86;6,9)	28,9 (11;40,1) ¹	1,21 (1,05;1,38)	2,37 (1,08;3,37)
			10	6,36 (4,82;6,77)	87,9 (67,9;95,9)	6,67 (5,91;7,82)	56,2 (39,5;69,3) ¹	5,86 (4,41;7,82)	26,1 (14,25;38)	6,48 (5,54;8,32)	25 (16;56,5)	1,79 (1,27;1,83) ^{1,3,5}	1,06 (0,71;3,02)
			21	6,74 (6,13;7,28)	97,95 (54,17;136)	7,65 (6,45;9,13)	48,85 (32,97;83,6)	5,36 (4,08;7,85)	8,21 (5,69;13,01)	6,75 (5,78;7,31)	25,3 (15,8;40,82)	1,07 (1,03;1,41)	1 (0,95;2,21)
	TLR3(Phe412Leu)	-412Phe	1	5,87 (3,8;7,44)	74,2 (29,2;100)	7,1 (5,2;9,27)	53,6 (40,4;76,2) ¹	5,5 (4,15;7,78) ²	14 (3,39;33,4) ²	5,22 (4,05;6,79) ¹	25,5 (10,6;58,8) ²	1,15 (1,04;1,48)	1,97 (1,07;3,23)
			10	5,83 (4,21;7,28)	73,1 (52,95;86,55)	7,21 (5,91;9,55) ⁴	52,45 (34,05;63,8) ²	6,62 (4,82;7,95)	20 (7,76;42,5) ¹	5,96 (5,16;7,17)	24,3 (10,8;40,3) ^{2,5}	1,26 (1,14;1,45)	1,86 (1,01;2,77)
			21	6,36 (5,01;7,53)	97 (77,07;122) ¹	8,26 (6,5;9,29)	59,8 (35,65;68,05) ¹	7,06 (5,74;8,96)	21,2 (6,47;40,25) ¹	6,46 (3,96;8,18)	20,3 (14,2;48,4) ¹	1,17 (1,05;1,42)	1,77 (1,11;2,53)
		-412Leu	1	5,51 (3,81;7,47)	73,4 (24,1;99,85)	7,18 (5,4;9,49)	53,2 (41,5;73) ¹	5,37 (4,15;7,73) ¹	11,8 (3,59;32,7) ²	5,3 (3,8;6,7) ¹	20,2 (9,6;57,7) ²	1,16 (1,03;1,42)	2,21 (1,15;3,37)
			10	5,59 (4,19;6,56)	73,1 (49,65;87,85)	7,85 (5,95;9,52)	51,1 (34,05;64,47) ¹	6,13 (4,12;7,52) ¹	17 (5,49;28,27) ¹	6,45 (5,2;7,37)	27,4 (16,25;40,22) ¹	1,28 (1,14;1,45)	2,04 (1,22;2,79)
			21	6,5 (5,61;7,11)	86,3 (70,05;102,15)	7,25 (5,72;8,61)	60,7 (33,9;73,75)	7,06 (3,67;8,95)	12,5 (4,65;49,15)	6,16 (4,31;7,62)	27,8 (15,5;51,05)	1,07 (1,02;1,33)	2 (1,08;2,53)
TLR4(Asp299Gln)	-299Asp	1	5,81 (3,72;7,38)	73,1 (25,87;97,37)	7 (5,34;9,29)	53,6 (40,65;75,4) ¹	5,68 (4,18;8,26) ¹	14,4 (4,55;35,05) ¹	5,22 (3,93;6,64) ¹	21,9 (10,1;57,95) ²	1,19 (1,05;1,49)	1,77 (1,08;3,22)	
		10	5,61 (4,19;7,59)	69,4 (50,35;86,6)	7,24 (5,89;9,69)	54 (30,7;69,2) ¹	6,31 (4,25;7,94) ¹	20,25 (6,55;43,52)	5,89 (5,13;7,05)	24,65 (12,82;42,35) ²	1,26 (1,14;1,54) ¹	1,96 (1,06;2,78)	
		21	6,22 (5,56;7,23)	92 (72,2;118) ¹	7,86 (6,24;8,68)	45,7 (31,1;70,5) ¹	6,46 (4,49;8,9)	10 (4,39;30,4) ¹	6,26 (4,19;7,04)	27,6 (11;58,4) ¹	1,14 (1,02;1,6)	1,98 (1,18;3,16)	

Контрольная	TLR6 (Ser249Pro)	-299Gly	1	6,88 (5,33;8,93) ³	95,25 (76,6;114) ^{1,3}	7,98 (6,47;9,31)	66,9 (45,27;85,12)	5,83 (4,09;8,13)	13,35 (3,02;33,22) ¹	5,54 (4,38;7,06)	44,7 (11,05;72,67) ³	1,09 (1,01;1,23)	2,29 (0,9;3,81)
			10	6,44 (5,43;7,87)	80,5 (56;98,45)	6,53 (6,15;9,36)	53,9 (36,07;68,57) ¹	7,23 (5,99;7,95)	18,6 (10,7;34,7)	7,05 (5,61;8,34)	30,75 (14,8;45,55) ¹	1,3 (1,15;1,45)	2,14 (1,28;3,51)
			21	5,97 (4,68;7,88)	104 (79,32;152) ¹	8,38 (7,25;10,3)	60,7 (39,4;69,1)	8,65 (5,99;12,7)	21,2 (6,08;38,3)	6,57 (3,38;8,15)	20,3 (17,4;58,4) ¹	1,14 (1,04;1,2)	1,77 (1,01;2,09)
		-249Ser	1	6,1 (3,56;7,78)	72,3 (30,52;103,75)	6,61 (5,11;8,94)	53,4 (41,35;73,32)	6,01 (4,3;8,71)	23,4 (8,15;36,05)	5,63 (4,35;7,14)	26,45 (15,3;62,3) ¹	1,31 (1,1;1,83) ¹	2,38 (1,34;4,25)
			10	5,71 (4,32;8,15)	63,95 (50,22;80,97)	7,24 (5,51;9,35)	47,4 (35,2;58,35) ¹	6,07 (4,32;7,83)	19,3 (8,39;42)	6,19 (5,23;7,07)	30,1 (17,9;53,67)	1,28 (1,17;1,67) ¹	2,22 (1,03;3,39)
			21	5,3 (4,56;6,12)	79,55 (74,45;96,97)	8,38 (7,25;8,56)	60,7 (45,7;63,7)	8,93 (6,62;9,05)	26,6 (19;30,4)	6,26 (6,01;6,57)	29,1 (20,3;38,4)	1,2 (1,07;1,64)	2,77 (2,09;3,58)
		-249Pro	1	5,86 (3,85;7,53)	73,3 (31,35;98,92)	7,15 (5,32;9,32) ⁵	54,75 (40,67;75,77) ¹	5,47 (4,09;8,27) ²	13,8 (3,09;33,22) ²	5,25 (4,02;6,76) ¹	28,65 (10,45;58,5) ²	1,15 (1,03;1,41) ³	1,87 (1,06;3,25)
			10	5,61 (4,21;7,01)	75,5 (51,9;87,87)	6,85 (5,82;9,27) ⁴	52,5 (34,65,2) ¹	6,21 (4,32;8,15) ^{1,4}	20 (6,21;34,4) ¹	6,07 (5,08;7,05)	24,65 (10,14;40,05) ²	1,27 (1,13;1,45)	2,03 (1,17;2,79)
			21	6,61 (5,56;7,39)	98,65 (79;122) ¹	8,23 (6,08;9,88)	60,7 (35,65;71,45) ¹	7,06 (5,28;8,99)	19 (5,28;44,85) ¹	6,39 (3,96;8,18)	27,8 (14,2;51,05) ¹	1,17 (1,03;1,42)	1,77 (1,03;2,79)
	TLR9(T 1237 C)	-1237T	1	5,81 (3,81;7,61)	73,8 (28,6;100)	7 (5,3;9,32)	55,9 (40,9;76,2) ¹	5,55 (4,15;8,24) ¹	14,2 (3,39;34,6) ²	5,29 (4,05;6,78) ¹	27,8 (10,6;58,6) ²	1,15 (1,04;1,45)	1,98 (1,11;3,24)
			10	5,71 (4,21;7,15)	71,25 (50,07;87,12)	7,05 (5,89;9,61) ⁴	53,7 (32,9;67,6) ²	6,07 (4,3;7,81) ¹	20 (6,47;43,52) ¹	6,13 (5,18;7,06)	25,6 (12,82;42,05) ²	1,26 (1,14;1,45) ¹	1,98 (1,06;2,79)
			21	6,5 (5,29;7,39) ¹	92 (75,45;119,5)	8,24 (6,37;8,74)	60,25 (34,52;70,15) ¹	6,85 (5,17;9,03)	15,75 (4,88;36,32) ¹	6,32 (4,25;7,74)	23,95 (12,6;37,1) ¹	1,14 (1,03;1,39)	1,87 (1,08;2,8)
		-1237C	1	6,18 (3,48;7,44) ⁵	74,2 (48,8;96,6)	7,83 (5,52;9,35)	59 (45,5;82,6)	5,5 (3,76;8,01) ¹	14,4 (3,67;39,3) ¹	5,82 (3,93;8,05)	39,8 (10,7;62,8)	1,21 (1,07;1,64)	2,52 (0,98;3,95)
			10	5,53 (4,65;7,51)	60,45 (21,42;85,97)	7,46 (5,72;9,54) ⁴	42,9 (30;78)	6,15 (4,28;7,37)	17,1 (4,73;26,1)	6,3 (4,94;7,06)	29 (17,25;57,05) ¹	1,26 (1,11;1,42)	1,62 (1,16;2,36)
			21	7,23 (6,09;7,39)	109 (86,3;125)	8,47 (7,75;9,29)	55,7 (37,05;77,95)	8,9 (4,8;9,36)	19 (7,46;58,45)	7,83 (6,21;8,55)	29,1 (19,25;90,65)	1,14 (0,97;1,26)	2,29 (0,84;2,77)
	TLR2 (Arg 753 Gln)	-753 Arg	6,52 (4,83;7,97)	73,5 (55,5;92,7)	7,83 (5,99;9,77)	71,05 (53,3;79,9)	7,26 (5,56;9,18)	41,3 (11,6;63,85)	6,22 (4,71;7,84)	58,15 (22,57;79,62)	1,13 (1,01;1,44)	1,93 (1,22;3,48)	
			6,79 (5,07;8,15)	77,1 (71,7;90,6)	8,12 (6,24;9,86)	73,45 (59,62;84,27)	7,17 (5,32;9,1)	25,8 (11,6;60,8)	6,16 (4,8;7,28)	68,05 (22,57;80,87)	1,18 (1;1,57)	2,38 (1,51;3,74)	
		-412 Phe Leu	6,62 (4,82;7,99)	74,3 (59,35;85,55)	7,97 (6,04;9,75)	71,05 (53,72;80,85)	7,26 (5,56;9,27)	41,2 (11,4;63,85)	6,16 (4,71;7,84)	59,25 (22,57;79,62)	1,15 (1,01;1,48)	1,93 (1,24;3,48)	
			6,23 (4,74;7,34)	71,2 (59,2;84,6)	8,14 (5,97;9,94)	72,2 (55,85;78,8)	7,78 (6,36;9,74)	44,3 (15,32;61,6)	6,3 (4,61;8,14)	58 (25,9;74,15)	1,15 (1,01;1,61)	1,85 (1,24;3,32)	

TLR4(Asp 299 Gly)	-299 Asp	6,43 (4,83;7,97)	73,5 (55,5;92,7)	7,78 (6,03;9,84)	67 (53,1;78,9)	7,43 (5,37;9,27)	41,3 (9,14;63,85)	6,23 (4,71;7,89)	58 (22,15;77)	1,12 (1,01;1,42)	1,99 (1,22;3,57)	
	-299 Gly	6,62 (4,61;8,02)	71,1 (52,1;80,1)	7,92 (5,95;9,14)	72,35 (54,27;82,15)	7,23 (5,75;9,27)	41,25 (8,12;63,22)	6,33 (4,46;7,71)	63 (23,07;85,02)	1,16 (1,01;1,64)	2,34 (1,39;3,89)	
	TLR6 (Ser 249 Pro)	-249 Ser	6,78 (4,82;8,16)	74,3 (52,95;89,4)	7,76 (5,84;9,41)	66,4 (52,7;78)	7,08 (5,34;9,1)	25 (6,63;53)	5,78 (4,32;7,39)	50,4 (20,2;77,4)	1,12 (1,01;1,36)	2,1 (1,39;3,49)
		-249 Pro	6,52 (4,67;7,59)	72,4 (55,5;92,7)	8,07 (5,97;9,94)	72,2 (56,95;80)	7,66 (5,64;9,43)	42,85 (15,65;63,9)	6,23 (4,79;8,14)	60,3 (25,9;79,65)	1,18 (1,02;1,57)	2,01 (1,26;3,39)
	TLR9 (T123 7 C)	- 1237T	6,43 (4,81;7,84)	74,3 (58,8;92,7)	7,83 (5,99;9,75)	71,05 (53,3;79,9)	7,26 (5,37;9,18)	41,3 (10,9;63,85)	6,22 (4,75;7,84)	59,25 (22,77;79,62)	1,12 (1,01;1,41)	1,93 (1,22;3,48)
		- 1237C	6,78 (5,86;7,59)	71,1 (50,3;98,3)	9,11 (7,14;10,5)	72,9 (58,8;85)	8,06 (6,43;9,27)	59 (19,25;65,1)	7,29 (5,81;8,15)	67,8 (27,6;89,8)	1,21 (1,04;1,57)	1,99 (0,54;2,67)

Примечание: u^1 – $p < 0,05$; u^2 – $p < 0,001$ – сравнение показателей больных инсультом и здоровых резидентов–носителей идентичного аллеля; u^3 – $p < 0,05$ – разница показателей между носителями дикого и рискованного аллеля одного рецептора; u^4 – $p < 0,05$ – сравнение показателей, полученных на 10-е и 21-е сутки инсульта у носителей одноименного аллеля; u^5 – $p < 0,05$ – отличие между показателями 1-х и 21-х суток инсульта у носителей одноименного аллеля; при сравнении показателей у больных ОНМК на 10-е и 1-е сутки заболевания разница не найдена; отличия между показателями у носителей дикого и рискованного аллеля одного толл-рецептора у здоровых респондентов не найдены.

Таблица 3.4.6.2.

Скорость спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в крови у больных ишемическим инсультом – носителей аллелей toll-like рецепторов, Me [P25–P75]

Группы наблюдения	сут	Коллаген 1 мг/мл		АДФ 5 мкг/мл		АДФ 1,25 мкг/мл		Адреналин 5 мг/мл		Спонтанная		
		Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	Опт.ед.	%	
Клиническая группа TLR2(Arg753Gln) 753Gln	-753Arg	1	10,15 (4,72;16,4) ¹	70,7 (30,3;116,7)	16,3 (9,49;24,95)	64,9 (46,45;94,2)	9,51 (6,77;18,9) ²	26,3 (12,1;52,1) ¹	3,89 (2,31;6,07) ²	16,4 (7,83;34,5) ²	0,26 (0,17;0,43)	2,09 (1,33;3,52)
		10	9,95 (3,81;14,25) ¹	61,15 (36,6;86,15) ²	18,75 (13,1;24,27) ⁴	65,55 (49,6;103,25)	13,7 (7,27;21,15)	33,2 (19;67,3)	5,55 (3,66;8,32)	15,4 (8,18;33,05) ²	0,24 (0,17;0,36)	1,72 (1,13;2,55)
		21	9,21 (6,22;14,82)	75,55 (51,7;164,5)	20,9 (14,25;26,6)	77,6 (48,75;96,55)	14,6 (8,8;23,55)	25,8 (12,05;57)	4,27 (3,16;8,71)	16,2 (8,66;25,6) ¹	0,22 (0,18;0,31)	2,05 (1,35;2,88)
	753Gln	1	11,4 (7,7;15,9)	88,2 (64,2;110)	13 (9,08;23,3)	78,6 (57,1;100)	10,9 (6,93;23,5)	47,7 (28,7;66,2)	3,14 (2,55;4,93) ¹	16,5 (7,87;34,3)	0,28 (0,19;0,47)	2,31 (1,41;4,32)
		10	7,36 (6,18;11,4)	68 (36,8;74,8)	18,9 (12,7;23,3)	104 (44,9;126)	11 (7,58;23,3) ⁴	41,3 (26,4;66,15) ⁴	8,93 (4,65;12,5)	18,7 (14,3;36,8)	0,32 (0,27;0,39) ¹	1,57 (1,06;1,96)

		21	14,37 (6,65;21,97)	113,45 (38,5;181,7)	20,9 (15,8;28,02)	80,15 (48,12;106,75)	10,27 (8,18;17,82)	17,73 (9,1;35,77)	4,59 (3,47;6,16)	21,35 (15,18;40,25)	0,19 (0,14;0,31)	1,98 (1,51;2,51)
TLR3(Phe412Leu)	-412Phe	1	10,6 (4,58;16,4) ¹	71,5 (29,8;122)	17,6 (9,71;25,4)	65,8 (48;93,6)	9,51 (6,86;18,6) ¹	26,3 (12,3;51,9) ¹	3,82 (2,26;5,89) ¹	13,3 (7,39;34,7) ²	0,25 (0,16;0,42)	1,98 (1,23;3,14)
		10	10,3 (4,12;14,3) ¹	61,3 (37,8;80,3) ^{2,6}	18,85 (13,25;24,6)	63,85 (50,25;86,7)	13,9 (7,85;21,8)	33,9 (21,9;75,3) ^{4,5}	5,69 (3,8;8,77)	15,4 (7,32;30,7) ²	0,24 (0,18;0,36)	1,72 (1,09;2,43)
		21	9,09 (5,35;14,82)	82,15 (51,7;164,5)	20,9 (14,25;26,6)	75,2 (48,75;90,1)	14,6 (9,28;22,85)	25,8 (14,95;57)	5,33 (2,44;9,33)	16,7 (8,66;25,6) ¹	0,2 (0,17;0,31)	2,01 (1,26;2,61)
	-412Leu	1	8,91 (5,02;14,9)	66,7 (22,75;126)	16,2 (10,5;25,6)	60,7 (44,6;100)	8,95 (6,69;18,6) ¹	28,7 (11,8;50,6) ²	3,82 (2,35;5,75) ¹	13,2 (7,2;28,3) ²	0,27 (0,17;0,43)	2,09 (1,36;3,58)
		10	8,49 (3,81;12,55)	61,3 (38,5;83,9) ¹	19,05 (15,15;24,9)	61,9 (48,82;101,35)	13,65 (7,19;16,52) ¹	31,05 (16,95;52,3)	5,78 (3,91;8)	15,7 (10,75;37,87) ¹	0,25 (0,18;0,38)	1,84 (1,35;2,41)
		21	8,31 (7,84;12,9)	64,1 (49,3;120,3)	20,9 (13,7;26,2)	77,6 (50,55;108,6)	15,5 (6,28;22,5)	38,5 (8,71;48,3)	4,01 (2,93;8,71)	16,2 (8,18;48,1)	0,22 (0,18;0,34)	1,59 (1,22;2,33)
TLR4(Asp299Gly)	-299Asp	1	9,82 (4,46;16,02) ¹	67,35 (28,1;117,5)	17,5 (9,88;26,1)	64,9 (45,65;97,95)	10,1 (6,88;20,8) ¹	29,4 (12,45;61,2)	3,82 (2,05;6,07) ¹	14,1 (7,54;30,8) ²	0,25 (0,17;0,43)	2,07 (1,33;3,15)
		10	9,71 (3,76;13,8) ¹	61,3 (36,35;80,4) ²	18,6 (13,2;24,8)	66 (47,4;103)	13,45 (6,72;21,9)	33,55 (19,1;65,75)	5,15 (3,42;7,94)	14,45 (8,21;35,75) ²	0,27 (0,2;0,36)	1,8 (1,18;2,79)
		21	8,31 (6,43;12,2)	74,6 (51,8;151)	19,7 (13,7;23,9)	75,2 (37,6;93,9)	11 (4,65;21,8)	22,3 (9,66;43,8) ¹	4,14 (2,56;8,68)	13,5 (7,53;26,3) ¹	0,22 (0,18;0,39)	2,05 (1,28;2,91)
	-299Gly	1	15,5 (9,86;19,95)	106,5 (71,1;137,3)	19,4 (14,25;27,4)	66,55 (50,82;78,7)	11,5 (7,73;20,92)	29,05 (12,62;38,6) ¹	4,16 (2,64;6,11)	25,65 (10,97;44,62) ¹	0,25 (0,15;0,41)	2,11 (1,35;3,14)
		10	11,5 (7;18,95)	70,2 (52,3;104,1)	19 (15,15;23,1)	70,15 (56,62;102,6)	16,4 (12;22,2)	37,7 (25,9;75,3) ⁴	6,55 (3,91;11,45) ⁵	16,35 (6,48;28,57) ¹	0,22 (0,17;0,43)	1,59 (1,08;2,14)
		21	14,59 (5,47;23,72)	120,95 (54,2;185,3)	23,9 (13,7;31,4)	75,2 (44,6;90,2)	15,5 (9,44;38)	23,6 (16,5;65,7)	4,09 (2,15;7,63)	17,2 (9,8;26,3) ¹	0,19 (0,17;0,22)	2,01 (1,51;2,85)
TLR6(Ser249Pro)	-249Ser	1	10,15 (4,61;16,4) ⁵	71,1 (29,3;116,7) ⁵	16,7 (8,84;26,02)	65,55 (47,92;95,15)	11,5 (7,42;23,55) ⁵	38,15 (18,72;63,2)	4,72 (2,56;6,43)	14,5 (8,3;26,35) ¹	0,36 (0,22;0,54) ¹	2,18 (1,46;3,365)
		10	10,9 (4,02;15,25)	61,3 (49,4;74,35) ¹	17,8 (11,45;25,6)	65,1 (49,15;79,25)	12,55 (7,03;16,47)	28,75 (18,42;47,4)	5,43 (4,01;7,67)	15,3 (12;38,47) ¹	0,27 (0,17;0,78)	1,74 (1,06;2,88)
		21	8,06 (5,35;9,28)	57,2 (49,72;85,8)	17,7 (16,9;20,9)	75,2 (52,9;93,9)	21,5 (11;23,9)	43,8 (23,4;48,3)	4,27 (4,09;6,98)	15,2 (12,2;18,7) ¹	0,22 (0,2;0,29)	2,05 (1,51;3)
	-249Pro	1	10,6 (5;16,35)	70,7 (40,2;111,5)	16,25 (9,85;24,27) ⁵	66,2 (47,02;93,22)	8,98 (6,66;19,5) ¹	27,5 (11,8;51,57) ¹	3,77 (2,05;5,69) ¹	16,45 (7,41;34,6) ²	0,26 (0,16;0,42) ³	2,07 (1,21;3,58)
		10	9,1 (3,81;12,6) ¹	61,15 (37,3;84,62) ¹	18,6 (13,4;24) ⁴	62,6 (48,2;107)	13,65 (7,25;22,1)	32,2 (18,95;68,8)	5,85 (3,73;8,29) ⁶	14,45 (7,03;24,25) ²	0,24 (0,18;0,35)	1,74 (1,18;2,19)
		21	10,85 (6,22;17,67)	83,1 (52,3;169,5)	22,1 (14,25;28,7)	78,4 (55,1;98,45)	14,6 (9,92;23,1)	25,8 (12,05;66,8)	5,33 (2,44;9,36)	16,7 (8,76;33) ¹	0,2 (0,18;0,31)	2,05 (1,35;2,88)

Контрольная группа	TLR9(T 1237 C)	-1237T	1	10,25 (4,67;16,4)	73,5 (29,6;118,3) ¹	16,3 (9,71;25,6)	65,8 (46,7;93,6)	10,1 (6,86;19,6) ¹	28,7 (12,3;55,5) ¹	3,89 (2,06;5,89) ¹	14,8 (7,7;34,3) ²	0,25 (0,17;0,42)	2,08 (1,33;3,3)
			10	9,1 (3,81;14,35) ¹	59,95 (36,1;82,97) ²	18,9 (12,8;24,8) ⁴	65,1 (48,2;103)	13,45 (7,12;21,9) ⁴	33,55 (18,72;71,6) ²	5,21 (3,52;8,29)	15,4 (7,92;31,87)	0,24 (0,17;0,36)	1,71 (1,13;2,5)
			21	8,31 (6,02;14,45)	74,6 (51,7;158,5)	20,3 (13,97;25,5)	76,4 (46,67;97,87)	13,6 (8,48;23,72)	24,7 (11,37;61,3)	4,21 (2,86;8,48)	15,7 (8,09;23,35) ²	0,21 (0,18;0,31)	2,07 (1,44;2,89)
		-1237C	1	10,6 (7,06;16,4)	66,7 (52,3;136)	21,3 (12,1;26,2)	63,2 (51,85;83,15)	10,1 (6,49;17,55) ¹	26,2 (10,51;49,1)	4,59 (2,41;7,14) ¹	20,6 (7,18;39,3) ²	0,35 (0,23;0,46)	2,18 (1,5;4,02)
			10	10,4 (3,64;15,25)	61,8 (16,8;79,37)	20,6 (14,6;25,1) ^{1,4}	59,3 (47,8;119)	12 (6,81;14,5) ¹	22,2 (18,2;57)	5,12 (3,76;7,49)	15,2 (11,5;38,25) ¹	0,24 (0,18;0,28)	1,61 (1,11;2,31)
			21	14,2 (11,6;20,6)	164 (76,5;187)	23,3 (15,7;28,75)	90 (59,35;114,6)	14,6 (8,41;22,5)	38,5 (15,6;43,45)	7,63 (3,95;9,85)	17,2 (8,63;75,95)	0,22 (0,19;0,39)	1,75 (1,18;2,32)
Контрольная группа	TLR2 (Arg 753 Gln)	-753 Arg	14,2 (7,98;19,5)	86,7 (64;132)	21,05 (11,75;28,6)	70,4 (52,8;90,15)	16,5 (9,59;22,45)	41 (23,5;60,45)	5,49 (3,09;8,01)	42,5 (15,75;62,8)	0,24 (0,14;0,43)	1,77 (1,29;2,96)	
		-753 Gln	13,1 (8,84;15,4)	97 (67,4;131,5)	23,65 (11,32;30)	82,15 (66,75;94,85)	16,8 (8,54;23,25)	39 (23,3;50,97)	5,62 (4,26;7,43)	41,55 (15,35;55,35)	0,27 (0,17;0,44)	2,09 (1,5;3,23)	
	TLR3 (Phe 412 Leu)	-412 Phe	14 (8,15;19,65)	86,9 (66,7;128)	21,95 (12,17;28,6)	70,4 (52,8;90,15)	16,5 (9,4;23,1)	40,8 (22,8;60)	5,49 (3,09;8,01)	42,6 (15,75;62,8)	0,23 (0,14;0,44)	1,69 (1,29;3,14)	
		-412 Leu	13,55 (7,18;18,17)	85,35 (63,42;130)	20,6 (13,35;29,1)	75 (58,35;97,1)	17,75 (13,57;23,3)	44,8 (28,95;61,7)	5,84 (3,28;7,93)	40,6 (16,9;67,9)	0,28 (0,14;0,43)	1,71 (1,24;2,78)	
	TLR4 (Asp 299 Gly)	-299 Asp	14 (7,64;19)	86,7 (64;132)	21,5 (11,7;28,75)	70,7 (53,4;86,45)	16,5 (9,01;22,45)	40,8 (22,7;60,45)	5,5 (2,98;7,99)	42,4 (14,9;62,15)	0,24 (0,14;0,41)	1,88 (1,33;3,16)	
		-299 Gly	13,1 (7,07;20)	83 (61,2;117)	19,5 (10,7;27,4)	72,9 (52,4;100,1)	16,6 (10,3;23,15)	46,1 (24,60,9)	5,49 (3,25;8,03)	42,15 (17,32;70,15)	0,26 (0,14;0,44)	1,73 (1,34;3,18)	
	TLR6 (Ser 249 Pro)	-249 Ser	13,1 (8,02;20)	86,7 (62,6;124,5)	19,3 (11,3;28,2)	69,5 (49,6;88,1)	15,3 (8,67;20)	39,5 (22,4;58,3)	5,06 (2,77;7,65)	40,6 (13,5;58,2)	0,23 (0,14;0,43)	1,8 (1,34;3,05)	
		-249 Pro	14,2 (7,98;19,3)	86,9 (61,2;132)	20,6 (12,55;30,0)	72,6 (55,15;90,2)	17,25 (11,2;23,32)	41,95 (27,42;61,7)	5,84 (3,28;7,99)	42,5 (16,9;60,85)	0,26 (0,14;0,44)	1,75 (1,29;3,12)	
	TLR9 (T1237 C)	-	14	86,9	21,05	70,4	15,9	40,8	5,49	42,55	0,23	1,77	
		1237T	(7,98;19,5)	(64,3;132)	(11,75;28,6)	(52,8;90,15)	(9,4;22,45)	(22,8;60,45)	(3,21;8,01)	(17,35;62,8)	(0,14;0,42)	(1,29;3,07)	
		-	14,7	94,8	28,6	80,3	17,9	47,6	7,79	62,3	0,29	1,45	
		1237C	(8,79;19,8)	(40,1;143)	(18,7;32,7)	(71,8;112) ³	(16,2;22,95)	(30,35;55,8) ³	(5,15;11,2)	(35,9;71,5)	(0,19;0,51)	(1,2;2,4)	

Примечание: u^1 – $p < 0,05$; u^2 – $p < 0,001$ – сравнение показателей больных инсультом и здоровых резидентов–носителей идентичной аллели; u^3 – $p < 0,05$ – разница показателей между носителями дикого и рискованного аллеля одного рецептора в клинической группе; u^4 – $p < 0,05$ – сравнение показателей, полученных на 10-е и 21-е сутки инсульта у носителей аналогичного аллеля; u^5 – $p < 0,05$ – отличие между показателями 1-х и 21-х суток инсульта у носителей аналогичного аллеля; u^6 – $p < 0,05$ – отличие показателей, полученных на 10-е сутки, от показателей в 1-е сутки ОНМК; при сравнении показателей между носителями дикого и рискованного аллеля одного рецептора в контрольной группе отличий не выявлено.

Таблица 3.4.6.3.

Скорость и степень агрегации тромбоцитов в зависимости от генетического индекса у больных ишемическим инсультом, Me [P25–P75]

индукторы агрегации			Клиническая группа						Контрольная группа	
			индекс 1,4–2			индекс более 2			индекс 1,4–2	индекс более 2
			1 сутки	10 сутки	21 сутки	1 сутки	10 сутки	21 сутки		
коллаген 1 мг/мл	степень	оп.ед	6,68 (4,22;7,82)	5,98 (4,32;7,41)	5,03 (4,59;7,95)	5,22 (3,64;6,85)	5,6 (4,22;7,13)	6,73 (5,86;7,31) ³	6,43 (4,81;8,15)	6,52 (4,97;7,17)
		%	81,1 (49,18;109,5) ⁵	68,5 (50,22;83,73)	80 (78,7;160)	69,2 (23,05;92,7)	79,35 (47,6;87,83)	95,3 (79,2;119,5) ^{3,5}	75,1 (59,9;92,7)	68,7 (52,7;80,1)
	скорость	оп.ед	13,3 (5,69;19,43) ⁶	10,45 (4,2;16,95)	8,08 (4,6;16,7)	9 (4,44;14) ¹	9,1 (3,71;12,03) ¹	10,1 (7,85;13,05)	13,1 (8,24;19,3)	14,9 (4,36;19,5)
		%	94,25 (58,83;126,75) ⁶	59,95 (41,86,15) ^{2,3}	61,9 (51,6;166)	58,1 (21,65;97,7)	63,7 (32,48;79,7)	76,5 (57,95;147)	88,6 (64,3;132)	86,7 (38,1;132)
АДФ 5 мкг/мл	степень	оп.ед	6,79 (4,58;9,23)	6,49 (5,67;9,19)	8,54 (7,25;9,95)	7,13 (5,4;9,44)	7,69 (5,97;9,67)	7,56 (6;8,69)	7,76 (5,99;9,13)	8,96 (6,02;10,3)
		%	55,9 (39,3;77)	53,95 (36,08;59,35) ²	60,7 (39,4;63,7)	53,6 (42,3;4,5)	51,75 (21,25;68,88) ¹	50,7 (29,07;74,43)	71 (53,65;81,5)	69,05 (53,45;77,6)
	скорость	оп.ед	18,2 (9,06;24,5)	18,5 (11,73;23,05)	19,7 (14,8;25,7)	15,4 (10,5;25,6)	18,75 (16,58;24,63)	22,7 (14,3;26,85)	19,7 (10,9;27,75)	25,35 (14,78;32,08)
		%	69,6 (48,75;93,05)	67,8 (55,7;83,05)	70,1 (52,9;90,2)	62,8 (44,6;100)	60,65 (43,05;106,25)	81,55 (42,35;113,3)	70,1 (50,75;90,2)	71,25 (53,73;82,48)
АДФ1,25 мкг/мл	степень	оп.ед	5,69 (4,2;8,62)	7,36 (5,94;8,09) ⁶	8,65 (6,46;9,05) ⁴	5,44 (3,91;7,72) ²	5 (3,98;7,26) ²	6,07 (3,27;8,47)	7,02 (5,33;9,06)	7,86 (6,57;9,49)
		%	14 (5,34;34)	26,1 (15,1;44,55)	23,6 (9,54;30,4)	14,4 (3,39;33,6) ²	17,45 (4,48;31,65) ²	8,44 (2,23;48,65) ²	33,25 (5,6;64,55)	47,15 (17,2;61,93)
	скорость	оп.ед	11,4 (7,07;22,85)	16,4 (10,55;22)	15,5 (11,24,4)	9,02 (6,13;18) ²	11,1 (5,04;17,57) ¹	12,5 (5,35;21,68)	14,8 (8,54;20,38)	18,15 (13,85;23,15)
		%	28,7 (14,55;50)	41,3 (28,75;80,15) ³	33,4 (23,4;65,7)	26,3 (11,8;55,5)	26,35 (11,63;64,13)	17,4 (8,24;43,63)	43,1 (20;60,53)	37,75 (27,33;53,35)

Адреналин 5 мг/мл	степень	оп.ед	5,3 (4,26;6,81)	6,3 (5,25;7,86) ³	6,39 (4,44;7,83)	5,29 (3,81;6,67) ²	6,11 (4,91;6,86)	6,36 (4,64;8,03)	5,81 (4,48;7,4)	6,85 (5,17;8,58)
		%	29,2 (11;67,6) ¹	29 (16;47,3) ²	20,3 (18,4;38,4)	23,8 (9,6;58,2) ²	23,55 (10,02;40,28) ²	27,7 (10,16;56,08) ²	57,8 (20,05;80,25)	61,95 (45,9;75,13)
	скорость	оп.ед	3,69 (2,06;5,44)	6,13 (4;10) ³	4,27 (3,77;6,98)	4,22 (2,35;6,25) ²	5,08 (3,2;7,64)	5,96 (2,89;9,67)	5,06 (2,72;7,82)	6,72 (3,99;8,11)
		%	16,5 (7,89;35,35) ²	16,7 (8,13;30,7) ²	16,7 (10;18,7)	14,8 (7,7;29) ²	14,1 (8,53;32,65) ²	15,7 (6,8;59,7) ²	40,6 (13,45;58,8)	43,9 (36,13;71,73)
спонтанная	степень	оп.ед	1,13 (1,06;1,47)	1,29 (1,16;1,72) ^{2,3}	1,14 (1,07;1,41)	1,21 (1,03;1,42)	1,24 (1,09;1,45)	1,25 (1,04;1,41)	1,13 (1,01;1,39)	1,1 (1,02;1,53)
		%	2,19 (1,27;3,37)	2,14 (1,12;3,74)	2,09 (1,29;2,81)	1,77 (1,06;3,22)	1,97 (1,09;2,7)	1,25 (1,01;2,65)	2,36 (1,41;3,45)	1,74 (0,95;3,23)
	скорость	оп.ед	0,27 (0,19;0,53)	0,24 (0,17;0,54)	0,22 (0,19;0,53)	0,25 (0,16;0,41)	0,24 (0,2;0,35)	0,22 (0,18;0,31)	0,23 (0,16;0,43)	0,26 (0,13;0,44)
		%	2,02 (1,38;3,13)	1,66 (1,07;2,58)	2,05 (1,3;2,91)	2,09 (1,21;4,05)	1,84 (1,32;2,43)	1,68 (1,32;2,49)	1,88 (1,41;3,09)	1,66 (1,04;2,19)

Примечание: $u,^1 - p < 0,05$; $u,^2 - p < 0,01$ – сравнение показателей клинической и контрольной групп – носителей одноименного аллеля; $u,^3 - p < 0,05$ – отличие показателей, полученных на 10-е сутки, от таковых в 1-е сутки ОНМК; $u,^5 - p < 0,05$ – разница показателей на 10-е и 21-е сутки инсульта; $u,^6 - p < 0,05$ – сравнение значений больных с IGI=1,4–2 со значениями больных, имеющих генетический индекс более 2; при сравнении показателей между пациентами с IGI=1,4–2 и пациентами с индексом более 2 в контрольной группе разницы не выявлено.

Заключение.

Толл-подобные рецепторы широко представлены на клетках организма, в том числе на клетках крови и головного мозга [1,55,124]. Переход из неактивного состояния этих рецепторов в активное происходит при их взаимодействии с экзо или эндогенными лигандами с последующей передачей сигнала в ядро клетки и запуском иммунного ответа [5,37,82,97,100,102,108,117]. Результатом активации толл-подобных рецепторов на моноцитах, лимфоцитах, тромбоцитах становится: толл-опосредованная кластеризация, в т.ч. ЛТА с последующим изменением гемореологических свойств крови [86]; толл-опосредованная адгезия и агрегация тромбоцитов, в результате которой активируется сосудисто-тромбоцитарный гемостаз; толл-опосредованная экспрессия тканевого фактора, сопровождающаяся запуском коагуляционного гемостаза; продукция хемокинов и интерлейкинов и формирование иммунологической памяти, что влечет за собой иммунные и аутоиммунные реакции организма. Данные процессы становятся причиной локального нарушения кровообращения и как следствие гипоксии [18,23,31,39]. Эндогенные молекулы, в частности белок теплового шока 70, который образуется при гипоксии, способны возбуждать TLRs, расположенные на клетках головного мозга. В частности, активация толл-подобных рецепторов на клетках макроглии, микроглии, нейронах ведет к апоптозу клеток [124]. Активированная микроглия, а также лимфоциты и моноциты крови синтезируют ИЛ-1, ИЛ-6, действие которых направлено на зону пенумбры, сформированную вокруг ишемического очага. Результатом таких сложных патофизиологических процессов становится пролангация воспалительного ответа и формирование обширного инфаркта мозга [39,79,93].

Рисковые аллели полиморфных вариантов генов TLRs, изученные нами, увеличивают экспрессию TLR2,4, что в той или иной степени влияет на патогенетические звенья ишемического инсульта (рисунок 1) [44,45,46,47,48,49].

Роль полиморфизма и экспрессии TLR в патогенезе ишемического инсульта

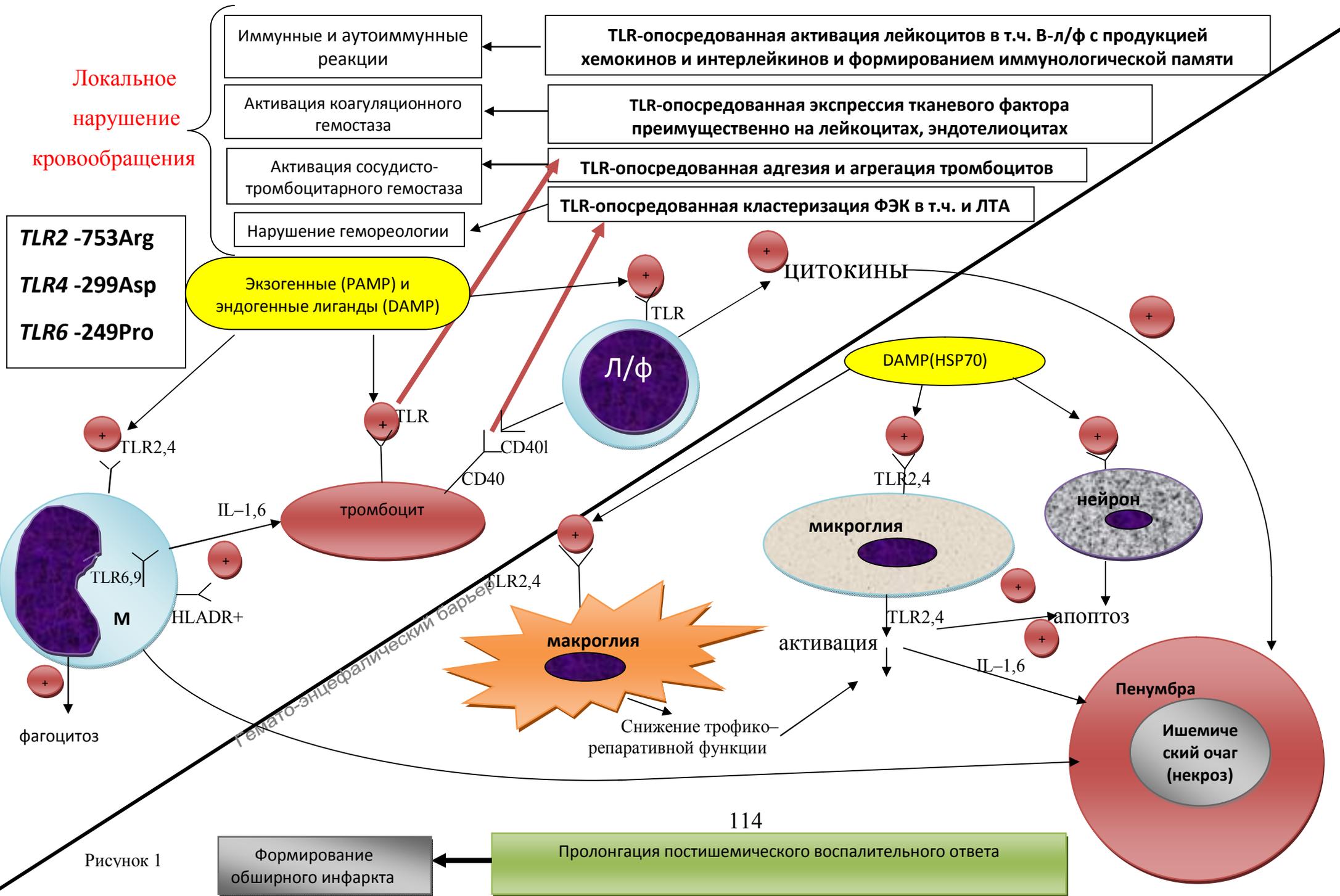


Рисунок 1

Обсуждение

Распознавая высококонсервативные структуры микроорганизмов и локализуясь на многих клетках организма, толл-подобные рецепторы обеспечивают первую линию защиты. Основная задача этих белков состоит в активации генов адаптивного (лимфоцитарного) ответа путем передачи сигнала от паттерна в ядро клетки [5,35,37,40,60,69,113]. Поскольку лигандами для данных рецепторов 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, к которым относится и ишемический инсульт. Биологическим смыслом активации толл-подобных рецепторов эндогенными лигандами является адекватное реагирование иммунной системы в ответ на сигналы иммунной опасности. Такой механизм обеспечивает своевременное выведение из организма модифицированных эндогенных молекул и сохранению антигенного гомеостаза [5,38,40,54,64,69,82,99,105]. Однако некоторые исследования продемонстрировали нарушение распознавания инфекционных агентов и дисбаланс функционирования системы врожденного иммунитета, что в конечном итоге проявлялось как повышение чувствительности к инфекциям и развитие хронических воспалительных заболеваний [64,82,94,102]. Причиной такого «извращенного» иммунного ответа стал генетический полиморфизм toll-like рецепторов, при котором происходят однонуклеотидные замены в молекуле ДНК. Последствием данных SNP становится синтез белка с несколько отличающейся структурой и соответственно функцией.

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 в области пенумбры неизбежно начинается воспалительная реакция, сопровождающаяся продукцией цитокинов. Именно от выраженности и длительности воспаления будет зависеть размер инфаркта и, следовательно, течение и исход инсульта. Поскольку синтез цитокинов напрямую зависит от toll-like рецепторов, то становится понятной роль генетического полиморфизма данных белков. Замена одного нуклеотида на другой в генах, ответственных за синтез TLR, может стать причиной их гиперактивации и, как следствие, выраженной воспалительной реакции и более длительного ее сохранения (рисунок 1) [40,69,94,124].

По результатам исследования, проведенного нами, оказалось, что носительство нормального аллеля *TLR2* (Arg753Gln) увеличивает относительный риск инсульта в 4,9 раза в сравнении с минорным аллелем. В одном из исследований было показано, что у мышей с дефектом *TLR2* отмечается существенно более слабый воспалительный ответ, меньшая инфильтрация лейкоцитами, следовательно, более слабое повреждение клеток канальцев почек, чем у их сородичей дикого типа при ишемическом/реперфузионном повреждении [58]. В другой работе было отмечено, что именно генотип -753Arg/Arg *TLR2* связан с возникновением воспалительной реакции при некоторых заболеваниях [99]. Данное предположение подтвердило изучение идентичного полиморфизма у китайского населения, страдающего ИБС, где не было обнаружено мутантного аллеля [103]. Согласно выводам британских ученых, экспрессия *TLR2* наблюдается и в атеросклеротических бляшках, в результате чего происходит воспаление стенки сосуда, что в дальнейшем вызывает отрыв бляшек и тромбов при атеросклерозе. Принимая во внимание результаты этих исследований, мы предполагаем, что дикий аллель *TLR2* (Arg753Gln), особенно в гомозиготном состоянии, способствует развитию мощной воспалительной реакции в сосудистой стенке, пораженной

атеросклеротической бляшкой. Воспаление приводит к образованию тромбов и отрыву бляшки, что является одной из причин возникновения ОНМК.

Результаты нашего исследования показали, что у пациентов с ишемическим инсультом в Забайкальском крае также чаще встречались носители генотипа Asp/Asp (RR = 2,82 [CI 95%: 1,59–5,02]), в то время как среди здоровых индивидуумов чаще наблюдалось гетерозиготное состояние аллелей *TLR4* (Asp299Gly) (RR=0,16 [CI 95%: 0,08–0,33]). Кроме того, среди обследуемых с легкой степенью тяжести носителей мутантного аллеля *TLR4* (Asp299Gly) было больше, чем у пациентов с тяжелой степенью ОНМК, среди которых чаще встречались обладатели нормального аллеля *TLR4* (Asp299Gly).

Имеются данные и о том, что стимуляция TLR2 и TLR4 клеток жировой ткани обуславливает ее воспаление, инсулинорезистентность и, в итоге, ожирение, сахарный диабет 2 типа, атеросклероз. Исследователями отмечено, что 299Gly–аллель гена *TLR4*(Asp299Gly) ассоциирован со снижением иммунной реакции на ЛПС бактерий вследствие уменьшения экспрессии TLR4 на клетках с последующим прекращением взаимодействия рецептора с лигандом [26]. Продемонстрировано участие TLR4 в развитии экспериментального церебрального инфаркта. В одной из исследовательских работ отметили снижение риска развития атеросклероза при мутационном повреждении TLR4. Другие исследователи указали, что существенную роль в процессе атерогенеза играет наличие аллеля –299Gly гена *TLR4* [77,99,105,173]. Такие противоречивые результаты не позволяют сделать однозначных выводов, но дают нам возможность предположить, что носительство Asp/Asp-генотипа и Asp-аллеля *TLR4*(Asp299Gly) повышает риск развития атеросклероза, а впоследствии и инсульта. Гетерозиготное носительство аллелей несет на себе защитную функцию, предотвращая возникновение инсульта, либо способствуя течению ОНМК в более легкой форме.

Изучение полиморфного варианта *TLR6* (Ser249Pro) продемонстрировало, что в группе больных с ОНМК в Забайкальском крае значительно чаще встречались носители Pro-аллеля, у которых риск развития заболевания составил 2,14 [CI 95%: 1,43–3,21]. Подобные результаты были получены у жителей Кавказа с ИБС. Исследователи предположили, что Ser-аллель *TLR6* предохраняет от развития атеросклероза [149]. Ser-аллель *TLR6*(Ser249Pro) способствует уменьшению количества «функциональных карманов» в LRR- домене рецептора, в результате чего белок является менее доступным при связывании с лигандом. И наоборот, Pro-аллель способствует увеличению числа таких «карманов». Ser/Ser-генотип уменьшает активацию транскрипционного фактора NF- κ B и синтез ИЛ-6, что снижает риск развития атеросклероза [149]. Таким образом, Pro-аллель имеет предикторную направленность к данному заболеванию, а Ser-аллель обладает протективными свойствами. Аналогичная мысль была высказана при выявлении преобладания носительства генотипа Pro/Pro *TLR6* среди пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом, которое ассоциировано с обострением и хронизацией воспаленного процесса в шейке матки [54], а также у больных раком молочной железы женщин в Забайкальском крае [45,59].

При сравнении частот по полиморфному варианту *TLR9* (T-1237C) у лиц клинической группы отмечалось преобладание носителей мутантного аллеля по отношению к обследуемым контрольной группы, относительный риск заболевания для больных с ОНМК оказался равным 1,93 [CI 95%: 1,06–3,5], причем данный показатель для обладателей С-аллеля *TLR9* (T-1237C) в состоянии гомозиготы составил 3,35 [CI 95%: 0,37–30,51]. Следовательно, наличие аллеля – 1237C как в состоянии гомо и гетерозиготы может способствовать развитию цереброваскулярной патологии. Согласно данным доктора Bouter, мутантный аллель полиморфного варианта *TLR9* (T-1237C) опосредует повышенное сродство к NF κ B, в результате чего повышается

транскрипционная активность генов и, в последующем, приводит к усилению синтеза цитокинов и хемокинов.

Генетический полиморфизм определяет индивидуальные различия в предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям. Такие заболевания часто ассоциируются с полиморфизмами ряда генов. Поэтому для выявления количества минорных аллельных вариантов, оказывающих в совокупности аддитивный рискованный эффект, вычисляется генетический индекс. Расчет индивидуального генетического индекса в исследовании, проведенном нами, показал, что у больных ишемическим инсультом чаще встречался индекс в пределах 2 и более, по сравнению со здоровыми респондентами, среди которых наиболее распространенным оказался индекс 1,4–1,6. Причем индексы 2–2,2 и 2,4 и более доминировали у больных с тяжелой степенью состояния.

TLRs широко представлены на клетках организма. В зависимости от количества проявляющихся TLRs клетки могут пребывать в активном и неактивном состоянии [66,69,99]. Количество одновременно экспрессируемых TLRs и их сочетание специфичны для каждого типа клеток. На экспрессию и активацию toll-like рецепторов влияют многие факторы, в том числе и полиморфизм. Так, например, в одной из работ показано, что полиморфизм *TLR9* –1486T/C (rs187084) повышает его экспрессию и совместно с различными возбудителями инфекции может поддерживать воспалительный процесс и способствовать развитию рака шейки матки [147,152]. В некоторых работах указано снижение экспрессии толл-подобных рецепторов при введении определенных препаратов [151,169]. Изучив экспрессию TLR2 и TLR4 на моноцитах периферической крови у больных ишемическим инсультом, мы пришли к выводу, что общее количество моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, TLR4, количество активированных моноцитов, количество активированных моноцитов с экспрессированными TLR2, TLR4, исследованные на 10 сутки ишемического

инсульта, увеличивалось, причем при тяжелом течении инсульта отмечалось снижение данных показателей, что может иметь клинико-прогностическое значение. Это объясняется тем, что количество моноцитов при тяжелых состояниях снижается, вместе с чем соответственно уменьшается и количество активированных моноцитов, в том числе и с экспрессией толл-рецепторов.

Полученные нами результаты согласуются с выводами, сделанными в одном из исследований, где отмечалось увеличение уровня экспрессии TLR4 на поверхности моноцитов больных с атеротромботическим ишемическим инсультом [107]. У пациентов с легкой степенью тяжести общее количество моноцитов, количество активированных моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, TLR4, было больше, нежели у больных с тяжелой степенью заболевания. Возможно, данный процесс связан с миграцией моноцитов в очаг ишемии и уменьшением их количества в периферической крови. MFI был выше у пациентов с повторным ОНМК, нежели у исследуемых с впервые диагностированным инсультом. Исследование количества моноцитов, в том числе и активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, с учетом генетического индекса показало преобладание данных показателей у пациентов клинической группы как с индексом 1,4–2, так и с индексом более 2 в отличие от группы сравнения. Среди больных инсультом в группе с высоким IGI обнаружено снижение количества моноцитов с экспрессированным TLR2, количества активированных моноцитов и количества активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, по сравнению с больными с низким IGI.

Участие иммуновоспалительных процессов в патогенезе церебрального инсульта имеет немаловажное значение. Так как при кратковременной фокальной ишемии, в результате которой происходит первичное повреждение отдельных нейронов, активируются клетки глии, которые индуцируют реакции локального воспаления в области ишемического очага,

что агрессивно действует на нейроны перифокальной зоны [125,138]. Реакциям локального воспаления принадлежит важное место в механизмах вторичного повреждения ткани головного мозга и формированию инфаркта в области ишемического очага [57]. Причем даже небольшое повышение уровня провоспалительных цитокинов ведет к прогрессированию атерогенеза и развитию хронической ишемизации мозга с развитием обширных очагов некроза, в результате чего возникают отсроченные нейрональные потери.

В остром периоде ишемического инсульта в периферической крови увеличивается концентрация IL-1 β , IL-6, снижается – IL-10. Концентрация интерлейкинов зависит от стадии и тяжести заболевания. Зарегистрированное нами содержание IL-1 β и IL-6 в 1-е сутки инсульта, а также уровень IL-6 и IL-10 в период формирования инфаркта мозга оказалось достоверно выше у пациентов с тяжелой степенью заболевания, нежели у исследуемых с легкой степенью. У пациентов с повторным сосудистым эпизодом содержание IL-1 β на 10-е сутки заболевания превышало в 9,6 раза таковой у больных с впервые диагностированным инсультом. Полученные нами результаты не согласуются с анализом провоспалительной цитокиновой системы у больных с тяжелым ишемическим инсультом в одном из исследований. Так, определение у этих больных концентрации IL-1 α показало ее снижение на 50,95 % (в 2,03 раза) в сравнении с нормой, а IL-6 – на 85,49 % (в 6,89 раза) [71]. Некоторые экспериментальные работы описывают повышение уровня IL-6 в остром периоде ОНМК и его корреляцию с большим объемом инфаркта мозга [117,142,183]. Установлено, что уровень IL-6 в первые 48 часов значимо выше в крови пациентов с большим размером очага инфаркта мозга. Другие исследования выявили более высокий уровень IL-6 у пациентов с кортикальным инфарктом по сравнению с субкортикальным и также подтвердили прямую зависимость концентрации IL-6 от размера очага независимо от механизма ишемического инсульта [57,157]. В нашем

исследовании мы не определяли размеры и локализацию очага инфаркта, с чем может быть связана концентрация интерлейкинов.

Нами замечена связь повышения уровня $IL-1\beta$ к концу периода формирования инфаркта мозга и к окончанию острого периода инсульта с носительством рискованного аллеля *TLR2* (Arg753Gln) в отличие от носителей нормального аллеля данного рецептора. Аналогичные результаты наблюдались и у носителей полиморфного варианта *TLR9* (T-1237C). Среди пациентов с ишемическим инсультом, имеющих генетический индекс более 2, содержание $IL-6$ на 21 сутки исследования превалировало над таковым у пациентов с индексом в пределах 1,4–2 и в группе контроля. По данным литературы, после перенесенного инсульта уровень $IL-1\beta$ сохраняется достоверно увеличенным в течение нескольких дней, что указывает на интенсивность локальной воспалительной реакции и их роль в процессе повреждения ткани мозга [40,80].

При ишемическом инсульте повышение количества моноцитов сопровождается снижением содержания $IL-1\beta$, увеличение активированных моноцитов, на поверхности которых экспрессирован *TLR4*, ассоциируются с низкими концентрациями $IL-1\beta$.

На сегодняшний день активно изучаются межклеточные взаимодействия, которые регулируются цитокинами. Адгезия между тромбоцитами и лейкоцитами является важным звеном механизмов, способствующих миграции лейкоцитов в область повреждения с последующим развитием воспаления. Показано, что нарушения микроциркуляции могут приводить к инфаркту миокарда и инсульту. В физиологических условиях 3–5% лейкоцитов периферической крови образуют агрегаты, при ряде патологических состояний их количество повышается до 45%. Проведено ряд работ, посвященных изучению ЛТА при атеросклерозе, ИБС, являющихся факторами риска ишемического инсульта. В последние годы вновь появились сообщения о роли ЛТА и в патогенезе

ОНМК. В связи с этим нами предпринята попытка определить ЛТА у больных ишемическим инсультом и влияние носительства изучаемого полиморфизма генов toll-like рецепторов на образование агрегатов.

По данным проведенного нами исследования, количество лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов и число адгезированных тромбоцитов на лимфоците было больше у больных ишемическим инсультом как в 1-е, так и на 10-е сутки от начала ОНМК, нежели у исследуемых контрольной группы, а к завершению острого периода не отличалось от здоровых резидентов. При этом у больных с повторным сосудистым эпизодом количество агрегатов и адгезированных тромбоцитов на 21 сутки мозгового удара было больше, чем у обследуемых с впервые диагностированным инсультом, что может быть связано с поврежденным гематоэнцефалическим барьером после первого перенесенного инсульта. У пациентов с тяжелой степенью инсульта в острейший период ЛТИ оказался выше, чем у исследуемых со средней степенью тяжести заболевания. Мы предполагаем, что данный процесс наблюдался в результате более сильного воспалительного ответа у тяжелобольных инсультом, что и привело к большей адгезии тромбоцитов к 1 лимфоциту. Результаты изучения ЛТА и ЛТИ у больных ХИГМ в проведенном недавно исследовании показали возрастание количества лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов в сравнении с резидентами контрольной группы, при этом лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс также увеличивался ($p < 0,05$) [40]. Также увеличение агрегатов наблюдалось и у больных с инфарктом миокарда. А вот у пациентов со стенокардией отмечалось снижение ЛТА и ЛТИ в отличие от здоровых участников исследования. Авторы статьи предполагают, что это связано с наличием признаков гиперфункции тромбоцитов, что указывает в свою очередь на исходную гиперфункцию кровяных пластинок [56]. Нами определено, что у больных ишемическим инсультом повышение как общего количества моноцитов, так и активированных моноцитов, экспрессирующих

TLR2, сопровождается повышением количества лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов, увеличение общего количества моноцитов и активированных моноцитов, экспрессирующих TLR4, ассоциировано с высоким ЛТИ. Это объясняется тем, что активированный толл-рецептор запускает синтез интерлейкинов, которые в свою очередь способствуют адгезии клеток. Чем выше индивидуальный генетический индекс, тем больше ЛТА образуется в кровотоке в острейший период ОНМК и меньшее количество агрегатов выявляется к 21 суткам заболевания. Высокий генетический индекс говорит о носительстве рискованных аллелей, которые опосредованно через экспрессию toll-like рецепторов и систему цитокинов влияют на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию.

Интактный неактивированный эндотелий в норме предотвращает адгезию тромбоцитов и других воспалительных клеток к сосудистой стенке. Повреждение сосудов, вызванное различными факторами, в число которых входит и ишемия, приводит к эндотелиальной дисфункции с активацией тромбоцитов. Взаимодействие тромбоцитов со стенкой сосудов, в составе которой имеются клетки эндотелия, фибробласты, гладкомышечные клетки и компоненты ЕСМ, играет существенную роль в развитии нормальных защитных реакций тромбоцитов и в запуске некоторых патологических процессов [87]. Процесс образования тромбов является одной из причин возникновения ишемического инсульта. Поэтому изучение агрегации тромбоцитов было обязательным этапом нашего исследования. Полученные результаты продемонстрировали, что у пациентов клинической группы на протяжении всего острого периода инсульта в сравнении с донорами контрольной группы степень индуцированной агрегации тромбоцитов была сравнительно больше, а скорость ниже при внесении адреналина ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Степень и скорость уменьшались при добавлении АДФ в концентрациях 5 и 1,25 мкг/мл ($p < 0,05$; $p < 0,001$), а также коллагена ($p < 0,05$). Спонтанная агрегация тромбоцитов превалировала у больных на 10–е сутки

заболевания над аналогичным показателем добровольцев контрольной группы. Анализ результатов в динамике заболевания показал, что в острейший период степень и скорость агрегационной активности тромбоцитов, индуцированной АДФ в концентрациях 5 и 1,25 мкг/мл, была достоверно ниже, а спонтанная агрегация выше, чем на 21 сутки от начала инсульта. Мы полагаем, что снижение агрегации тромбоцитов при действии различных лигандов «in vitro» у больных ишемическим инсультом может быть связано с повышением их спонтанной агрегации «in vivo».

Корреляционный анализ Спирмена показал, что при ОНМК увеличение MFI, общего количества моноцитов, количество активированных моноцитов, в том числе и экспрессирующих TLR2, сопровождается снижением агрегационной активности, индуцируемой адреналином, повышение количества моноцитов, количества активированных моноцитов, включая клетки с экспрессированными TLR2, TLR4, ассоциировано с увеличением степени агрегации, индуктором которой является АДФ 1,25 мкг/мл. Учитывая, что индуцированная гипоагрегация in vitro у больных инсультом говорит не о снижении агрегационной активности тромбоцитов, а, скорее, о тромбастении либо (и) их активном потреблении, то правильнее степень агрегационной активности кровяных пластинок ассоциировать с увеличением количества активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2. У носителей предиктивных аллелей генетического полиморфизма toll-like рецепторов параметры агрегации тромбоцитов разнонаправленные, однако у больных-обладателей двух и более предиктивных для развития ишемического инсульта аллелей в геноме индуцированная (преимущественно коллагеном и низкими дозами АДФ) агрегация сопровождается увеличением радиуса агрегатов в динамике заболевания, а также более низкой степенью светопропускающей способности при индукции агрегации.

Таким образом, генетический полиморфизм Toll-рецепторов (*TLR2*(Arg753Gln), *TLR4*(Asp299Gly), *TLR6*(Ser 249Pro), *TLR9*(T –1237C)) может влиять на возникновение ишемического инсульта, а также на его патогенетические звенья, что, в свою очередь, определяет течение и исход ОНМК. Данное воздействие опосредуется через изменение экспрессии рецепторов и синтеза цитокинов, от которых зависит образование коагратов.

4. Заключение

Генетический полиморфизм играет важную роль в механизме развития мультифакторных заболеваний, влияя на отдельные звенья патогенеза. Для исследования полиморфизма toll-like рецепторов нами были обследованы 115 больных ишемическим инсультом. Результаты показали, что предикторами ишемического инсульта в Забайкальском крае являются аллели *TLR2*–753Arg, *TLR6* –249Pro, *TLR9* –1237C и *TLR4* –299Asp/Asp-генотип, причем носительство *TLR4* –299Asp-аллели ассоциировано с тяжелым течением заболевания. У пациентов с ишемическим инсультом повышена экспрессия *TLR2* и *TLR4* на моноцитах, в том числе и на активированных моноцитах, имеющая клиничко-прогностическое значение. Экспрессия *TLRs* в свою очередь влияет на продукцию цитокинов и адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов. Комплексное носительство предиктивных аллелей полиморфизма генов toll-like рецепторов у больных инсультом вызывает цитокиновый дисбаланс с увеличением концентрации провоспалительных интерлейкинов, усиление лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и сравнительную индуцированную гипоагрегацию тромбоцитов с увеличением радиуса агрегатов в динамике инсульта.

Выводы:

1. Предикторами ишемического инсульта являются аллели: –753Arg *TLR2*, –249Pro *TLR6*, –1237C *TLR9* и генотипы –753Arg/Arg *TLR2*, –299Asp /Asp

TLR4, -249Pro/ProTLR6 с отношением шансов от 1,49 до 3,35. Для развития инсульта имеет значение не только качество полиморфных маркеров, но и количество предикторных аллельных вариантов. Комбинация аллелей – 753ArgTLR2×-299AspTLR4×-249ProTLR6×-1237CTLR9 в геноме встречается у 25,2% заболевших против 17% в группе контроля.

2. С тяжелым течением ишемического инсульта ассоциировано носительство TLR4-299Asp - аллели в гомозиготном состоянии, а также наличие большого количества аллеломорфов в геноме, проявивших приверженность к болезни.

3. У пациентов с ишемическим инсультом увеличено число моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4. Чем тяжелее инсульт, тем выше MFI (индекс экспрессии) и количество моноцитов, экспрессирующих TLR2 и TLR4. При повторном инсульте к моменту завершения формирования зоны инфаркта мозга MFI возрастает.

4. Общее число моноцитов, в том числе экспрессирующих TLR2, у больных ишемическим инсультом к окончанию периода формирования инфаркта мозга зависит от совокупного носительства (2 и более) предиктивных аллеломорфов полиморфизма генов TLRs.

5. В остром периоде ишемического инсульта в периферической крови увеличивается концентрация в большей мере провоспалительных (IL-1 β , IL-6), в меньшей – противовоспалительных (IL-10) цитокинов. Уровень исследуемых интерлейкинов зависит от стадии и тяжести заболевания. У больных инсультом при увеличении экспрессии TLR4 отмечается снижение концентрации IL-1 β . Носительство -753Gln TLR2, -1237C TLR9 сопровождается увеличением уровня IL-1 β и IL-6 в крови на всем протяжении острого периода мозгового кровообращения. Комплексное носительство предиктивных аллелей генов toll-like рецепторов как в норме, так и у больных инсультом к концу острого периода заболевания вызывает цитокиновый дисбаланс с увеличением концентрации IL-1 β и IL-6.

6. В крови больных инфарктом мозга в остром периоде многократно увеличивается число лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов. В динамике инсульта у больных с повторным церебральным инфарктом сохраняются высокие значения адгезии. У пациентов с тяжелым по сравнению с легким течением острого нарушения мозгового кровообращения на 10–21 сутки число агрегатов уменьшено. Чем выше количество активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, тем больше формируется лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов. Чем выше число активированных моноцитов, экспрессирующих TLR4, тем активнее тромбоциты адгезируют к одному лимфоциту. Чем выше общий генетический индекс, тем больше лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов образуется в кровотоке в острейший период острого нарушения мозгового кровообращения и меньшее количество агрегатов выявляется к 21 дню заболевания.

7. При остром нарушении мозгового кровообращения увеличение степени экспрессии TLR2, TLR4, общего количества моноцитов, в том числе экспрессирующих TLR2, ассоциировано со снижением степени и скорости агрегации тромбоцитов, индуцированной адреналином. Повышение количества активированных моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4, сопровождается увеличением степени агрегации кровяных пластинок, вызванной введением АДФ 1,25 мкг/мл. Высокая концентрация IL-6 ассоциируется с индуцированной коллагеном, АДФ и адреналином вторичной гипоагрегацией тромбоцитов. У больных – обладателей двумя и более предиктивными аллелями полиморфизма Toll-like рецепторов в геноме, в динамике инсульта отмечаются сравнительно низкие показатели степени и скорости индуцированной агрегации кровяных пластинок с увеличением радиуса агрегатов.

Список литературы:

1. Абатуров, А.Е. Молекулярные механизмы неспецифической защиты респираторного тракта: распознавание патоген –ассоциированных молекулярных структур [Электронный ресурс] /А.Е. Абатуров// Здоровье ребенка. – 2006. – №2. – Режим доступа: <http://www,mifua.com/archive/article/978>. – 20.03.2012.
2. Артериальная гипертония и головной мозг / В.И. Скворцова [и др.]// Журнал неврологии и психиатрии. – 2005. – № 3. – С.2 –5.
3. Афанасьев, Д. Толл-подобные рецепторы – лингвистический казус в происхождении термина /Д. Афанасьев// Новые медицинские технологии. – 2006. – №3. – С. 31 –32.
4. Белкин, А. А. Патогенетическое понимание системы церебральной защиты при внутричерепной гипертензии и пути ее клинической реализации у больных с острой церебральной недостаточностью /А.А. Белкин// Интенсивная терапия. – 2006. – № 3. – С. 127 –134.
5. Бережная, Н.М. Toll-like рецепторы и онкогенез /Н.М. Бережная //Онкология. – 2013. – Т. 15., №2. – С. 76 –87.
6. Беридзе, М.З. Механизмы отсроченной гибели нейронов при острой церебральной ишемии в эксперименте / М.З. Беридзе, И.Т. Урушадзе, Р.Р. Шакаришвили // Инсульт. – 2001. – № 3. – С. 35 –40.
7. Болдырев, А. А. Нейрохимия / А. А. Болдырев [и др.]. – М.: Дрофа, 2010. – 400 с.
8. Болдырев, А. А. Двойственная роль свободнорадикальных форм кислорода в ишемическом мозге / А.А. Болдырев // Нейрохимия. – 2005. – Т. 12, № 3. – С. 246 –257.
9. Болдырев, А. А. Дискриминация между апоптозом и некрозом нейронов под влиянием окислительного стресса / А.А. Болдырев // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 7. – С. 981 – 990.

10. Борисов, А.В. Роль иммунных и воспалительных факторов в патогенезе инсульта / А.В. Борисов, А.Е. Семак // Медицинские новости. – 2010. – №1. – С. 3 –7.
11. Бочков, Н.П. Клиническая генетика. – М.: ГЭОТАР – Медиа. – 2001.– 441с.
12. Бояджян, А.С. Интерлейкины и хемокины при остром ишемическом инсульте, отягощенном и не отягощенном диабетом / А.С. Бояджян, Э.А. Аракелова, В.А. Айвазян // Цитокины и воспаление. – 2008. – № 1. – С. 25 –30.
13. Верещагин, Н.В. Инсульт: состояние проблемы/ Н.В. Верещагин, М.А. Пирадов//Неотложные состояния в неврологии: труды всероссийского общества неврологов России. – 2002.– С. 5 –12.
14. Витковский, Ю. А. Влияние цитокинов на лимфоцитарно–тромбоцитарную адгезию / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов// Медицинская иммунология. – 2002. – Т. 4., № 2. – С. 135 –136.
15. Витковский, Ю.А. Феномен лимфоцитарно–тромбоцитарного розеткообразования / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 35 –37.
16. Влияние интерлейкинов 4 и 10 на систему гемостаза in vitro / Ю.А. Витковский [и др.] // Иммунология. – 2001. – № 1. – С. 43 –46.
17. Ганковская, О.А. Молекулярно–генетические механизмы врожденного иммунитета на уровне слизистых оболочек при патологии инфекционного генеза: автореф. дис. ... д –ра. мед. наук : 14.03.09 / Ганковская Оксана Анатольевна; Москва. РАМН. – Москва, 2010. – 43 с.
18. Ганнушкина, И. В. Новое в патофизиологических нарушениях мозгового кровообращения / И. В. Ганнушкина, А. Л. Антелова // Журнал неврологии и психиатрии. – 2007. – № 6. – С. 4 –9.

19. Гималова, Г.Ф. Молекулярно–генетические аспекты дерматита / Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас, Э.К. Хуснутдинова // Медицинская генетика. – 2012. – №12. — С.18 –26.
20. Гинтер, Е.К. Медицинская генетика. – М.: Медицина. – 2003. – 448с.
21. Гусев, Е.И. Глутаматная нейротрансмиссия и метаболизм кальция в норме и при ишемии головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова // Успехи физиологических наук. – 2002. – № 33. – С. 80 –93.
22. Гусев, Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
23. Гусев, Е.И. Неврология / Е.И. Гусев, А.Н. Коновалов. – М.: Медицина, 2000. – 290 с.
24. Гусев, Е.И. Проблема инсульта в России // Инсульт. – 2003. – № 9. – С. 3 –5.
25. Гусев, Е.И. Терапия ишемического инсульта / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова //Нервные болезни. – 2002. – №1. – С.3 –7.
26. Дмитриева –Здорова, Е. В. Изучение генетической предрасположенности к atopической бронхиальной астме с использованием полиморфных маркеров генов –кандидатов: автореф. дис. ...канд.биол.наук: 03.01.03 /Дмитриева –Здорова Елена Викторовна. Москва. РАМН. – Москва, 2010. – 27 с.
27. Дорофеев, А.Э. Генетическая детерминированность изменений кишечного микробиома и его роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника/ А.Э. Дорофеев, О А. Рассохина//Лекарственные средства. – 2013. – №6. – С. 61 – 69.
28. Дубинская, Г.М. Взаимосвязь полиморфизма гена рецептора TLR4 с тяжестью течения и эффективностью лечения хронического гепатита С/ Г.М. Дубинская, Т.С. Кириченко, Т.И. Коваль // Клиническая инфектология и паразитология. – 2014. – №3. – С. 25 –32.

29. Ефремова, Н.М. Изучение содержания белка 8100p и первичных и вторичных антител к нему у больных с острой церебральной ишемией в зависимости от патогенетических вариантов инсульта / Н.М. Ефремова [и др.] // Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. – СПб.: Фолиант, 2000. – 294 с.
30. Жданов, Г.Н. Изучение содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных в остром периоде ишемического инсульта / Г.Н. Жданов, М.М. Герасимова // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5., № 1. – С. 27–30.
31. Жданов, Г.Н. Клинические и иммунологические аспекты в дифференциальной диагностике, лечении и прогнозировании ишемического инсульта: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук : 14.00.13 / Жданов Геннадий Николаевич. – Тверь. Гос. мед. академия. – Москва, 2002. – 25 с.
32. Жданов, Г.Н. Роль интерлейкина 1- α в патогенезе острого периода ишемического инсульта / Г.Н. Жданов. М.М. Герасимова // Неврологический вестник. – 2005. – Т. XXXVII., №1–2. – С. 18–21.
33. Зинчук, В. В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно–антиоксидантного равновесия организма / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Успехи физиологических наук. – 1999. – № 30. – С. 38–48.
34. Зинчук, В.В. Функциональная система транспорта кислорода: фундаментальные и клинические аспекты / В.В. Зинчук, Н.А. Максимович, М.В. Борисюк / под ред. В.В. Зинчука. – Гродно, 2003. – 236 с.
35. Изучение роли полиморфизма генов толл-подобных рецепторов и цитокинов в патогенезе псориаза / В.А. Охлопков [и др.] // Омский научный вестник. – 2012. – №1. – С.53–55.

36. Ионова, В. Г. Реологические свойства крови при ишемических нарушениях мозгового кровообращения / В.Г. Ионова, З.А. Суслина // Неврология. – 2002. – № 3. – С. 4–9.
37. Катуткина, О.Р. Функции Toll-подобных рецепторов как компонента врожденного иммунитета и их участие в патогенезе дерматозов различной этиологии/ О.Р. Катуткина// Вестник дерматологии и венерологии. – 2011. – №2. – С.18–25.
38. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: Изд-во Фолиант, 2008. – 552 с.
39. Клинико-иммунобиохимический мониторинг факторов локального воспаления в остром периоде полушарного ишемического инсульта / В.И. Скворцова [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии. – 1999. – Т. 99., № 5. – С. 27–31.
40. Князева, А.С. Генетический полиморфизм некоторых цитокинов в патогенезе хронической ишемии мозга: дис. ... канд. мед. наук : 14.03.03: защищена 17.04.15 : утв. 21.06.15 / Князева Анна Сергеевна. – Чита, 2014. – 178 с.
41. Ковальчук, Л.В. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека/ Л.В. Ковальчук [и др.]// Человек и его здоровье. – 2012. – №2. – С. 147–153.
42. Козинца, Г.И. Исследование системы крови в клинической практике / Г.И. Козинца, В.А. Макарова. – М.: Медицина, 1997. – 346 с.
43. Колпикова, О. С. Влияние некоторых препаратов, используемых в лечении цереброваскулярных расстройств на процессы свободно-радикального окисления в модельных системах / О.С. Колпикова, Р.Р. Фархутдинов, Р.В. Магжанов // Журнал неврологии и психиатрии. – 2002. – № 8. – С. 22–25.
44. Крохалева, Ю.А. Носительство генетического полиморфизма toll-рецепторов и степень экспрессии некоторых из них у больных

- ишемическим инсультом/ Ю.А. Крохалева, Н.Н. Страмбовская, А.Е. Алферова// Врач -аспирант. – 2015. – №1(68). – С. 26 –32.
45. Крохалева, Ю.А. Носительство генетического полиморфизма толл-рецепторов и концентрация IL–1 β , IL–6 в плазме крови у больных мозговым инсультом/ Ю.А. Крохалева, Н.Н. Страмбовская//Успехи современного естествознания. – 2015. – № 7. – С. 7 –11.
46. Крохалева, Ю.А. Роль толл-подобных рецепторов в патогенезе неинфекционных заболеваний /Ю.А. Крохалева, А.В. Марковский, Н.Н. Страмбовская// Забайкальский медицинский журнал. – 2015. – №4. – С. 11 –17.
47. Крохалева, Ю.А. Содержание провоспалительных цитокинов и васкулярной молекулы адгезии 1 типа в остром периоде ишемического инсульта/ Ю.А. Крохалева, Н.Н. Страмбовская, П.П. Терешков, А.Е. Алферова// Вестник ивановской медицинской академии. – 2015. – №4. – С.49 –52.
48. Крохалева, Ю.А. Носительство генетического полиморфизма (*TLR2*(Arg 753 Gln), *TLR3* (Phe 412 Leu)) и концентрация IL –1 β , IL –6 в плазме крови у больных мозговым инсультом/ Ю.А. Крохалева, Н.Н. Страмбовская// Дальневосточный медицинский журнал. – 2016. – №1. – С.59 –62.
49. Крохалева, Ю.А. Генетический полиморфизм Toll-рецепторов у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае / Ю.А. Крохалева, Н.Н. Страмбовская, А.Е. Алферова// Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – №4 (электронный вариант)
50. Крыжановский, Г.Н. Дизрегуляторная патология / Г.Н. Крыжановский. – М.: Медицина, 2002. – 96 с.
51. Нейроиммунопатология: руководство / Г.Н. Крыжановский [и др.]. – М. 2003. – С. 282.

52. Крылов, В.В. Сосудистый спазм при разрыве аневризм головного мозга / В.В. Крылов, С.А Гусев, А.С. Гусев // Нейрохирургия. – 2000. – № 3. – С. 4–13.
53. Крючко, Т.А. Генетический полиморфизм toll-подобного рецептора 4 – предиктор склонности к рецидивирующему течению хронического пиелонефрита у детей [Электронный ресурс] / Т.А. Крючко, В.П. Остапенко, Т.В. Кушнерева // Здоровье ребенка. – 2013. – №7. – Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/37359>. – 2.10.2015.
54. Лемякина, Е.В. Роль оценки полиморфизма генов цитокинов в оптимизации лечения хронических неспецифических цервицитов: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.01.01/ Лемякина Елена Викторовна; Волгоград. Государственный медицинский университет. – Волгоград, 2014. – 25 с.
55. Лемякина, Е. В. Особенности SNP полиморфизма генов TOLL-рецепторов при хроническом неспецифическом цервиците [Электронный ресурс]/ Е. В.Лемякина, Б. Ю. Гумилевский// Врач – аспирант. – 2013. – Режим доступа: [http:// vrach – aspirant.ru/articles/gynecology/13480](http://vrach-aspirant.ru/articles/gynecology/13480). – 20.10.2015.
56. Лимфоцитарно–тромбоцитарная адгезия у больных со стенокардией и острым коронарным синдромом [Электронный ресурс]/Романюк С.В. Витковский Ю.А., Солпов А.В.// Современные научные исследования и инновации. – 2012. – №11. – Режим доступа: <http://web.snauka.ru/issues/2012/11/18607> – 2.05.2016.
57. Лысенко, В.И. Ишемический инсульт – особенности патогенеза и алгоритм базисной терапии [Электронный ресурс] / В. И. Лысенко, Н. В. Дьолог. – 2009. – Режим доступа: <http://uf.ua/lib/470>. – 20.07.2015.
58. Майданник, В.Г. Роль Toll–подобных рецепторов в патогенезе патологии почек [Электронный ресурс]/ В.Г. Майданник// Здоровая Украина. – 2015. – №3 – 4. – Режим доступа: <http://health> –

- ua.com/stati/inf_zabolevaniya/rol_toll_podobnyih_retseptORov_v_patogeneze_patologii_pochek.html.– 15.01.2016.
59. Марковский, А.В. Ассоциация полиморфизма *Ser249Pro* гена *TLR6* с раком молочной железы в Забайкальском крае / А.В. Марковский, Н.Н. Страмбовская// Дальневосточный медицинский журнал. – 2015. – №4. – С. 32–34.
60. Меджитов, Р. Врожденный иммунитет /Р. Меджитов, К. Джановой// Казанский медицинский журнал. – 2004. – Т. 85., № 3. – с. 161–167.
61. Молекулярно-генетические основы возрастной макулярной дегенерации / Э.В. Бойко [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2013. – №2. – С. 81–85.
62. Морозова, И.Ю. Патогенетическая роль лейкоцитоза и агрегационной активности форменных элементов крови у больных мозговым инсультом: дис. ...канд. мед. наук : 14.03.03: защищена 14.01.15: утв. 21.06.15 / Морозова Ирина Юрьевна. – Чита, 2014. – 183 с.
63. Новиков, Д.К. Клиническая иммунопатология/ Д.К. Новиков, Л.Д. Новиков. – М.: Медицинская литература, 2009. – 464 с.
64. Ожегова, Д.С. Функциональная вариабельность генов подверженности инфекционным заболеваниям: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.15 / Ожегова Диана Сергеевна. – Томск, 2009. – 20 с.
65. Орлова, Е.В. Роль катехоламинов и toll-подобных рецепторов в иммунорегуляции при рассеянном склерозе / Е.В. Орлова, А.Н. Бойко // Журнал неврологии и психиатрии. – 2012. – № 8. – С. 82–85.
66. Охтова, Ф.Р. Ишемический инсульт и показатели клеточного и гуморального иммунитета (клинико-иммунологическое исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11: защищена 9.12.14: утв. 5.05.15 / Охтова Фатима Рамазановна. – Москва, 2014. – 107 с.
67. Пальцев, М.А. Иммуногенетика человека и биобезопасность / М.А. Пальцев, Р.М. Хайтов, Л.П. Алексеев. – М.: Медицина, 2009. – 256 с.

68. Пальцев, М.А. Руководство по нейроиммуноэндокринологии / М.А. Пальцев, М.И. Кветной. – М.: Медицина, 2008. – С. 497–499.
69. Питиримова, Л.Н. Иммунологические и генетические предикторы привычного невынашивания беременности: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.03.10 / Питиримова Любовь Николаевна. – Волгоград. Гос. мед. ун –т. – Санкт –Петербург, 2014. – 26 с.
70. Понасенко, А.В. Значение TOLL–подобных рецепторов в патогенезе инфекционного эндокардита /А.В. Понасенко, А.С. Головкин, Е.В. Григорьев // Приобретенные пороки сердца. – 2012. – №6. – С. 87–90.
71. Провоспалительные цитокины в прогнозе ишемического инсульта / Т.С. Мищенко [и др.] // Новости медицины и фармации. – 2010. – С. 10–14.
72. Рабсон, А. Основы медицинской иммунологии/ А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз. – М.: Мир, 2006. – 320 с.
73. Раичевич, Н. Оценка прогностической значимости уровней молекул адгезии sICAM –1, sVCAM –1и других маркеров воспаления у больных хронической ишемической болезнью сердца : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.05 : / Раичевич Наталия. – Москва, 2014. – 145 с.
74. Резник, Н. Иммунитет всему голова [Электронный ресурс]/ Н. Резник//Троицкий вариант. – 2011. – №89. – Режим доступа: <http://trv-science.ru/2011/10/11/immunitet-vsemu-golova>. – 5.08.2015.
75. Репликативный анализ ассоциаций генетических маркеров когнитивных признаков с болезнью Альцгеймера в российской популяции/ В.А. Степанов [и др.]// Молекулярная биология. – 2014. – Т. 48., № 6. – С. 952–962.
76. Роль генетического полиморфизма TLR3 при хронических вирусных гепатитах В и С у детей / С.В. Романова [и др.] // Инфекционная иммунология. – 2013. – №6. – С. 330–335.

77. Роль некоторых пародонтопатогенных микроорганизмов и Asp299Gly полиморфизма гена TLR4 в патогенезе атеросклероза / О.В. Скочко [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 5. – С. 83 –86.
78. Руденко, К.А. Полиморфизмы генов Toll-подобных рецепторов, ассоциированные с наследственной отягощенностью и возрастом манифестации бронхиальной астмы / К.А. Руденко, А.Р. Тугуз, Е.Н. Анохина, Д.В. Муженя // Вестник Адыгейского государственного университета. – 2014. – №1. – С. 64 –69.
79. Рулева, Н.Ю. Маркеры воспаления, аутоантитела к нейроспецифическим антигенам и характер исхода у больных с острым ишемическим инсультом / Н. Ю. Рулева [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии. – 2004. – № 12. – С. 60 –65.
80. Саха, Сумита. L162V полиморфизм гена рецепторов активатора пролиферации пероксисом α и факторы иммунного воспаления у больных ишемической болезнью сердца: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.05 : / Сумита Саха. – Санкт – Петербург, 2013. – 17 с.
81. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3., № 2. – С. 16 –22.
82. Симбирцев, А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2005. – №1. – С. 3 –10.
83. Скворцова, В. И. Участие апоптоза в формировании инфаркта мозга / В. И. Скворцова // Журнал неврологии и психиатрии. – 2001. – № 2. – С. 12 –19.
84. Скворцова, В.И. Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и новые терапевтические стратегии / В.И. Скворцова // Инсульт. – 2003. – № 9. – С. 20 –22.

85. Слюсарев, А.А. Биология с общей генетикой / А.А. Слюсарев. – М.: Альянс, 2011. – 472 с.
86. Солпов, А.В. Влияние про- и противовоспалительных цитокинов на лимфоцитарно–тромбоцитарную адгезию / А.В. Солпов // Забайкальский медицинский вестник. – 2002. – № 1. – С. 14–17.
87. Солпов, А.В. Тромбоцитарно-лейкоцитарная адгезия в норме и патологии: дис. ...д –ра. мед. наук : 14.03.03; 03.03.01: защищена 17.04.15 : утв. 21.06.15 / Солпов Алексей Владимирович. – Чита, 2015. – 234 с.
88. Страмбовская, Н.Н. Ассоциация полиморфных генетических маркеров с различными вариантами ишемического инсульта [электронный ресурс] // Медицина и образование в Сибири. – 2015. – №1. – Режим доступа: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1635. – 3.11.2015.
89. Стулин, И. Д. Энцефалопатия пробуждения – новый клинический синдром, обусловленный преходящей церебральной венозной дисциркуляцией у системных флебопатов / И.Д. Стулин, О.Н. Окунева, Е.Т. Хорева // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2007. – №5. – С. 369–372.
90. Сульская, Ю.В. Генетический полиморфизм толл-рецепторов 4 типа у больных сахарным диабетом 2 типа / Ю.В. Сульская// Таврический медико-биологический вестник. – 2009. – №3. – С. 72–74.
91. Суслина, З.А. Концепция дизрегуляции гемостаза как универсального фактора патогенеза ишемического инсульта / З.А. Суслина, М.М. Танащян, В. Г. Ионова // Материалы IX всероссийского съезда неврологов. – 2006. – С. 489–493.
92. Суслина, З.А. Ишемический инсульт: кровь, сосудистая стенка, антитромботическая терапия / З.А. Суслина, М. М. Танащян, В.Г. Ионова. – М.: Медицинская книга, 2005. – 248 с.

93. Суслина, З.А. Эпидемиологические аспекты изучения инсульта. Время подводить итоги / З.А. Суслина, Ю.Я. Варакин // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2007. – №2(1) – С. 22 –28.
94. Толл-подобные рецепторы (TLR) и их значение в опухолевой прогрессии / Д.В. Щепляков [и др.]// *Acta Naturae* (русскоязычная версия). – 2010. – Т. 2., №3. – С. 28 –37.
95. Толстопятова, М. А. Роль рецепторов врожденного иммунитета в развитии инфекционной патологии у новорожденных детей / М.А. Толстопятова, Г.А. Буслаева, И.Г. Козлов // *Педиатрия*. – 2009. – Т. 87., №1. – С. 115 –120.
96. Феномен эндогенного ауторозеткообразования в крови при острой респираторной вирусной инфекции у детей носителей полиморфизмов генов TLR4(ASP 299 GLY), TLR6(SER 249 PRO) / Л.П. Малежик [и др.]// *Забайкальский медицинский вестник*. – 2012. – №1. – С.60 –66.
97. Фрейдлин, И. С. Взаимосвязи врожденного и приобретенного иммунитета при инфекциях (ревизия классических догм) / И.С. Фрейдлин // *Инфекция и иммунитет*. – 2011. – Т. 1., № 3. – С. 199 –206.
98. Хаертынов, Х.С. Механизмы противoinфекционной защиты у новорожденных детей / Х.С. Хаертынов, В.А. Анохин// *Вестник современной клинической медицины*. – 2013. – Т. 6., №3. – С. 67 –72.
99. Хаитов, Р.М. Руководство по клинической иммунологии/ Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР– Медиа, 2009. – 352 с.
100. Хорева, М.В. Комплексный анализ системы толл-подобных рецепторов при различных патологических состояниях человека: автореф. дис. ... д –ра. мед. наук: 14.03.09 / Хорева Марина Викторовна. – М., 2012. – 72 с.
101. Хуторная, М.В. Взаимосвязь полиморфизмов генов рецепторов врожденного иммунитета с сердечно–сосудистыми заболеваниями [Электронный ресурс] / М.В. Хуторная, А.В. Понасенко, А.С. Головкин

- // Международный научно–исследовательский журнал. – 2013. –
Режим доступа: <http://research-journal.org/medical/vzaimosvyaz-polimorfizmov-genov-receptorov-vrozhdennogo-immuniteta-serdechno-sosudistymi-zabolevaniyami>. – 3.09.2014.
102. Цыган, В.Н. Генетический полиморфизм иммуногенной сигнальной системы / Цыган В.Н., Иванов А.М. // Инфектология. – 2011. – №2. – С. 21–27.
103. Частота генетического полиморфизма TLR 2, 4 и 9 у населения китайцев и их предрасположенность к диабету 2 типа и ишемической болезни сердца / Луна Лю [и др.] // Биомедицина и биотехнология. – 2012. – №3. – С. 10–13.
104. Чепель, Э. Основы клинической иммунологии / Э. Чепель, М. Хейни, С. Мисбах. – М.: Медиа, 2008. – 416 с.
105. Шварц, В.Я. Воспаление жировой ткани. Ожирение – новое инфекционное заболевание? (обзор литературы) / В.Я.Шварц // Проблемы эндокринологии. – 2011. – №5. – С. 63–71.
106. Широков, Е.А. Гемодинамические кризы и варианты ишемического инсульта. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2011. – 655с.
107. Шурдумова, М.Х. Исследование иммунновоспалительных маркеров развития атеротромботического ишемического инсульта и механизмов реализации ишемического повреждения головного мозга: автореф. дис. ...канд.мед.наук: 20.03.11 / Шурдумова Марина Хасановна. – М., 2011. – 20 с.
108. Akira, S. Toll-like receptor signaling/ S. Akira, K. Takeda //// Nature Reviews Immunology. – 2004. – № 4. – P. 499–511.
109. Alvaro-González, L.C. Inflammatory mechanisms, arteriosclerosis and ischemic stroke: clinical data and perspectives/ L.C. Alvaro-González, M.M. Freijo-Gueorero, F. Sádaba-Garay // Revue Neurologique. – 2002. – Vol . 35. – P. 452–462.

110. Assessment of serum levels of adhesion molecules (sICAM –1, sVCAM –1, sE –selectin) in stable and unstable angina and acute myocardial infarction / A. Bossowska [et al.] // *Przegląd Lekarski*. – 2003. – V. 60, N 7. – P. 445 –450.
111. The association of polymorphisms of TLR4 and CD14 genes with susceptibility to sepsis in a Chinese population/ Wang Haiyan [et al.]// *Medical Genetics*. – 2014. – № 15. – P. 2 –9.
112. Association of Toll-like Receptor 2 Polymorphisms with National Institute of Health Stroke Scale Scores of Ischemic Stroke Patients/ Hae Jeong Park [et al.] // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2012. – Vol. 46, Issue 3. – P. 536 –540.
113. Beulter, B. Toll-like receptors as the primary sensors of the innate immune system//*The Immunologist*. – 2008.– №6. – P. 123 –130.
114. Behmanesh, S. Mechanisms of endothelial cell swelling from lactacidosis studied in vitro / S. Behmanesh, O. Kempinski // *American Journal of Physiology*. – 2000. – Vol. 279, № 4. – P. 1512 –1517.
115. Bochud, P.Y. Polymorphisms in Toll-like receptor 9 influence the clinical course of HIV –1 infection/ P.Y. Bochu, M. Hersberger, P.Taffe // *AIDS*. – 2007. – № 21. – P. 441 –446.
116. Born, G.V. Aggregation of platelets in damaged vessels / G.V. Born, P. Gorog, M. A. Kratzer // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. –1981. –Vol. 294, № 1072. –P. 241 –250.
117. Brea, D. Inflammatory and Neuroimmunomodulatory Changes in Acute Cerebral Ischemia/ D. Brea, T. Sobrino, P. Ramos-Cabrer // *Cerebrovascular Diseases*. – 2009. – Vol. 27. – Suppl. 1. – P. 48 –64.
118. Campino, Susana. TLR9 polymorphisms in African populations: no association with severe malaria, but evidence of cis –variants acting on gene expression [Электронный ресурс] /Susana Campino// *Malaria Journal*. –

2009. – Режим доступа: [http:// www.malariajournal.com/content/8/1/44](http://www.malariajournal.com/content/8/1/44). – 3.02.2014.
119. Carpentier, A.F. Oligodeoxynucleotides containing CpG motifs can induce rejection of a neuroblastoma in mice / A.F. Carpentier, L. Chen, F. Maltonti // *Cancer*. –1999. – № 5. – P. 429 – 432.
120. Cigarette smoking increases plasma concentrations of vascular cell adhesion molecule –1 in patients with coronary artery disease / Y. Cavusoglu [et al.] // *Angiology*. –2004. –V. 55, N 4. –P. 397 –402.
121. Cohen, S.J. IL –10 mediates resistance to adoptive transfer experimental autoimmune encephalomyelitis in MyD88(–/ –) mice / S. J. Cohen, I. R. Cohen, G. Nussbaum // *Immunology*. –2010. –Vol.184, № 1. –P. 212 –221.
122. CRF –Amplified Neuronal TLR4 & MCP –1 Signaling Regulates Alcohol Self – Administration / Laure Aurelian [et al.] // *Neuropsychopharmacology*. –2015. – №1. – Режим доступа: <http://www.researchgate.net/journal>. –3.02.2016.
123. Danton, G.H. Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke. / G.H. Danton, W.D. Dietrich// *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. –2003. – Vol. 62. – P. 127 –136.
124. David Brea López. Toll like receptors in cerebral ischemia: дис. канд. мед. наук : / David Brea López. –Santiago de Compostela , 2010. –139 с.
125. Decrease of the D3 dopamine receptor mRNA expression in lymphocytes from patients with Parkinson’s disease/ Y. Nagai [et al.]//*Neurology*. –1996. –Vol. 46, № 3. –P. 791 –795.
126. Differential roles of TLR2 and TLR4 in acute focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice / F. Hua [et al.] // *Brain Research*. – 2009; 1262. – P. 100 –108.
127. Effects of Cerebrolysin on neurogenesis in an APP transgenic model of Alzheimer’s disease/ Rockenstein E. // *Acta Neuropathology*. –2007. –Vol. 113, № 3. –P. 265 –275.

128. Endothelial ICAM –1 expression associated with inflammatory cell response in human ischemic stroke / P.J. Lindsberg [et al.] // *Circulation*. – 1996. –Vol. 94. – P. 939 –945.
129. Esposito, Susanna. Role of polymorphisms of toll-like receptor TLR4, TLR9, toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein (TIRAP) and FCGR2A genes in malaria susceptibility and severity in Burundian children [Электронный ресурс] /Susanna Esposito// *Malaria Journal*. – 2012. –Режим доступа [http:// www.malariajournal/ content/11/1/196](http://www.malariajournal/content/11/1/196). – 25.06.2014.
130. Evaluation of Toll-like receptors 3 (c.1377C/T) and 9 (G2848A) gene polymorphisms in cervical cancer susceptibility/ S.Pandey [et al.]// *Molecular Biology Reports*. – 2011. –№ 38. –P. 15 –21.
131. Expressions of Toll-like receptors 3, 4, 7 and 9 in cervical lesions and their correlation with HPV16 infection in Uighur women / A. Hasimu [et al.]// *Cancer*. –2011. –№ 30. –P. 344 –350.
132. Fassbender K. Circulating selectin – and immunoglobulin –type adhesion molecules in acute ischemic stroke/ K. Fassbender , R. Mössner, L. Motsch // *Stroke*. –1995. – Vol. 26. – P. 1361 –1364.
133. Galustyan, A.N. Protective role of cerebrolysin –induced expression of metallothionein –1 and –2 in response to cerebral focal ishemia in rats / A.N. Galustyan, L.M. Krasnich // *Cytokini*. –2005. –№ 1. –P. 53 –58.
134. A genetic variant in the promote region of toll-like receptor 9 and cervical cancer susceptibility [Электронный ресурс] / X. Chen [et al.]// *DNA Cell Biol*. –2011. –Режим доступа: [http://online.liebertpub.com/ doi/abs/ 10.1089/ dna.2011.1427](http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/dna.2011.1427). –12.12.2014.
135. Genetic polymorphisms of toll-like receptor 9 influence the immune response to CpG and contribute to hyper –IgM in primary biliary ciorhosis/ K. Kikuchi [et al.]// *Autoimmune*. – 2005. – № 24. –P. 347 –352.

136. Hallenbeck, J.M. In: Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma / J.M. Hallenbeck. –New York, 2000. – P. 27–31.
137. Hemorheological factors in cerebral ischemia / M. Fisher [et al.] // Stroke. –1991. –Vol. 22, № 9. –P. 1164–1169.
138. ICAM –1 deficiency reduces atherosclerotic lesions in doubleknockout mice (ApoE/ICAM –1) fed a fat or a chow diet /M.C. Bourdillon [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. –2000. –V. 20. –P. 2630–2635.
139. Immunocytochemical demonstration of neural cell adhesion molecule (NCAM) along the migration route of luteinizing hormone –releasing hormone (LHRH) neurons in mice / M. Schwanzel –Fukuda [et al.] // Journal of Comparative Neurology. – 2002. – Vol. 321 (1). – P. 1–18.
140. The impact of inflammation on the pathogenesis and prognosis of ischemic stroke / Nakase T. [et al.]// Journal of the Neurological Sciences. – 2008. – №15. – P. 104–109.
141. Induction of toll-like receptor 9 signaling as a method for ameliorating Alzheimer's disease –related pathology/H. Scholtzova[et al.]//Journal of Neuroscience. –2009. –Vol. 29, № 6. –P. 1846–54.
142. Inflammation markers and prediction of post –stroke vascular disease recurrence: the MITICO study/ J. Castillo [et al.]// Journal Neurology. – 2009. –№256(2). –P. 217 –224.
143. Inflammation of brain after ischemia/ K. Kogure [et al.] // Acta Neurochirurgica. – 2000. – Vol. 66. – P. 40–43.
144. Inflammatory signals in dendritic cell activation and induction of adaptive immunity/ O. Joffre [et al.] // Immunology Revue – 2009. – Vol. 227. – P. 234 –247.
145. Innate immunity mediated by epidermal keratinocytes promotes acquired immunity involving Langerhans cells and T cells in the skin/ K.

- Sugita [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2007. –Vol. 147. –P. 176–183.
146. Intengan H. D. Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants / H. D. Intengan, E. L. Schiffrin // *Hypertension*. –2000. –Vol. 36 – P. 312–318.
147. Involvement of Toll-like Receptor 9 polymorphism in cervical cancer development/ Andrzej Roszak [et al.]//*Molecular Biology Reports*. –2012. – Vol. 39, №8. –P. 8425–30.
148. Kumar, A. Tumor necrosis factor and interleukin –1 beta are responsible or in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum Thota / A. Kumar [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2001. – Vol. 183. – P. 949–958.
149. Lutz , Hamann. Association of a common TLR –6 polymorphism with coronary artery disease – implications for healthy ageing? [Электронный ресурс] / Lutz Hamann // *Immunity and Ageing*. –2013. – Режим доступа: <http://www.immunityageing.com/content/10/1/43>. –3.08.2014.
150. Mice deficient in Mac –1 (CD11b/CD18) are less susceptible to cerebral ischemia/reperfusion injury / S. G. Soriano [et al.]// *Stroke*. – 1999. – Vol. 30. – P. 134–139.
151. Non – stereoselective reversal of neuropathic pain by naloxone and naltrexone: involvement of toll-like receptor 4 (TLR4)/ Mark Hutchinson [et al.] // *European Journal of Neuroscience*. –2008. –Vol. 28, №1. –P. 20–29.
152. Omar, E.M. Polymorphisms in Toll-like receptor genes and risk of cancer/ E. M. Omar, G. L. Hold // *Oncogene*. –2008. –№ 27. – P. 244–252.
153. Phase 1 evaluation of intralesionally injected TLR9 agonist PF –3512676 in patients with basal cell carcinoma or metastatic melanoma/ M. A. Hofmann [et al.]// *Immunother*. –2008. –№ 31. – P. 520–527.

154. Phase I trial of toll-like receptor 9 agonist PF –3512676 with and following rituximab in patients with recurrent indolent and aggressive non Hodgkin’s lymphoma/ J.P. Leonard [et al.]// Clinical Cancer. –2007. –№ 13. –P. 168–174.
155. Pivotal advance: HMGB1 expression in active lesions of human and experimental multiple sclerosis/ A. Andersson [et al.]// Journal of Leukocyte Biology. –2008. – Vol. 84, № 5. – P. 1248–1255.
156. Pivotal role for neuronal toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits/ S. C Tang [et al.] //Proceedings of the National Academy of Sciences. –2007. – Vol.104. – P. 13798–13803.
157. Plasma proinflammatory and anti –inflammatory cytokine and catecholamine concentrations as predictors of neurological outcome in acute stroke patients/ J. Oto [et al.] //Journal of Anesthesia. –2008. –№ 22(3). – P. 207–212.
158. The (1486T/C) Promoter Polymorphism of the TLR –9 Gene Is Associated with End –Stage Knee Osteoarthritis in a Chinese Population/ Sui –Lung Su [et al.]// Journal of orthopaedic research january. –2012. –№30. – P. 9–14.
159. Putative association of a *TLR9* promoter polymorphism with atopic eczema/ N. Novak [et al.]// Allergy. –2007. –№7. –P. 766–772.

160. Reduced density of dopamine D2-like receptors on peripheral blood lymphocytes in Alzheimer's disease / P. Barbanti [et al.]// Mechanisms of Ageing and Development. –2000. –Vol. 120, №1. –P. 65–75.
161. Regulation of Toll-like receptor 1 and 2 in neonatal mouse brain after hypoxia –ischemia/ Linnea Stridh [et al.]//Neuroinflammation. –2011. – Vol.8, №1. –P.–10.
162. Role for MyD88, TLR2 and TLR9 but not TLR1, TLR4 OR TLR6 in experimental autoimmune encephalomyelitis/ S. Miranda –Hernandez [et al.]// Immunology. –2011. –Vol. 187, № 2. –P. 791–804.
163. Safety and efficacy of PF –3512676 for the treatment of stage IV renal cell carcinoma: an open –label, multicenter phase I/II study/ J. A. Thompson [et al.]// Clinical Genitourin Cancer. –2009. –№ 7. –P. 58–65.
164. Seung –Ae, Yang. Association of TLR6 single nucleotide polymorphisms and clinical features of ischemic stroke in Korean population // Journal Exercise Rehabilitation. –2013. – № 9. –C. 526–531.
165. Single Nucleotide Polymorphism in Toll-like Receptor 6 is associated with a decreased risk for ureaplasma respiratory tract colonization and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants [Электронный ресурс] / A.H. Winters [et al.] // Венерические и кожные болезни. –2013. –Режим доступа: <http://www.venderm.ru/index.php/topic/3315>. –5.04.2015. – 5.04.2015.
166. Soluble intercellular adhesion molecules. Soluble vascular cell adhesion molecules and risk of coronary heart disease/ I. Shai [et al.] // Obesity (Silver Spring). –2006. –V. 14, N 11. – P. 2099 –2106.
167. The Stroke Progress Review Group (Stroke PRG) TOAST (Trial of org. 10172 in Acute Stroke Treatment) // JAMA. –1998. –№ 279. –P. 1265–1272.
168. Stroke – induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance/ U. Dirnagl [et al.] // Stroke. –2007. –38 (suppl. 2). –770 –773.

169. Structure – based Discovery of an Immunomodulatory Inhibitor of TLR1 –TLR2 Heterodimerization from a Natural Product like Database [Электронный ресурс]/ Zhong Zhangfeng [et al.] // The Royal Society of Chemistry. – 2015. – Режим доступа: www.rsc.org/suppdata/c5/cc/c5cc02728d/c5cc02728d1. – 2.05.2015.
170. Tantisira, K. Toll-like receptor 6 gene (TLR6): single –nucleotide polymorphism frequencies and preliminary association with the diagnosis of asthma [Электронный ресурс] / K.Tantisira [and other] //Genes and Immunity. –2004. –№5. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15266299>. –16.01.2015.
171. Targeting Toll-like receptors: Emerging therapeutics for multiple sclerosis management/ M. Gambuzza [et al.]// Neuroimmunology. – 2011. –Vol. 239. №1. –P. 1–12.
172. The toll-like receptor TLR4 is necessary for lipopolysaccharide-induced oligodendrocyte injury in the cns/ S. Lehnardt [et al.]// Journal of Neuroscience. –2002. –№ 22. –P. 2478-2486.
173. TLR4 Asp299Gly polymorphism is not associated with coronary artery stenosis/ Yang Ian A. [et al.]// Atherosclerosis. –2003. – №1. –P.187–190.
174. TLR4 rs1927911, but Not TLR2 rs5743708 is associated with atherosclerotic cerebral infarction in the southern han population: A Case –

- Control Study/ Song [et al.] // *Medicine*. – 2015. –Vol. 94, Issue 2. –P. 381–388.
175. TLR4, but not TLR2, signals autoregulatory apoptosis of cultured microglia: a critical role of IFN β as a decision maker/ D.Y. Jung [et al.]// *Immunology*. –2005. –Vol. 174, № 10. –P. 6467–6476.
176. TLR9 expression and function is abolished by the cervical cancer – associated human papillomavirus type 16/ U. A. Hasan [et al.]// *Immunology*. –2007. –№ 3. –P. 186–197.
177. TNF genepolymorphisms: association with multiple sclerosis susceptibility and severity. In: *Frontiers in Multiple Sclerosis: Clinical research and therapy* / L. F. Barcellos [et al.] // Publishers: London, 2000. – P. 35–41.
178. Toll-like receptor 2 mediates CNS injury in focal cerebral ischemia / S. Lehnardt [et al.]//*Neuroimmunology*. – 2007; 190. –P. 28–33.
179. Toll-like Receptor 2 R753Q Polymorphisms Are Associated With an Increased Risk of Infective Endocarditis [Электронный ресурс]/ J. Bustamante [et al] //*Rev Esp Cardiol*. –2011. – №64. – Режим доступа: <http://www.revespcardiol.org/en/toll-like-receptor-2-r753q-polymorphisms>.– 18.07.2015.
180. Toll-like receptor 2 signaling in response to brain injury: an innate bridge to neuroinflammation / A. A. Babcock [et al.]// *Journal of Neuroscience*. – 2006. –Vol. 26. –P. 12826–12837.
181. Unexpected regulatory roles of TLR4 and TLR9 in experimental autoimmune encephalomyelitis/ M. Marta [et al.]// *Immunology*. –2008. – Vol.38, № 2. –P. 565–575.

182. Variation in the interleukin-6 gene is associated with impaired cognitive development in children born prematurely: a preliminary study / D. Harding [et al.] // *Pediatric Research*. – 2005. – Vol.58. – P. 117–120.
183. Vila, N. Glutamate, Interleukin -6 and Early Clinical Worsening in Patients With Acute Stroke / N. Vila, A. Chamorro, J. Castillo, A. Dávalos // *Stroke*. – 2001. – №32. – P. 1234–1237.