

Taís Frederes Krämer Alcalde<sup>1</sup>,  
 Andrea Regner<sup>2</sup>, Edison Moraes  
 Rodrigues Filho<sup>3</sup>, Patrícia Corso  
 Silveira<sup>4</sup>, Gabriela Gonçalves  
 Grossi<sup>4</sup>, Daniel Simon<sup>5</sup>

## Ausência de associação entre polimorfismo do gene da interleucina-1 beta e o prognóstico de pacientes com traumatismo crânio-encefálico grave

*Lack of association between interleukin-1 gene polymorphism and prognosis in severe traumatic brain injury patients*

1. Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Canoas (RS), Brasil.
2. Doutora, Professora do Curso de Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Canoas (RS), Brasil.
3. Pós-graduando (Doutorado) do Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Canoas (RS), Brasil.
4. Acadêmica do Curso de Medicina da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Canoas (RS), Brasil.
5. Doutor, Professor do Curso de Ciências Biológicas e do Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Canoas (RS), Brasil.

Recebido da Universidade Luterana do Brasil - ULBRA – Canoas (RS), Brasil.

Submetido em 16 de Setembro de 2009  
 Aceito em 28 de Dezembro de 2009

### Autor para correspondência:

Daniel Simon

PPG Diagnóstico Genético e Molecular  
 Universidade Luterana do Brasil

Av. Farroupilha, 8001 - Prédio 22 - 5º andar

CEP: 92425-900 - Canoas (RS), Brasil.

Fone: (51) 3477-9219 - Fax: (51) 3477-1313

E-mail: daniel.simon@ulbra.br

### RESUMO

**Objetivo:** O traumatismo crânio-encefálico é a principal causa de óbito em indivíduos com idade entre 1 a 45 anos. O desfecho do traumatismo crânio-encefálico pode estar relacionado, além de fatores pré-morbidade e gravidade do dano, com fatores genéticos. Genes que podem ter relação com o resultado pós-trauma vêm sendo estudados, porém, ainda existem poucas informações sobre a associação entre polimorfismos genéticos e o desfecho do traumatismo crânio-encefálico. O gene da interleucina-1 beta (*IL-1B*) é um dos genes estudados, pois esta citocina encontra-se em níveis elevados após o traumatismo crânio-encefálico e pode afetar de forma negativa seu desfecho. O objetivo do presente estudo foi analisar o polimorfismo -31C/T, localizado na região promotora do gene *IL-1B*, em pacientes com traumatismo crânio-encefálico grave visando correlacioná-lo com o desfecho primário precoce (alta do centro

de terapia intensiva ou morte).

**Métodos:** Foram estudados 69 pacientes internados por traumatismo crânio-encefálico grave em três hospitais de Porto Alegre e região metropolitana. O polimorfismo foi analisado através da reação em cadeia da polimerase, seguida da digestão com enzima de restrição.

**Resultados:** O traumatismo crânio-encefálico grave foi associado a uma mortalidade de 45%. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências alélicas e genotípicas entre os grupos de pacientes divididos pelo desfecho do traumatismo crânio-encefálico.

**Conclusão:** Nossos resultados sugerem que o polimorfismo -31C/T do gene *IL-1B* não tem impacto significativo no desfecho fatal dos pacientes com traumatismo crânio-encefálico grave.

**Descritores:** Interleucina-1beta; Polimorfismo genético; Traumatismos crânio-cerebrais

### INTRODUÇÃO

O traumatismo crânio-encefálico (TCE) grave é a principal causa de mortalidade em indivíduos com idade entre 1-45 anos. Geralmente, produz algum tipo de seqüela, como alterações no estado de consciência, distúrbios cognitivos e motores, além de neuroinflamação.<sup>(1)</sup> O desfecho de cada caso está relacionado com diversos fatores, tais como a suscetibilidade do cérebro à lesão, extensão e gravidade da lesão, idade do paciente, outros fatores de co-morbidade prévia, e também fatores genéticos.<sup>(2)</sup>

A interleucina 1 é uma citocina que amplia a cascata inflamatória por ativar células T, regulando a manifestação de moléculas de adesão e induzindo a produção de outras citocinas proinflamatórias e proteínas associadas.<sup>(3)</sup> A família da interleucina 1 é constituída por três proteínas relacionadas que são codificadas por genes presentes no braço longo do cromossomo 2: IL-1 $\alpha$  (codificada pelo gene *IL1A*), IL-1 $\beta$

(codificada pelo gene *IL1B*) e IL-1Ra (codificada pelo gene *IL-1RN*).<sup>(4)</sup> Os agonistas, interleucina-1 $\alpha$  e a interleucina-1 $\beta$ , compartilham uma estrutura terciária muito parecida e partilham dos mesmos fatores regulatórios, afinidades e funções.<sup>(5)</sup> O antagonista do receptor da IL-1A (IL-1Ra) é um inibidor competitivo de IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ .

A IL-1 $\beta$  é codificada por um gene cuja expressão é controlada a nível transcricional e pós-transcricional e está fortemente envolvida na resposta inflamatória. Esta citocina é produzida pelos macrófagos e astrócitos e se encontra muito elevada após o trauma.<sup>(6)</sup> Há indícios de que a IL-1 $\beta$  está envolvida com doenças neurodegenerativas, tanto agudas como crônicas, tais como isquemia, convulsões, esclerose múltipla, além de doença de Parkinson e de Alzheimer.<sup>(7,8)</sup>

Polimorfismos nos genes que codificam as proteínas da família da IL-1 têm sido estudados em diversas patologias pela importância que essa família tem em processos inflamatórios.<sup>(9)</sup> O polimorfismo -31C/T resulta da mudança de uma citosina (C) por uma timina (T) na posição -31 da região promotora do gene *IL-1B*. Este polimorfismo está localizado em uma importante região regulatória do gene *IL-1B* (TATA-box) e afeta significativamente as interações DNA-proteínas em ensaios *in vitro*.<sup>(10)</sup> O alelo T, tanto em homozigose quanto em heterozigose, está relacionado com uma maior produção de IL-1 $\beta$ <sup>(11)</sup> podendo causar uma resposta inflamatória exacerbada e piora no estado do paciente.<sup>(9)</sup>

O presente estudo tem como objetivo analisar o papel do polimorfismo -31C/T do gene da IL-1 $\beta$  em pacientes que sofreram traumatismo crânio-encefálico grave, visando verificar sua influência no desfecho primário precoce (alta do centro de terapia intensiva (CTI) ou morte) e correlacioná-lo com variáveis clínicas.

## MÉTODOS

### *Pacientes*

Foi estudada uma coorte de pacientes internados com TCE grave, no período de agosto de 2003 a outubro de 2009, em três hospitais da região metropolitana de Porto Alegre: Hospital Municipal de Pronto Socorro, Hospital Cristo Redentor (ambos na cidade de Porto Alegre) e Hospital de Pronto Socorro Deputado Nelson Marchezan, na cidade de Canoas. Os critérios para inclusão na amostra foram: idade superior a 16 anos e inferior a 70 anos, sexo masculino, pacientes com TCE grave (escala de coma de Glasgow, GCS: 3-8). As lesões cerebrais podiam ser primárias ou secundárias. Politraumatismo não foi critério de exclusão. Na admissão da unidade de emergência, os pacientes foram inicialmente avaliados, ressuscitados e passaram por cirurgia de emergência quando necessário. Somente pacientes transferidos para o CTI até 24 horas após

o TCE foram incluídos no estudo. Todos os pacientes foram sedados e ventilados mecanicamente e não foram administrados corticosteróides. Foram colhidos dados demográficos e assistenciais dos pacientes, através de informações provenientes do boletim de atendimento e prontuário. O acompanhamento da evolução clínica do paciente foi realizado, diariamente, até o desfecho primário: alta do CTI ou morte. Estudos prévios mostram que existem diferenças, de acordo com o gênero, na fisiopatologia do desfecho após injúria neurológica aguda<sup>(12)</sup> ou trauma sistêmico.<sup>(13)</sup> Foi observada uma menor suscetibilidade de injúrias pós isquêmicas e pós traumáticas em mulheres.<sup>(12,13)</sup> Desta forma, para não correr riscos de interferência de possíveis diferenças dependentes do gênero no desfecho pós TCE, somente homens foram incluídos no estudo.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Luterana do Brasil e teve a anuência dos Hospitais Municipais de Pronto Socorro de Porto Alegre, Cristo Redentor e Pronto Socorro Deputado Nelson Marchezan. Devido ao estado de inconsciência dos pacientes, o consentimento informado foi obtido de familiares do paciente que foram informados sobre os objetivos do estudo. As coletas de sangue foram realizadas após a obtenção do consentimento informado.

### *Análises genéticas*

O DNA foi extraído de amostras de sangue total de pacientes com TCE grave, utilizando um método não enzimático.<sup>(14)</sup> A amplificação do gene de interesse (IL-1 $\beta$ ) foi feita através da reação em cadeia de polimerase (PCR) conforme descrito por Yang et al.<sup>(11)</sup> Os produtos da amplificação foram clivados com a enzima *AluI*, a 37°C por 12 horas. Os fragmentos foram checados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 10%, durante 90 minutos a 100 V. O gel foi corado com nitrato de prata.

### *Análises estatísticas*

Frequências alélicas foram determinadas pela contagem direta de alelos. Os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg e as diferenças de frequências entre grupos foram avaliados pelo teste de qui-quadrado. Os valores das médias dos grupos foram comparados usando o teste U de Mann-Whitney. Todos os valores de *p* são bi-caudais, e um valor *p*<0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS

Os pacientes desse estudo consistiram em 69 homens, vítimas de traumatismo crânio-encefálico grave. A tabela 1 mostra as características clínicas e demográficas na população estudada, estratificadas de acordo com o desfecho dos casos (alta da CTI ou morte). O TCE grave foi associado a uma

mortalidade de 45%. A média da idade dos pacientes foi de 34,8 anos, sendo similar entre pacientes que sobreviveram ou não. Os pacientes sobreviventes foram admitidos no CTI com GCS de  $5,9 \pm 1,7$ , enquanto os que tiveram desfecho fatal tinham GCS de  $4,6 \pm 1,6$  ( $p < 0,01$ ).

Do total de pacientes, 31 (45%) foram submetidos à craniotomia, sendo observada frequência significativamente maior de craniotomia entre pacientes que morreram ( $p < 0,05$ ). O tempo de permanência no CTI variou de menos de 1 dia até 54 dias, sendo observada diferença significativa quando comparados pacientes que receberam alta ( $16,8 \pm 13,8$  dias) ou que morreram ( $3,7 \pm 3,6$  dias;  $p < 0,001$ ). A escala de resultados de Glasgow (GOS) também apresentou diferença significativa entre os pacientes quando estes foram estratificados pelo desfecho (sobreviventes:  $3,4 \pm 1,1$ ; mortos  $1,0 \pm 0,0$ ;  $p < 0,001$ ). A principal causa de lesão foi relaciona-

da a acidentes de trânsito (45% por acidente por veículo automotor e 20% por atropelamentos). Foi observado que 42 pacientes (61%) apresentaram politraumatismo associado ao TCE, envolvendo principalmente lesões no tórax e membros.

As frequências alélicas e genotípicas da população estudada são apresentadas na tabela 2. Na amostra total dos pacientes as frequências dos alelos C e T foram de 67% e 33%, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências alélicas ou genotípicas entre os pacientes que sobreviveram ou não. A comparação das características clínicas estudadas entre indivíduos homocigotos CC e portadores do alelo T (genótipos CT e TT) não apresentou diferenças significativas (dados não mostrados), a não ser pela frequência de craniotomia que foi significativamente maior em pacientes que tinham o alelo T (genótipos CT e TT: 60,0%; genótipo CC: 29,4%;  $p < 0,05$ ).

**Tabela 1 - Características do traumatismo crânio-encefálico na população estudada e estratificada pelo desfecho primário (alta do CTI ou morte)**

	Todos os pacientes	Vivos	Mortos
Número de pacientes	69 (100,0)	38 (55,1)	31 (44,9)
Idade	$34,8 \pm 13,1$	$33,1 \pm 12,2$	$37,0 \pm 14,1$
GCS na admissão**	$5,4 \pm 1,8$	$5,9 \pm 1,7$	$4,6 \pm 1,6$
Pressão sistólica	$122 \pm 27$	$118 \pm 24$	$126 \pm 31$
APACHE II**	$14,8 \pm 5,4$	$12,4 \pm 4,5$	$18,0 \pm 5,0$
Tipos de acidente			
AVAM	31 (44,9)	21 (55,3)	10 (32,2)
Atropelamento	14 (20,3)	8 (21,0)	6 (19,4)
Queda	12 (17,4)	6 (15,8)	6 (19,4)
Agressão	5 (7,2)	2 (5,3)	3 (9,6)
FAF	7 (10,2)	1 (2,6)	6 (19,4)
Craniotomia*	31 (44,9)	12 (31,6)	19 (61,3)
Dias até desfecho***	$11,0 \pm 12,3$	$16,8 \pm 13,8$	$3,7 \pm 3,6$
GOS no desfecho***	$2,0 \pm 1,4$	$3,4 \pm 1,1$	$1,0 \pm 0,0$
Politrauma	42 (60,9)	25 (65,8)	17 (54,8)

GCS- escala de coma de Glasgow; APACHE II – Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation II; AVAM - acidente por veículo automotor; FAF- ferimento por arma de fogo; GOS - escala de resultados de Glasgow. Resultados expressos em N(%) ou média  $\pm$  desvio padrão. Comparação entre pacientes que sobreviveram e que morreram: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

**Tabela 2 - Frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo -31C/T do gene da interleucina 1-beta nos pacientes com traumatismo crânio-encefálico grave, estratificadas de acordo com o desfecho primário (alta do CTI/morte)**

	Todos os pacientes (N=69)	Vivos (N=38)	Mortos (N=31)	Valor de p
Alelo				
C	92 (66,7)	50 (65,8)	42 (67,7)	0,952
T	46 (33,3)	26 (34,2)	20 (32,3)	
Genótipo				
CC	34 (49,3)	19 (50,0)	15 (48,4)	0,747
CT	24 (34,8)	12 (31,6)	12 (38,7)	
TT	11 (15,9)	7 (18,4)	4 (12,9)	

Resultados expressos em N(%).

## DISCUSSÃO

Existe uma variabilidade considerável no desfecho do traumatismo crânio-encefálico, sendo que fatores genéticos podem influenciar tanto na suscetibilidade do cérebro à lesão, quanto na capacidade de renovação e reorganização neural. Por esse motivo, pesquisas sobre polimorfismos genéticos podem auxiliar na compreensão de fatores determinantes para o prognóstico dos pacientes. A investigação de polimorfismos em genes relacionados com neuroinflamação é interessante dado o papel importante que esta desempenha no TCE. A integração dos dados dos genótipos dos pacientes com os dados clínicos pode auxiliar no estabelecimento de fatores prognósticos no TCE grave.

Alguns estudos procuram relacionar características genéticas com o desfecho após TCE grave. A apolipoproteína E, uma das proteínas responsáveis pelo transporte de lipídios, é um dos fatores genéticos mais estudados com relação ao TCE. Estudos mostram uma correlação significativa entre o desfecho desfavorável pós-TCE e um polimorfismo no gene da apolipoproteína E.<sup>(15,16)</sup>

Dentre as moléculas envolvidas com a mediação da resposta inflamatória depois de qualquer dano ao crânio ou cérebro, são as citocinas, especialmente a interleucina-1, que desempenham o papel mais importante. Sabe-se que no acidente vascular cerebral, doença de Parkinson, Alzheimer ou qualquer doença associada com neurodegeneração há aumento os níveis de IL-1, principalmente IL-1 $\beta$ . A IL-1 $\beta$  é expressa em baixas quantidades em cérebros saudáveis, porém, se apresenta de forma aumentada após o TCE.<sup>(17)</sup> A quantidade de citocina produzida pode estar relacionada com polimorfismos no gene IL-1B. Assim a resposta inflamatória ao trauma pode depender do genótipo do paciente. A expressão de genes envolvidos na resposta inflamatória é controlada nos níveis transcricional e pós-transcricional. No nível transcricional, polimorfismos na região promotora dos genes podem resultar em diferenças na resposta a determinados processos patológicos.

Polimorfismos nos genes *IL-1A*, *IL-1B* e *IL-RN* foram analisados em estudos visando verificar sua influência em pacientes que sofreram TCE. Estudo feito por Uzan et al.<sup>(9)</sup> evidenciou que existe associação genética entre o desfecho pós-TCE e polimorfismos no gene *IL-1B*. Foram estudados 69 pacientes e analisados dois polimorfismos do tipo SNP (polimorfismos de nucleotídeo único): um na posição -511 e outro na +3953. Notou-se que os pacientes que possuíam o alelo T em ambas as posições mostraram pior prognóstico (morte, estado vegetativo ou sequelas graves), devido, talvez, a um efeito aditivo desses polimorfismos.

Tanriverdi et al.<sup>(18)</sup> realizaram um estudo em 71 pacientes com TCE e não observaram associação entre o desfecho dos casos e um polimorfismo de troca de citosina por timina na posição -889 do gene *IL-1A*. Entretanto este trabalho foi contestado por Wang et al.<sup>(19)</sup> devido a possíveis problemas metodológicos na genotipagem. Hadjigeorgiou et al.<sup>(20)</sup> analisaram o polimorfismo -511 C/T do gene da IL-1B e o polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) do gene da IL-1RN e a sua associação com eventos hemorrágicos em 151 pacientes que sofreram TCE. Os autores verificaram que quando o gene *IL-1RN* tinha o alelo T era mais provável que os pacientes tivessem eventos hemorrágicos após o TCE. Este alelo foi associado com a produção aumentada de IL-1Ra. Johnson et al.<sup>(21)</sup> estudaram a influência de alelos dos genes *IL-1A* e *IL-1B* na apoptose, analisando amostras de hipocampo de 38 pacientes que morreram após TCE. Os autores não observaram correlação entre os alelos e a quantidade de apoptose mensurada.

Como pode se observar os estudos com os genes pertencentes ao grupo da IL-1 realizados em pacientes com TCE apresentaram delineamentos experimentais diversos, enfocando diferentes genes, polimorfismos e aspectos da fisiopatologia do TCE e, desta forma, os resultados apesar de conflitantes não são estritamente comparáveis.

Estudos prévios mostram que os polimorfismos -511T/C e -31C/T do gene *IL-1B* estão em completo desequilíbrio de ligação de uma forma reversa, ou seja, o alelo -511T sempre é encontrado associado ao alelo -31C e o alelo -511C sempre é observado na presença do alelo -31T.<sup>(10,22)</sup> No presente estudo foi analisado o polimorfismo -31C/T e, até onde sabemos, não há estudos na literatura que tenham analisado este polimorfismo visando sua associação com o TCE. Contudo, devido ao desequilíbrio de ligação, os resultados do presente estudo podem ser comparados aos resultados dos estudos que analisaram o polimorfismo da posição -511. Nossos resultados não evidenciaram associação significativa entre o polimorfismo -31C/T e o desfecho dos pacientes com traumatismo crânio-encefálico grave. É importante ressaltar que o número de pacientes que estudamos não difere muito da amostra dos outros estudos com pacientes vítimas de TCE.

É importante entender o papel que as citocinas e seus polimorfismos desempenham na progressão da lesão traumática neural, possibilitando o desenvolvimento de recursos diagnósticos e terapêuticos mais eficazes no TCE grave. O entendimento dos mecanismos celulares envolvidos no dano neural possibilitará a evolução das estratégias terapêuticas e de reabilitação nas vítimas de TCE grave, reduzindo, assim, o impacto do TCE na saúde pública.

## CONCLUSÃO

A compreensão da influência de polimorfismos genéticos no desfecho do TCE ainda está em uma fase inicial, com poucos estudos realizados. Nossos resultados sugerem que o polimorfismo -31C/T do gene *IL-1B* não tem impacto significativo no desfecho fatal dos pacientes com traumatismo crânio-encefálico grave.

## AGRADECIMENTOS

O presente estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; processos 484391/2007-0 e 568691/2008-3).

## ABSTRACT

**Objective:** Traumatic brain injury is the major cause of death among individuals between 1-45 years-old. The outcome of traumatic brain injury may be related to brain susceptibility to the injury and genetic factors. Genes that may affect traumatic brain in-

jury outcome are being investigated, however there is still few data concerning the association between genetic polymorphisms and traumatic brain injury outcome. The interleukin-1 beta gene (*IL-1B*) is one of the most studied genes, because levels of this cytokine are raised after traumatic brain injury and this can affect worsen the prognosis. The aim of this study was to test whether the -31C/T polymorphism, located at the promoter region of the *IL-1B* gene, is associated with primary short-term outcome (death or intensive care unit discharge) in severe traumatic brain injury patients.

**Methods:** Were studied 69 patients admitted with severe traumatic brain injury in three hospitals of the metropolitan region of Porto Alegre. The polymorphism was analyzed by polymerase chain reaction, followed by restriction digestion.

**Results:** Severe traumatic brain injury was associated with a 45% mortality rate. No significant differences were observed in the allele and genotype frequencies between patients stratified by traumatic brain injury outcome.

**Conclusion:** Our findings suggest that -31C/T *IL-1B* gene polymorphism have no significant impact on the outcome of patients after acute severe traumatic brain injury.

**Keywords:** Interleukin-1beta; Polymorphism, genetic; Cranio-cerebral trauma

## REFERÊNCIAS

- Center for Disease Control and Prevention. Traumatic brain injury (TBI). 2007. [citado 2009 Maio 21]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncipc/tbi/TBI.htm>.
- Oliveira CO, Ikuta N, Regner A. Outcome biomarkers following severe traumatic brain injury: [review]. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2008;20(4):411-21.
- Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996;87(6): 2095-147.
- Rothwell NJ, Luheshi GN. Interleukin-1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target. *Trends Neurosci*. 2000;23(12):618-25.
- Murzin AG, Lesk AM, Chothia C. Beta-Trefoil fold. Patterns of structure and sequence in the Kunitz inhibitors interleukins-1 beta and 1 alpha and fibroblast growth factors. *J Mol Biol*. 1992;223(2):531-43.
- Lu KT, Wang YW, Yang JT, Yang YL, Chen HI. Effect of interleukin-1 on traumatic brain injury-induced damage to hippocampal neurons. *J Neurotrauma*. 2005;22(8):885-95. Erratum in: *J Neurotrauma*. 2009;26(3):469.
- Mrak RE, Griffin WS. Interleukin-1, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2001;22(6):903-8.
- Oprica M, Eriksson C, Schultzberg M. Inflammatory mechanisms associated with brain damage induced by kainic acid with special reference to the interleukin-1 system. *J Cell Mol Med*. 2003;7(2):127-40.
- Uzan M, Tanriverdi T, Baykara O, Kafadar A, Sanus GZ, Tureci E, et al. Association between interleukin-1 beta (*IL-1beta*) gene polymorphism and outcome after head injury: an early report. *Acta Neurochir (Wien)*. 2005;147(7): 715-20; discussion 720.
- El-Omar EM, Carrington M, Chow W, McColl KE, Bre- am JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 2000;404(6776):398-402. Erratum in: *Nature*. 2001; 412(6842):99.
- Yang J, Hu Z, Xu Y, Shen J, Niu J, Hu X, et al. Interleukin-1B gene promoter variants are associated with an increased risk of gastric cancer in a Chinese population. *Cancer Lett*. 2004;215(2):191-8.
- Roof RL, Hall ED. Gender differences in acute CNS trauma and stroke: neuroprotective effects of estrogen and progesterone. *J Neurotrauma*. 2000;17(5):367-88.
- Jarrar D, Wang P, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH. The female reproductive cycle is an important variable in the response to trauma-hemorrhage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279(3): H1015-21.
- Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991;19(19):5444.
- Nathoo N, Chetry R, van Dellen JR, Connolly C, Naidoo R. Apolipoprotein E polymorphism and outcome after closed traumatic brain injury: influence of ethnic and regional differences. *J Neurosurg*. 2003;98(2):302-6.
- Zhou W, Xu D, Peng X, Zhang Q, Jia J, Crutcher KA. Meta-analysis of APOE4 allele and outcome after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2008;25(4):279-90.

17. Rothwell N. Interleukin-1 and neuronal injury: mechanisms, modification, and therapeutic potential. *Brain Behav Immun.* 2003;17(3):152-7.
18. Tanriverdi T, Uzan M, Sanus GZ, Baykara O, Is M, Ozkara C, Buyra N. Lack of association between the IL1A gene (-889) polymorphism and outcome after head injury. *Surg Neurol.* 2006;65(1):7-10; discussion 10.
19. Wang CY, Tsai HY, Shan YC. Re: Lack of association between the IL-1 gene (-889) polymorphism and outcome after head injury (Tanriverdi T, et al. *Surgical Neurology* 2006;65:7-10). *Surg Neurol.* 2006;66(3):332-4.
20. Hadjigeorgiou GM, Paterakis K, Dardiotis E, Dardioti M, Aggelakis K, Tasiou A, et al. IL-1RN and IL-1B gene polymorphisms and cerebral hemorrhagic events after traumatic brain injury. *Neurology.* 2005;65(7):1077-82.
21. Johnson VE, Murray L, Raghupathi R, Stewart J, Nicoll JA, MacKinnon MA, et al. No evidence for the presence of apolipoprotein epsilon4, interleukin-l-alpha allele 2 and interleukin-1beta allele 2 cause an increase in programmed cell death following traumatic brain injury in humans. *Clin Neuropathol.* 2006;25(6):255-64.
22. Hwang IR, Kodama T, Kikuchi S, Sakai K, Peterson LE, Graham DY, Yamaoka Y. Effect of interleukin 1 polymorphisms on gastric mucosal interleukin 1beta production in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology.* 2002;123(6):1793-803.