

# Rola wybranych polimorfizmów genów kodujących cytokiny IL-1 $\beta$ , IL1ra, IL-6 i TNF $\alpha$ w patogenezie porodu przedwczesnego

## The role of chosen polymorphism of gens coding cytokines IL-1 $\beta$ , IL1ra, IL-6 and TNF $\alpha$ in the pathogenesis of the preterm delivery

© GinPolMedProject 3 (33) 2014

Artykuł poglądowy/Review article

MARCIN SERAFIN, JAROSŁAW KALINKA

Klinika Perinatologii, I Katedra Położnictwa i Ginekologii  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
Kierownik: prof dr hab. n. med. Jarosław Kalinka

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Klinika Perinatologii, I Katedra Położnictwa i Ginekologii UM w Łodzi  
ul. Wileńska 37, 94-029 Łódź  
Tel. +48 426804624, e-mail: lekmedserafin@gmail.com

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count	3318/4280
Tabele/Tables	0
Ryciny/Figures	3
Piśmiennictwo/References	86

Received: 18.02.2014  
Accepted: 24.03.2014  
Published: 15.09.2014

### Streszczenie

Proces zapalny jest udowodnionym czynnikiem ryzyka porodu przedwczesnego (PTD). Infekcja tocząca się u kobiety w ciąży jest odpowiedzialna za około 40% przypadków PTD. Wewnątrzmaciczna inwazja drobnoustrojów, chorioamionitis, posocznica, zakażenie dróg moczowych, zapalenie płuc, malaria są chorobami o udokumentowanym związku z PTD. Hiper- lub hipostymulacja układu odpornościowego kobiety w ciąży może prowadzić do niewłaściwej reakcji na bodźce (np. zakażenie), powodując dojrzewanie do porodu szyjki macicy, przedwczesne pęknięcie błon płodowych (PPROM), wyzwolenie czynności skurczowej mięśnia macicy i w rezultacie PTD.

Interleukiny to białka, które są wytwarzane w odpowiedzi na stan zapalny. Regulują one wszystkie procesy, które pomagają w zwalczaniu zakażeń i zdrowieniu. Wytwarzanie interleukin, podobnie jak i innych białek w organizmie, reguluje DNA. Zmiany w materiale genetycznym (takie jak polimorfizmy) są odpowiedzialne za zaburzoną produkcję interleukin lub produkcję nieaktywnych cząsteczek tych białek. Polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP) jest zmianą w jednym konkretnym miejscu w łańcuchu DNA (łac. *locus*), która polega na zamianie jednej zasady nukleinowej na inną.

Interleukina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukina-6 (IL-6) oraz czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF $\alpha$ ) są cytokinami prozapalnymi. Poszczególne polimorfizmy genów, które kodują te białka (tj. odpowiednio IL1B +3953, IL6 -174 i TNFA - 308), zaburzają fizjologiczną produkcję tych cytokin prowadząc do wystąpienia PPROM i PTD.

Antagonista receptora Interleukiny-1 (IL1ra) jest cytokiną przeciwzapalną, która wiąże się kompetycyjnie z receptorem dla IL-1 $\beta$ , ale nie daje żadnego efektu biologicznego typowego dla prozapalnej IL-1 $\beta$ . Polimorfizm intronu 2 genu antagonisty receptora interleukiny-1 (IL1RN) zmniejsza produkcję IL1ra, co wpływa na zachwianie równowagi pomiędzy IL1ra i IL-1 $\beta$ . Prowadzi to do zaburzenia reakcji zapalnych i w efekcie do PTD.

**Słowa kluczowe:** poród przedwczesny; PPROM; cytokiny; polimorfizm genu

### Summary

Inflammation is a known risk factor for preterm delivery (PTD). Infection in pregnant woman is responsible for up to 40% cases of PTD. Intrauterine invasion of germs, chorioamionitis, sepsis, urinary tract infections, malaria, pneumonia are diseases with proven connection with PTD. Hyper- or hypostimulation of immune system in pregnant woman may lead to inappropriate reaction for stimuli (e.g. infection), resulting in ripening of cervix, preterm premature rupture of membranes (PPROM), uterus contractility and PTD.

Interleukines are proteins, which are produced as a response for inflammation. They regulate all processes that help fight infection and provide healing. As other proteins the production of interleukines is regulated by DNA. Changes in DNA like polymorphisms are responsible for e.g. inadequate production of interleukines or production of inactive particles of protein. Single nucleotide polymorphism (SNP) is a change in one particular place in DNA chain (called locus) that is defined as a replacement in one of nucleic alkali to another.

The interleukine-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukine-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alfa (TNF $\alpha$ ) are proinflammatory cytokines. Particular polymorphisms in genes that codes these proteins (i.e. IL1B+3953, IL6-174 and TNFA-308 respectively) induce the inadequate production of cytokines resulting in PPRM and PTD.

Interleukine-1 receptor antagonist (IL1ra) is antiinflammatory cytokine that bounds competitively with receptor for IL-1 $\beta$  but gives any biological effect typical for proinflammatory IL-1 $\beta$ . Polymorphism in intron 2 of interleukine-1 receptor antagonist gene (IL1RN) reduces production of IL1ra, which affects balance between IL1ra and IL-1 $\beta$  and leads to inadequate inflammatory response and PTD.

**Key words:** preterm delivery; PPRM; cytokine; gene polymorphism

## WSTĘP

Poród przedwczesny (PTD – *preterm delivery*) występuje między ukończonym 22. a przed rozpoczętym 37. tygodniem ciąży i według danych WHO dotyczy od 5% do 18% porodów [1]. Wyłączając przyczyny jatrogenne (20–25%), PTD występuje, jako poród przedwczesny idiopatyczny (40-50%) niepoprzedzony przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego lub poród przedwczesny poprzedzony PPRM (*preterm premature rupture of membranes*; 25-40%). Poród przedwczesny i jego konsekwencje, zwłaszcza wcześniactwo, jest poważnym problemem dla klinicystów. Taki poród jest nadal głównym powodem zachorowalności i umieralności noworodków na świecie [2], a także drugą bezpośrednio przyczyną zgonów dzieci do lat 5 [1].

Etiopatogeneza porodu przedwczesnego jest złożona i wieloczynnikowa. Romero nazywa tę patologię „zespołem porodu przedwczesnego” (*preterm parturition syndrom*), a za najważniejszą przyczynę uważa infekcję wewnątrzmaciczną. Według tego badacza, każda przyczyna (infekcja, zaburzenia hormonalne lub immunologiczne, niedokrwienie mięśnia macicy, nadmierne jego rozciągnięcie, niewydolność szyjki macicy, patologiczna reakcja allograftu) mimo, że początkowo ma zupełnie odmienny patomechanizm, skutkuje procesem tzw. wspólnej drogi (*common pathway of parturition*). Jest to patologiczne pobudzenie u matki i płodu takich samych fizjologicznych procesów immunologicznych, biochemicznych, endokrynologicznych oraz anatomicznych, jak w porodzie o czasie. Prowadzą one do kaskady zdarzeń klinicznych, które skutkują wyzwoleniem czynności skurczowej mięśnia macicy, rozwieraniem i skracaniem jej szyjki oraz pęknięciem błon płodowych i odpływaniem płynu owodniowego [3].

## INFEKCYJNE TŁO PORODU PRZEDWCZESNEGO

Kobieta ciężarna i płód stanowią fizjologicznie nierozdzieloną jednostkę matczyno-płodową. Proces infekcyjny u ciężarnej, często subkliniczny, angażuje obie składowe tego zespołu i ma udowodniony wpływ na wy-

## INTRODUCTION

Preterm delivery (PTD – *preterm delivery*) occurs between the 22nd and 37th week of pregnancy. According to WHO data, it concerns between 5% and 18% deliveries [1]. Excluding iatrogenic causes (20–25%), PTD occurs as idiopathic preterm delivery (40-50%). It is not preceded by a preterm release of the amniotic fluid. The preterm delivery preceded by PPRM (*preterm premature rupture of membranes*; 25-40%). Preterm delivery and its consequences, especially prematurity, is a serious problem for clinicians. Such delivery is still the main cause of morbidity and mortality of newborn babies in the world [2], and also the second direct cause of death of children up to age 5 [1].

Etiopathogenesis due to preterm delivery is a complex and multifactor one. Romero calls this pathology ‘preterm parturition syndrom’, and the most important reason is the intrauterine infection. According to this researcher, each reason (an infection, hormonal or immunological disorders, uterine ischaemia, its excessive stretching, cervix insufficiency, pathological reaction of the allograft) although that at the beginning it has a completely different patomechanism, its results in a so-called process of common pathway of parturition. This is a pathological stimulation in the mother and the foetus of the same physiological immunological, biochemical, endocrinologic or anatomic processes as in a delivery on time. They lead to a cascade of clinical events, which result in the release of contraction activity of the uterine muscle, dilation and shortening of its cervix and the rupture of foetal membranes and the release of the amniotic fluid [3].

## INFECTIOUS BACKGROUND OF PRETERM DELIVERY

The pregnant woman and the foetus constitute a physiologically inseparable mother and foetus unit. The infectious process in the pregnant woman, often subclinic, engages both components of this unit and has a proved influence on the occurrence of preterm deliv-

stąpienie porodu przedwczesnego. Badania dowodzą, że infekcja odpowiada za około 25-40% przypadków PTD [3]. Należy podkreślić, że im wiek ciążowy w chwili porodu przedwczesnego jest niższy, tym częściej, jego przyczyną jest infekcja wewnątrzmaciczna [4].

Doświadczenia na zwierzętach dowiodły, że podanie produktów bakteryjnych ciężarnym samicom prowadzi do porodu przedwczesnego [3]. Kliniczne obserwacje ciężarnych kobiet dotkniętych malarią, zapaleniem płuc, odmiedniczkowym zapaleniem nerek czy *peridontitis* potwierdzają wpływ tych infekcji na przedwczesne zakończenie ciąży. Innym dowodem na związek PTD i infekcji jest to, że zastosowanie antybiotykoterapii w bezobjawowej bakteriurii i wstępującym zakażeniu jaja płodowego zmniejsza ryzyko porodu przedwczesnego [3].

Inwazja mikroorganizmów może odbywać się: drogą wstępującą z dróg rodnych, drogą krwiopochodną, przez łożysko, na skutek wysiewu z jamy otrzewnej do jamy macicy, jatrogenie, w czasie inwazyjnych zabiegów na jaju płodowym (np. amniopunkcji) [3].

#### Reakcje immunologiczne w porodzie przedwczesnym

W czasie istniejącej infekcji u ciężarnej, produkty rozpadu bakterii (np. lipopolisacharydy, peptydoglikany, lipoglikany) są rozpoznawane przez receptory PRRs (*pattern recognition receptors*) w komórce nabłonkowej i za ich pośrednictwem mogą indukować odpowiedź zapalną organizmu [5]. W zależności od ich lokalizacji w komórce pełnią różne funkcje. Rozpuszczalne PRRs to białka pozakomórkowe, które działając jako opsoniny, neutralizują antygeny bakteryjne. Zalicza się do nich białka ostrej fazy. Przezbłonowe PRRs, w tym TLRs (*toll-like receptors*), rozpoznają antygeny bakteryjne i uruchamiają kaskadę reakcji zapalnych pobudzając produkcję cytokin. Wewnątrzkomórkowe PPRs (np. Nod1, Nod2) rozpoznają antygeny wewnątrzcelularne, a ich funkcja jest zbliżona do TLRs [5].

Wyniki badań nad patogenezą porodu przedwczesnego wykazują, że istotną rolę odgrywają w niej cytokiny, takie jak interleukina IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), transformujący czynnik wzrostu  $\beta$  (TGF $\beta$ ), interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), czynnik stymulujący kolonię granulocytów i makrofagów (GM-CSF) oraz antagonist receptoru dla IL-1 $\beta$  (IL1ra). Białka te są produkowane przez aktywowane komórki odpornościowe (makrofagi, limfocyty T oraz B) w odpowiedzi na zakażenie. Za pośrednictwem kolagenaz, w tym metaloproteinaz odpowiadających za degradację kolagenu, przyspieszają dojrzewanie do porodu szyjki macicy oraz osłabiają strukturę błon płodowych. Dodatkowo, cytokiny stymulują produkcję prostaglandyn odpowiedzialnych za wyzwolenie czynności skurczowej mięśnia macicy. Wszystkie te procesy immunologiczne przyczyniają się do osłabienia i przerwania ciągłości błon płodowych, dojrzewania, rozwierania i skracania szyjki macicy oraz wyzwolenia czynności skurczowej jej mięśnia, co skutkuje wystą-

ery. The researches prove that the infection is responsible for about 25-40% cases of PTD [3]. One should underline that the lower the gestational age is at the time of the preterm delivery, the more often reason of it is a intrauterine infection [4].

Experiments on animals has proved that the administration of bacterial products to pregnant females leads to preterm delivery [3]. Clinical observations of pregnant women affected with malaria, pneumonia, pyelonephritis or *peridontitis* confirm the influence of these infections on the preterm delivery. Another evidence on the relation between PTD and the infection is that the application of antibiotic therapy in the asymptomatic bacteriuria and occurring infection of the fetal egg decreases the risk of preterm delivery [3].

The invasion of microorganisms may take place: through the road ascending the genital way, through the hematogenous way, through the placenta, due to the seeding from the peritoneal cavity to the cavity of the uterus, iatrogenically, during invasive interventions on the fetal egg (e.g. amniocentesis) [3].

#### Immunological reactions in preterm delivery

During the existing infections in the pregnant woman, the products of bacteria desintegration (e.g. lipopolisacharides, peptydoglicanes, lipoglicanes) are detected by the PRRs receptors (*pattern recognition receptors*) in the epithelial cell and through their intermediary they may induce the infectious response of the organism [5]. Depending on their localisation in the cell, they fulfill different roles. Soluble PRRs are extracellular proteins, which – acting as opsonins – neutralize the bacterial antigens. They include proteins of the strong phase. Transmembrane PRRs, including TLRs (*toll-like receptors*), detect the bacterial antigens and start a cascade of infectious reactions, stimulating the production of cytokines. Intracellular PPRs (e.g. Nod1, Nod2) identify the intracellular antigens, and their function is close to TLRs [5].

The results of the researches on the pathogenesis of preterm delivery indicate that cytokines play a significant role in it, such as interleukine IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, the factor of neoplasm necrosis  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), the transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ), interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), the factor stimulating the colony of granulocytes and macrophages (GM-CSF) and the antagonist of the receptor for IL-1 $\beta$  (IL1ra). These proteins are produced by the activated immune cells (macrophages, lymphocytes T and B) in response to the infection. With the intermediary of collagenases, including metalloproteinases responsible for the decomposition of collagen, they accelerate the maturation to the delivery of the cervix and they weaken the structure of foetal membranes. Additionally, cytokines stimulate the production of prostaglandins responsible for the release of the contraction activity of the uterus muscle. All these immunological processes lead to the weakening and discontinuation of foetal membranes, maturation, dilation and shortening of the cervix and the release of the

pieniem porodu przedwczesnego [5-7]. Patomechanizm reakcji immunologicznych, mających wpływ na wystąpienie porodu przedwczesnego, ilustruje rycina 1. Część badaczy prezentuje teorię, iż poród przedwczesny jest reakcją obronną organizmu matki przed infekcją toczącą się w obrębie jaja płodowego. Jeśli miejscowa odpowiedź zapalna nie zahamuje inwazji mikroorganizmów i umożliwi rozprzestrzenienie się bakterii, wówczas uogólniona mobilizacja układu odpornościowego matki, poprzez wywołanie porodu przed terminem i pozbycie się zakażonych tkanek, chroni kobietę ciężarną przed sepsą [2].

## GENETYKA PORODU PRZEDWCZESNEGO

Wśród genetycznych czynników ryzyka wystąpienia PTD wymienić należy m.in:

- obciążenie rodzinne porodem przedwczesnym [8];
- rasa [9];
- genetyczny czynnik płodowy [10,11];
- genetyczny czynnik ojcowski [12,13].

Natura PTD wydaje się być poligeniczna [14,15], dlatego występowania tej patologii nie da się wytłumaczyć tylko prawami Mendla (wyjątkiem jest tu poród przedwczesny wywołany dystrofią miotoniczną płodu, prowadzącą do wielowodzia – jednej z przyczyn PTD [16]).

contraction activity of its muscle, what results in the occurrence of premature delivery [5-7]. The pathomechanism of the immunological reactions, having an influence on the occurrence of premature delivery, is illustrated in figure 1. Some researchers present the theory according to which the premature delivery is a defensive reaction of the mothers' organism against the infection within the fetal egg. If the local inflammatory response shall not inhibit the invasion of the microorganisms and shall facilitate the spread of the bacteria, then the generalised mobilisation of the immunological system of the mother, through the induction of labour before the term and the removal of infected tissues, protects the woman against sepsa [2].

## GENETICS OF PRETERM DELIVERY

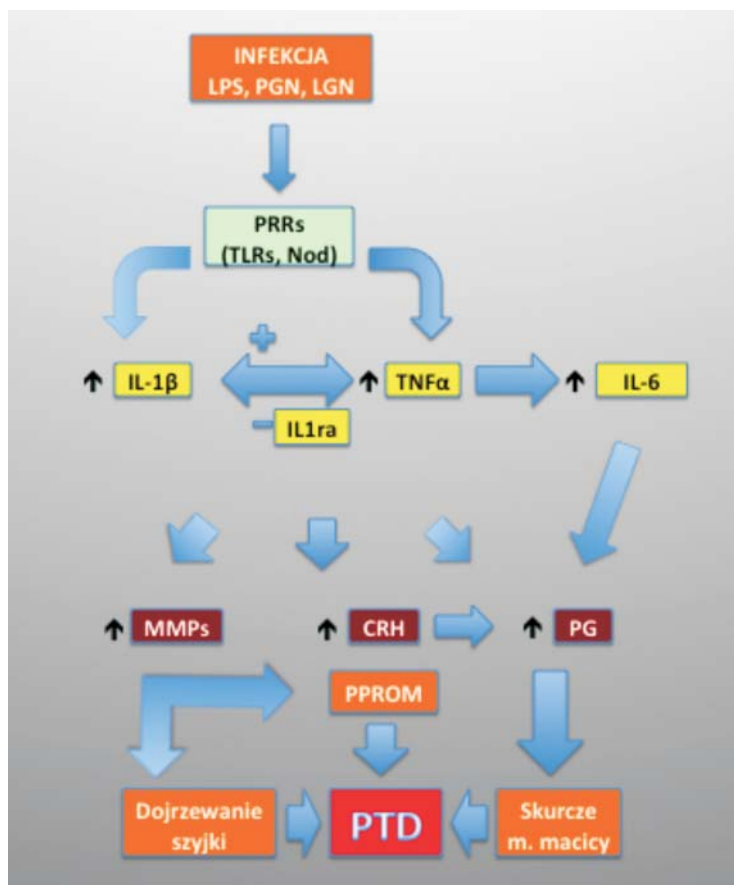
Among the genetic risk factors of PTD occurrence, we should mention among others:

- previous preterm delivery in the family [8];
- race [9];
- the genetic foetal factor [10,11];
- the genetic father's factor [12,13].

The PTD nature seems to be poligenic [14,15], that is why the prevalence of this pathology cannot be explained only by way of Mendel's laws (with the exception of preterm delivery caused by the mitotic

**Ryc. 1.** Immunologiczny model patomechanizmu porodu przedwczesnego

**Fig. 1.** Immunological pattern of the preterm delivery pathomechanism



### Polimorfizm genów

Podstawą regulacji mechanizmów odpornościowych i zapalnych człowieka jest genom, w oparciu o który syntetyzowane są wszystkie białka, w tym enzymy, hormony oraz mediatory reakcji zapalnej (m.in. cytokiny). Zaburzenia lub zmiany materiału genetycznego, wpływając na ekspresję białek, mogą mieć istotny wpływ na przebieg wielu procesów biologicznych, których efektem końcowym jest wystąpienie m.in. porodu przedwczesnego [2].

Polimorfizm genetyczny to występowanie różnych odmian allelicznych tego samego genu w obrębie populacji z częstością minimum 1%. Formy stanowiące mniej niż 1% uznawane są za mutacje. Wśród różnych typów polimorfizmów jednym z najczęściej badanych jest polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP, *single nucleotide polymorphism*), polegający na zmianie pojedynczego nukleotydu w DNA budującym gen. Inne przykłady polimorfizmów to m.in. polimorfizmy mini- i mikrosatelitarne.

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu skutkuje zmianą w trójce kodonu [2]. Dzięki zdegenerowaniu kodu genetycznego taka punktowa różnica w triplecie (w trzeciej pozycji w trójce zwanej pozycją tolerancji) może nie wpłynąć na zmianę kodowanego aminokwasu i w rezultacie nie przekładać się na budowę i struk-

dystrofy of the foetus, leading to polyhydramnios – one of the reasons of PTD [16]).

### Polymorphism of gens

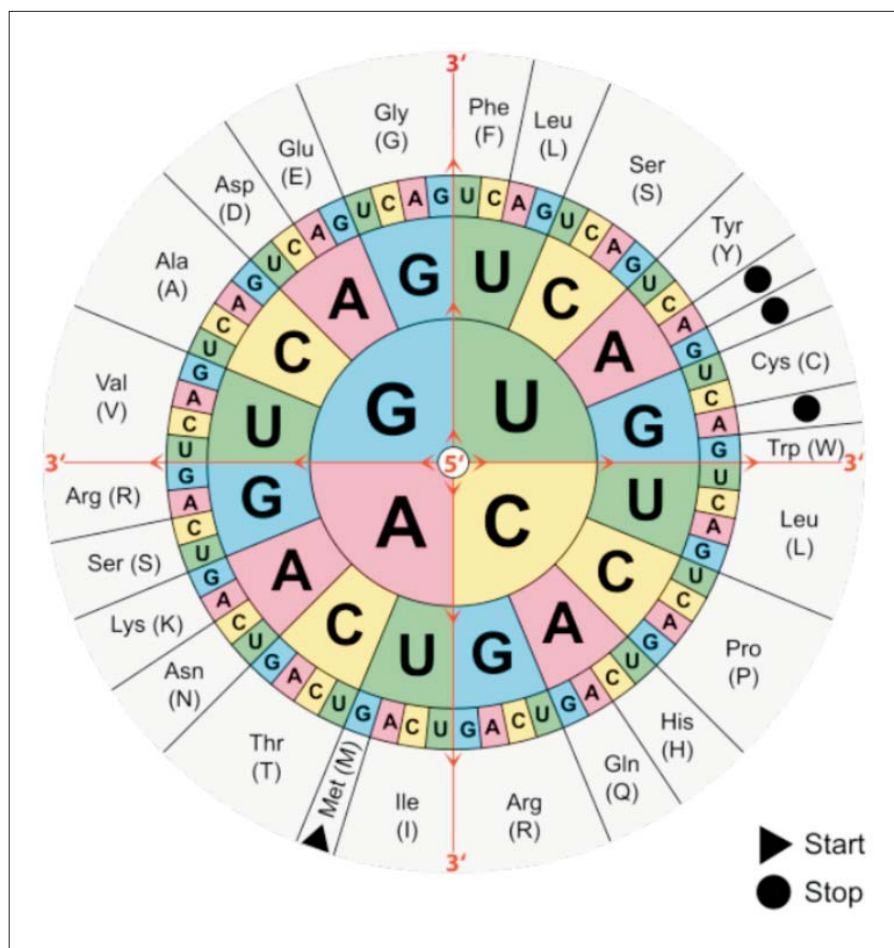
The basis of the regulation of immunological and inflammatory mechanisms of a man is the genome, relying on which all proteins are synthesized, including the enzymes, hormones and mediators of inflammatory reaction (among others cytokines). Disorders or changes of the genetic material, influencing the expression of proteins, may have a significant influence on the course of many biological processes, whose final effect is the occurrence among others of preterm delivery [2].

The genetic polymorphism consists in the occurrence of different allelic varieties of the same gene within a population with a frequency minimum 1%. The forms constituting less than 1% are considered as mutations. Among different types of polymorphisms, one the most frequently examined is SNP, *single nucleotide polymorphism*, consisting in the change of a single nucleotide to a DNA building the gen. Other examples of polymorphisms are among others mini and micro-satellite polymorphisms.

Single nucleotide polymorphism causes a change in the triplet [2]. Thanks to the degenerated genetic code, such punctual difference in the triplet (in the third

**Ryc. 2.** Graficzne przedstawienie wariantów tripletów i kodowanych przez nie aminokwasów (źródło: <http://commons.wikimedia.org>)

**Fig. 2.** Graphic representation of triplets variants and the amino acids coded by them (source: <http://commons.wikimedia.org>)



turę białka (ryc.2). Jednak może się zdarzyć tak, że SNP zmienia trójkę kodonu w ten sposób, że powstanie kodon nonsensowny (tzw. kodon stop) lub kodon start, które nie kodują żadnego aminokwasu lub, że zmiana w triplecie zamienia kodowany przez nią aminokwas na inny. W takim wypadku budowa i struktura białka kodowanego przez gen może modyfikować jego funkcje biologiczne, poprzez np. zwiększenie/zmniejszenie jego biologicznej aktywności lub brak jakiegokolwiek fizjologicznego efektu działania [2]. W takim wypadku punktowa zmiana w pojedynczym *locus* skutkuje zaburzeniem funkcji pełnionej przez białko. To z kolei może modulować wszystkie procesy biologiczne, które angażują tę proteinę. Jeśli rozważymy wszystkie możliwe funkcje, które może pełnić takie zmodyfikowane białko (receptor, przeciwciało, transporter, enzym, hormon, cytokina, itd.) to SNP może przelożyć się na kaskadę patologicznych zmian. Na zasadzie efektu domina, mogą one upośledzić poważnie funkcję całego organizmu i spowodować wystąpienie ciężkich patologii.

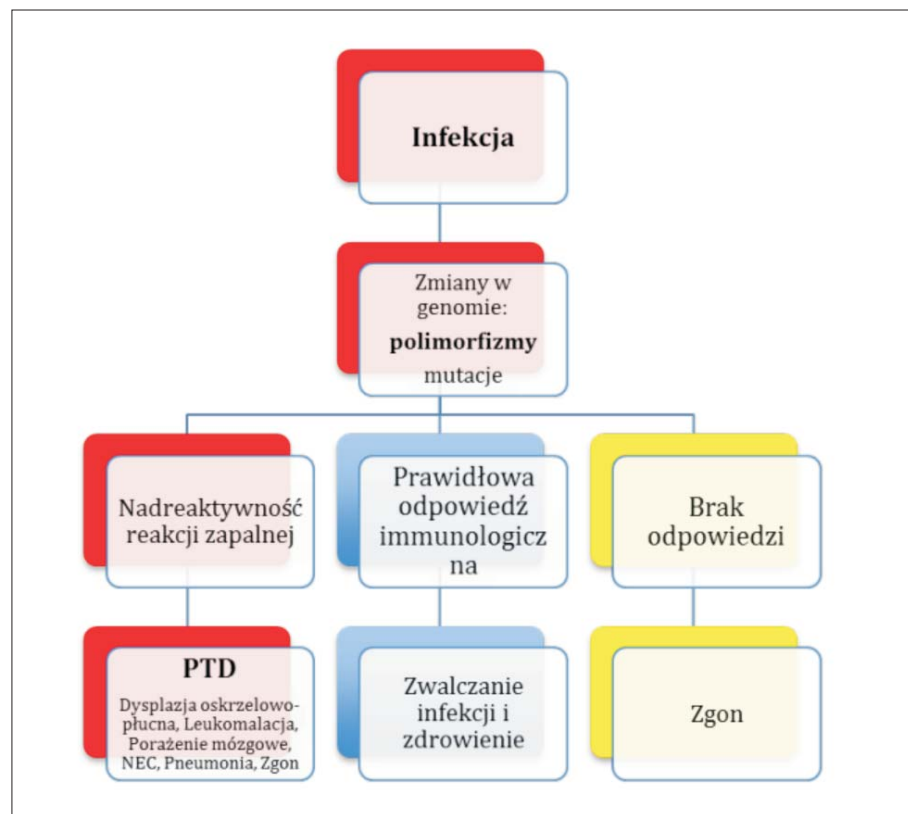
SNP występują w wielu miejscach w genie (jak również w regionach pozagenowych chromosomów), jednak wydaje się, że największe znaczenie mają te, zlokalizowane w loci miejsc regulatorowych, mogących modyfikować zdolność transkrypcyjną genu [17] lub wpływać na obróbkę potranslacyjną białka. Takie zmiany funkcjonalne, w odpowiedzi na konkretny bodziec, skutkują zwiększeniem lub zmniejszeniem produkcji m.in. cytokin [18-22], a w efekcie odpowiadają za

position in the triplet called the tolerance position) may not influence the change of coded amino acid and as a result not correspond to the construction and structure of the protein (fig.2). However, it may happen that SNP changes the triplet on such a way that a nonsensical codon shall be created (so-called codon stop) or codon start, which do not code any amino acid or that the change in the triplet changes the coded amino acid to another one. In such a case, the construction and structure of the protein coded by the gen may modify its biological functions, through e.g. the increase/decrease of its biological activity or lack of any physiological effect of action [2]. In such a case, the punctual change in a single *locus* causes of disturbance in the function fulfilled by the protein. This in turn may modulate all biological processes, which involve this protein. If we consider all possible functions that such modified protein may fulfill (receptor, antibody, transporter, enzyme, hormone, cytokine, etc.) then SNP may have its reflection on a cascade of pathological changes. Similarly to the domino effect, they may impair seriously the function of the whole organism and cause the occurrence of serious pathologies.

SNP occur in many locations in the gen (as well as in out of the gen areas of the chromosom), however it seems that the greatest importance is played by those located in the loci of regulatory places, which may modify the transcriptive ability of the gen [17] or influence the post-translational manipulation of the protein. Such functional changes, in response to a specific

**Ryc. 3.** Wpływ zmian w genomie na natężenie reakcji zapalnej wywołanej infekcją

**Fig. 3.** The influence of the changes in the genome on the intensity of inflammatory reaction caused by the infection



zaburzenie równowagi środowiska cytokin przeciw- i prozapalnych [23]. Prowadzi to do zmiany przebiegu i przewlekłości schorzeń na tle infekcyjnym czy immunologicznym.

Szacuje się, że w 80 000 ludzkich genów jest około 200 000 SNP położonych w regionach kodujących. Te polimorfizmy mogą znosić lub potęgować swoje działanie (oddziaływanie gen–gen) [24,25]. Taka modyfikacja może wyjaśniać, dlaczego można wykazać związek poszczególnych SNP w konkretnej grupie etnicznej, a nie udaje się to w innych [26]. Niektóre SNP nie mają większego znaczenia, jednak występowanie kilku położonych blisko alleli może generować utworzenie jednostki, zwanej haplotypem, mogącej modyfikować działanie genu [17]. Dla cytokin, które mają udowodniony związek z zaburzeniami immunologicznymi, mogącymi prowadzić do wystąpienia porodu przedwczesnego, a więc IL-1 $\beta$ , IL1ra, IL-6 i TNF $\alpha$  wybrano odpowiednie polimorfizmy (tj. odpowiednio IL1B+3953, IL1RN intron 1, IL6-174 oraz TNFA-308) [27-36]. Okazuje się, że geny kontrolujące procesy zapalne zaangażowane w wystąpienie PTD ulegają modulacji (*up-regulation* lub *down-regulation*) w obecności histologicznie potwierdzonego *chorioamnionitis* [5] (ryc.3.).

#### **Wpływ polimorfizmu +3953 IL1B na wystąpienie PTD**

Gen dla IL-1 $\beta$  jest położony na długim ramieniu chromosomu 2 [37,38]. Spośród wielu polimorfizmów genu dla IL-1 $\beta$  SNP w locus +3953 zwrócił szczególną uwagę badacz. Wyniki rozważań nad związkiem tego polimorfizmu z wystąpieniem PTD są jednak rozbieżne. Substytucja w eksonie 5 genu IL1B cytozyny (C) przez tyminę (T) (tzw. allel \*2) w tej pozycji związana jest ze wzmoczoną produkcją IL-1 $\beta$  *in vitro* [26,39,40]. Nosicielki nadaktywnych form genu mogą przez nadprodukcję cytokiny generować nadmierną odpowiedź immunologiczną w obecności infekcji w pochwie, co może prowadzić do PTD [41,42]. Forma allela +3953T jest rzadszą odmianą genu [26]. Edwards i wsp. dowiedli, że nosicielstwo tego allela jest częstsze u kobiet rasy kaukaskiej w porównaniu z innymi rasami ( $p=0,003$ ) [37]. Tego nie potwierdza Moor i wsp. [43] oraz Genc i wsp. [26].

U ciężarnych, będących homozygotami allela\*2, odnotowano wyższy odsetek infekcji w drogach moczowych [17]. Mimo, iż nosicielki allela\*2 miały nieistotnie podwyższone średnie stężenie IL-1 $\beta$  w wydzielinie pochwowo-szyjkowej, nie udowodniono związku między matczynym SNP w miejscu +3953 a wystąpieniem PPRM, PTD i *chorioamnionitis*. Podobny do opisanego tu wynik braku związku nosicielstwa allela\*2 z porodem przedwczesnym uzyskują Moor i wsp. [43] oraz Genc i wsp. [26]). Specyficzne konfiguracje w haplocie genu IL1B mogą wiązać się z wystąpieniem PTD. Engel i wsp. badając haplotyp +3954/-581/-1061 (+3954 tożsame z +3953) odkryli, że konfiguracja CCT zwiększa ryzyko wystąpienia PTD 1,7. krot-

stimulant, result in the increase or decrease of the production among others of cytokines [18-22], and in effect are responsible for the disorder of the anti and pro-inflammatory cytokines [23]. This leads to a change in the course and lengthiness of the diseases of an infectious or immunological origin.

It is estimated that in 80 000 human genes, there are about 200 000 SNP located in coding areas. These polymorphisms may endure or intensify their action (gene–gene impact) [24,25]. Such modification may explain why the relation between between SNP in a specific ethnic group may proven, and it can't be in others [26]. Some SNP have no greater importance, however the occurrence of several located close to alleli may generate the creation of a unit, called haplotype, and it may modify the action of the gene [17]. For cytokines, which have a proven relation with immunological disorders, which may lead to the occurrence of preterm delivery, and so IL-1 $\beta$ , IL1ra, IL-6 and TNF $\alpha$  we chose appropriate polymorphisms (that is respectively IL1B+3953, IL1RN intron 1, IL6-174 and TNFA-308) [27-36]. It turns out that the genes controlling the inflammatory genes involved in the occurrence of PTD undergo modulation (*up-regulation* lub *down-regulation*) in the presence of a histologically confirmed *chorioamnionitis* [5] (fig.3).

#### **The influence of polymorphism +3953 IL1B on PTD prevalence**

The gene for IL-1 $\beta$  is situate on the longer arm of chromosome 2 [37,38]. The researches have turned special attention to it among many polymorphisms of gene for IL-1 $\beta$  SNP in locus +3953. The results of the considerations on the relation of this polymorphism with the occurrence of PTD are however divergent. The substitution in exon 5 gen IL1B of cytosine (C) by thymine (T) (so called allel \*2) in this position is linked with an increased production of IL-1 $\beta$  *in vitro* [26,39,40]. The carriers of the overactive forms of the gene, through the overproduction of the cytokin, may generate an excessive immunological response in the presence of infection in the vagina, what may lead to PTD [41,42]. The form of allel +3953T is a more rare variety of the gene [26]. Edwards et al. have proved that being a carrier of this allel is more frequent in women of the Caucasian race in comparison to other races ( $p=0,003$ ) [37]. This is not confirmed by Moor et al. [43] and Genc et al. [26].

In pregnant women, being homozygotes of allel\*2, we noted a higher percentage of infections in the urinary tract [17]. Although the carriers of the allel\*2 had a not significantly increased concentration of IL-1 $\beta$  in the vagina and cervix secretion, we did not prove that there was a relation between the mother's SNP in the place of +3953 and the occurrence of PPRM, PTD and *chorioamnionitis*. A similar to the one described here result of lack of relation between the carrier of allel\*2 with premature delivery was obtained by Moor et al. [43] and Genc et al. [26]). Specific configurations in the haplotype of gene IL1B may occur with PTD

nie, a CTC 2,1. krotnie [18]. Nie uzyskano związku genotypu +3954 (tożsamość z +3953) z wystąpieniem patologii u płodu [37]. Interesujące jest jednak doniesienie, iż u afroamerykańskich homozygotycznych płodów allele \*1, genotyp ten zwiększał ryzyko wystąpienia PTD ( $p = 0,033$ ) [26].

### Wpływ polimorfizmu intronu 2 genu IL1RN na wystąpienie PTD

Gen dla IL1ra jest zlokalizowany w pozycji q14-q21 długiego ramienia chromosomu 2 [44], w niedalekim sąsiedztwie od genu IL1B [38]. Zauważono tu oddziaływanie typu gen-gen, w którym SNP IL1B +3954 bierze udział w regulowaniu produkcji IL1ra *in vivo* (produkcja IL1ra przy udziale IL1RN\*2 zachodzi jedynie przy braku SNP IL1B +3954 [45]). Ciekawym elementem budowy genu dla IL1ra jest intron 2, w którego skład wchodzi od 2 do 6 tandemowych powtórzeń 26. par zasad [44]. Polimorfizm w tym elemencie skutkuje wystąpieniem pięciu form allelicznych o różnej ilości powtórzeń tandemowych (VNTR – *variable number tandem repeats*): IL1RN\*1 (4 powtórzenia, częstość występowania allele 74-77,1%), IL2RN\*2 (2 powtórzenia, 19,8-21%), IL1RN\*3 (3 powtórzenia; 1,9%), IL1RN\*4 (5 powtórzeń; 1,2%), IL1RN\*5 (6 powtórzeń; poniżej 1%) [39,44,46].

Allel \*2 związany jest z występowaniem wielu przewlekłych schorzeń o charakterze zapalnym (wrzodzącego zapalenia jelit, *alopecia areata*, *lichen sclerosus*, łuszczycy, tocznia układowego, choroby Gravesa-Basedowa, nefropatii cukrzycowej) [26,44,46]. Związek między allelem \*2 z przewlekłymi schorzeniami, u których podłoża leżą skomplikowane mechanizmy immunologiczne i zapalne, sugeruje zależność między nosicielstwem tego allele a stopniem ciężkości przebiegu chorób. Forma allele IL1RN\*2 związana jest ze zmniejszoną produkcją IL1ra, a w rezultacie zaburzoną równowagą immunologiczną na korzyść prozapalnej IL-1B [44,46-48]. Istnieją także doniesienia o podwyższonych stężeniach IL1ra i IL-1B u nosicieli tego allele [49].

Gen i wsp. zauważyli różnice rasowe w nosicielstwie allele \*2. Jest ono częstsze wśród kobiet rasy kaukaskiej i latynoskiej niż u Afroamerykanek ( $p < 0,001$ ) [26,46]. Potwierdzają to badania Murtha i wsp. ( $p = 0,001$ ) [44]. Również Chaves i wsp. badając populację złożoną przede wszystkim z kobiet rasy kaukaskiej zauważyli, że matki rodzące przedwcześnie były nosicielkami allele\*2 ( $p = 0,02$ ). Związek między nosicielstwem a PTD był silniejszy ( $p = 0,01$ ) wtedy, jeśli był to kolejny poród przedwczesny. Badania Chaves dowiodły również, że nosicielstwo allele\*2 zwiększa ryzyko zarówno spontaniczego PTD ( $p = 0,01$ ), jak i PTD poprzedzonego PPRM ( $p = 0,03$ ) [50]. Badania Perni i wsp. nie dowiodły istnienia różnic rasowych wśród nosicieli allele\*2 [47]. Murtha i wsp. wskazały, że nosicielstwo allele IL1RN\*2 zwiększa ryzyko wystąpienia porodu przedwczesnego u kobiet rasy kauka-

prevalence. Engel et al., examining the haplotype +3954/-581/-1061 (+3954 identical with +3953) have discovered that CCT configuration increases the risk of PTD occurrence 1,7 times, and CTC 2,1 times [18]. They have not obtained the relation between genotype +3954 (identical with +3953) and the prevalence of pathology in the foetus [37]. However, there is an interesting report that in afro-american homozygotie foetus allele \*1, this genotype was increasing the risk of PTD occurrence ( $p = 0,033$ ) [26].

### The influence of polymorphism of intron 2 gen IL1RN on PTD prevalence

The gen for IL1ra is located in the position q14-q21 of the long arm of chromosome 2 [44], in the close vicinity of the gene IL1B [38]. We observed here the influence of gen-gen type, in which SNP IL1B +3954 takes place in the regulation of the production of IL1ra *in vivo* (production IL1ra with the participation of IL1RN\*2 takes place only by a lack of SNP IL1B +3954 [45]). One interesting element of the construction of the gen for IL1ra is intron 2, consisting of 2 to 6 tandem repetitions of 26 pairs of rules [44]. Polymorphism in this element results in the occurrence of 5 allelic forms of a variable number tandem repeats (VNTR – *variable number tandem repeats*): IL1RN\*1 (4 repeats, frequency of allele occurrence 74-77,1%), IL2RN\*2 (2 repeats, 19,8-21%), IL1RN\*3 (3 repeats; 1,9%), IL1RN\*4 (5 repeats; 1,2%), IL1RN\*5 (6 repeats; below 1%) [39,44,46].

Allel \*2 is related with the occurrence of many chronic diseases of an inflammatory character (inflammatory bowel disease, *alopecia areata*, *lichen sclerosus*, psoriasis, systemic lupus erythematosus, Graves-Basedow disease, diabetic kidney disease) [26,44,46]. The relation between allele \*2 with chronic diseases, in whose foundation there complicated immunological and inflammatory mechanisms, suggests that there is a dependency between carrying this allele and the level of severity of the course of these diseases. The form of allele IL1RN\*2 is related with a decreased production of IL1ra, and as a result a disturbed immunologic equilibrium at the profit of pro-inflammatory IL-1B [44,46-48]. There are also reports of elevated concentrations of IL1ra and IL-1B in carriers of this allele [49].

Gen et al. observed race differences in the carrier of allele \*2. It is more frequent among women of the Caucasus race and Latin American race than in Afro-american women ( $p < 0,001$ ) [26,46]. This is confirmed in Murth et al. researches ( $p = 0,001$ ) [44]. Also Chaves et al., examining a population composed mainly of women from the Caucasus race, have observed that mothers giving birth prematurely were carriers of allele\*2 ( $p = 0,02$ ). The link between being a carrier and PTD was stronger ( $p = 0,01$ ) when this was a subsequent preterm delivery. The researches of Chaves have proved that being a carrier of allele\*2 increases the risk both of spontaneous PTD ( $p = 0,01$ ), and PTD preceded by PPRM ( $p = 0,03$ ) [50]. The researches of Perni et al. have not proved the ex-



skiej (OR=4,66 95%CI 1,85-11,74) [44]. Podobne wyniki o związku PTD z allelem\*2 opublikował Hao i wsp. [51].

W przeciwieństwie do poprzednich badań Genc i wsp. donoszą, iż IL1RN\*2 bez względu na rasę jest zawsze związany ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia PTD ( $p=0,02$ ). Badacze wiążą to z ogólnie zmienioną odpowiedzią immunologiczną reakcji angażujących cytokinę IL-1 $\beta$  [46].

Nosicielstwo IL1RN\*2 wśród noworodków rasy latynoskiej związane jest z ryzykiem wystąpienia PPRM (OR=6,5 95%CI 1,25-37,7) i następowym PTD (OR= 3,8 95%CI 1,1-13,1). Częstość występowania tego allele u latynoskich wcześniaków jest większa w porównaniu z afroamerykańskimi noworodkami urodzonymi przedwcześnie ( $p=0,004$ ) [26]. Związek ten udowodniono również na przykładzie wcześniaków arabskiego i żydowskiego pochodzenia etnicznego [52]. W badaniu nad płodowym nosicielstwem IL1RN\*2 Kalish i wsp. wykazali, że istnieje zależność między PPRM i występowaniem tego allele, a także między jego obecnością i zachorowalnością noworodków z cięż wielopłodowych (RDS, NEC, IVH) [53]. Ryzyko u homozygot było większe niż u heterozygotycznych nosicieli allele\*2. Jednak badanie jest dyskusyjne ze względu na to, iż w większości prac cięż wielopłodowe były kryterium wykluczającym z grupy badanej, ze względu na silną udowodnioną korelację z PTD oraz z uwagi na możliwość współistnienia innych istotnych czynników ryzyka. Genc i wsp. nie znaleźli zależności między jednoczesnym nosicielstwem dwóch rzadszych alleli genów IL1B +3953 i IL1RN a ryzykiem wystąpienia PTD [26].

### **Wpływ polimorfizmu IL6-174 na wystąpienie PTD**

Gen dla IL-6 znajduje się na chromosomie 7q21 [54]. SNP regionu promotorowego w pozycji -174, polegający na zastąpieniu cytozyny (C) przez guaninę (G), w modelu komórek stymulowanych LPS i IL-1 $\beta$ , wzmacniał ekspresję genu 2–3. krotnie (w porównaniu z allelem C, gdzie nie zauważono podobnego wzrostu [21,55]). Allel G związany jest z normalną aktywnością transkrypcyjną promotora, podczas gdy allel C zdolność tę obniża [27,55-57]. Allel C jest recesywny, gdyż tylko homozygoty CC wykazują obniżone stężenia IL-6, podczas gdy warianty GC i GG cechują się normalną produkcją tej cytokiny [56-59].

Homozygotyzm G w miejscu -174 jest związany z przewlekłymi schorzeniami na tle immunologicznym (np. z młodzieńczym zapaleniem stawów), odrzuceniem przeszczepu allogenicznego nerki, miażdżycą i demencją powylewową [21,60-63]. Genotyp CC natomiast wydaje się odgrywać tu rolę protekcyjną [79]. Interesujące jest jednak doniesienie o ochronnym znaczeniu genotypu GG dla zagrożenia sepsą (silna odpowiedź obronna) [64]. Zauważono, także różnice rasowe w nosicielstwie allele G. Wydaje się, że jest ono częstsze u Afroamerykanek [65,66]. Nosicielstwo allele C,

istnienie różnic rasowych wśród nosicieli allele\*2 [47]. Murtha et al. showed that being a carrier of allele IL1RN\*2 increases the risk of preterm delivery occurrence in women from the Caucasus race (OR=4,66 95%CI 1,85-11,74) [44]. Similar result on the link between PTD and allele\*2 were published by Hao et al. [51].

Contrary to previous researches, Genc et al. report that IL1RN\*2, notwithstanding the race, is always linked with a decrease of the risk of PTD occurrence ( $p=0,02$ ). The researches link that with the generally changed immunological response of reactions engaging cytokin IL-1 $\beta$  [46].

Being a carrier of IL1RN\*2 among new born babies of Latin American race is linked with the occurrence of PPRM (OR=6,5 95%CI 1,25-37,7) and following PTD (OR= 3,8 95%CI 1,1-13,1). The frequency of the occurrence of this allele in Latin American prematurely born babies is bigger in comparison to Afroamerican babies born prematurely ( $p=0,004$ ) [26]. This link was also proved on the example of prematurely born babies of an Arabic and Jewish ethnic origin [52]. In the research on the fetal carrier condition of IL1RN\*2 Kalish et al. have proved that there is a dependency between PPRM and the occurrence of this allele, as well as between its presence and morbidity of newborn babies from multifetal pregnancies (RDS, NEC, IVH) [53]. The risk in homozygotes was greater than in heterozygote carriers of allele\*2. However, the research is questionable as in most works multifoetal pregnancies were a criteria excluding from the examined group due to a strong proven correlation with PTD and due to the possibility of coexistence of other essential risk factors. Genc et al. have not found a link between being a simultaneous carrier of two more rare alleles of gens IL1B +3953 and IL1RN and the risk of PTD occurrence [26].

### **The influence of polymorphism IL6-174 on PTD prevalence**

The gene for IL-6 is situated in chromosom 7q21 [54]. SNP of the promotor area in position -174, consisting in substituting cytozine (C) by guanine (G), in the pattern of cells stimulated LPS and IL-1 $\beta$ , it reinforced the expression of gen 2–3 times (in comparison to allele C, when such growth was not observed [21,55]). Allel G is linked with the normal transcriptive activity of the promotor, whereas the allele C recedes this ability [27,55-57]. Allel C is recessive, as only homozygotes CC show reduced concentration of IL-6, whereas the variants GC and GG are characterized by a normal production of this cytokine [56-59].

The homozygosity G in place -174 is linked with chronic diseases on an immunological background (e.g. with juvenile arthritis), the rejection of allogenic kidney graft, atherosclerosis and vascular dementia on the protective significance of genotype G for the threat with sepsa is interesting (strong defense response) [64]. Race differences were also observed in the carrier of allele G. It seems that it is more frequent in Afroamerican women [65,66]. The carrier of allele C, linked with

wiązanego ze zmniejszoną produkcją IL-6, jest statystycznie częstsze u rasy kaukaskiej ( $p < 0,001$ ) [54]. Simhan donosi, że homozygoty CC to w 100% przedstawicielki rasy kaukaskiej ( $p < 0,001$ ), a nosicielstwo allele C (heterozygotyzm) występuje jedynie u 9% Afroamerykanek [57]. Potwierdzają to również badania Engel i wsp. [18] oraz Choi [39].

Zależność między SNP IL6-174, a PTD nadal pozostaje dyskusyjna. Zauważono, iż wariant CC zmniejsza ryzyko wystąpienia PTD. Simhan i wsp. wykazali statystycznie istotną, odwrotnie proporcjonalną zależność między genotypem CC, a porodem przedwczesnym poniżej 34. tygodnia u kobiet rasy kaukaskiej [57]. Speer i wsp. wiążą występowanie PTD u Afroamerykanek z nosicielstwem allele G [65]. Reiman i wsp. donoszą, że genotyp GG jest związany z procesem zapalnym, toczącym się w łożysku (tj. histologicznie potwierdzonym *chorioamionitis*), a homozygotyzm C wiąże się wprost z sepsą u płodu [67]. Hartel i wsp. wiążą występowanie porodu przedwczesnego z allelem G, jednak tylko u homozygotycznych matek, które już wcześniej urodziły przedwcześnie [58].

Stonek i wsp. nie uzyskali w swoich badaniach istotnej zależności między polimorfizmem IL6-174 a występowaniem PTD czy wewnątrzmacicznego obumarcia płodu, urodzeniem noworodka z niską masą urodzeniową oraz stanem przedrzucawkowym u kobiet rasy kaukaskiej. Na uwagę zasługuje fakt, iż badaniem objęło bardzo dużą grupę białych ciężarnych [56]. Jamie i wsp. nie potwierdzili w swoich badaniach związku między PTD a matczynym SNP IL6-174 czy stężeniem IL-6. Również nie udało się uzyskać pozytywnej korelacji między rzadszym genotypem u noworodka, a jego stanem klinicznym [54]. Podobne wyniki uzyskali Velez i wsp. [55].

Niektórzy autorzy donoszą, iż nie sam SNP, ale odpowiedni haplotyp kontroluje ekspresję genu dla IL-6. Annells i wsp. piszą o związku SNP w pozycji -174 jedynie z PPRM i to w powiązaniu ze specyficznym haplotypem genu IL10 -1082G/-819C/-592C u Australijek [68]. Velez i wsp. udowodnili zależność wystąpienia PTD z nosicielstwem haplotypu GAGC (allel C w miejscu rs1800795 tożsamym z -174) u matek rasy kaukaskiej ( $p = 0,05$ ). Zależność ta nie korelowała jednak ze zmianą stężenia IL-6 [55].

### **Wpływ polimorfizmu TNFA -308 na wystąpienie PTD**

Gen dla TNF $\alpha$  znajduje się na chromosomie 6 [69]. SNP promotora w miejscu -308 warunkuje występowanie dwóch form alleli. W rzadszym (23-30% [64, 65, 70, 71]) allelu \*2 w pozycji -308 adenina (A) zastępuje guaninę (G). Genotypy różnią się między sobą wpływem na nasilenie produkcji TNF $\alpha$  (AA wiąże się z wysokimi stężeniami tej cytokiny, AG ze średnimi, a GG z niskimi) [65, 71]. Linia limfocytów B u homozygot allele \*2, wykazuje 5. krotnie większą aktywność transkrypcyjną promotora, a przez to zwiększoną ekspresję genu, w porównaniu z limfocytami u nosicieli

a reduced production of IL-6, is statistically more frequent in the Caucasus race ( $p < 0,001$ ) [54]. Simhan reports that homozygotes CC are in 100% representatives of the Caucasus race ( $p < 0,001$ ), and carrier of allele C (heterozygosity) occurs only in 9% Afroamericans [57]. This is confirmed by the researches of Engel et al. [18] and Choi [39].

The dependency between SNP IL6 -174 and PTD still remains questionable. It was observed that the CC variant diminishes the risk of PTD occurrence. Simhan et al. have proved a statistically significant, reversely proportional dependency between genotype CC and premature delivery below the 34th week in women of the Caucasus race [57]. Speer et al. link PTD prevalence in Afroamerican women with carrier condition of allele G [65]. Reiman et al. report that GG genotype is related with an inflammatory process, taking place in the placenta (that is a histologically confirmed *chorioamionitis*) and homozygosity C is related directly with sepsa in the foetus [67]. Hartel et al. link the prevalence of preterm delivery with allele G, however only in homozygotic mothers, who had already given birth prematurely [58].

In their researches, Stonek et al. have not obtained a significant dependency between polymorphism IL6-174 and PTD occurrence or intrauterine fetal necrosis, the delivery of a baby with low birth mass and a pre-eclampsia in women from Caucasus race. It should be underlined that the research included a big group of white pregnant women [56]. Jamie et al. have not confirmed the existence of a link between PTD and mothers' SNP IL6-174 or IL-6 concentration. It was also not possible to obtain a positive correlation between a more rare genotype in the newborn baby and its clinical state [54]. Similar results were obtained by Velez et al. [55].

Some authors report that not the SNP itself, but the appropriate haplotype controls the expression of the gen for IL-6. Annells et al. write about the link SNP in position -174 only with PPRM and this in correlation with a specific haplotype of gene IL10 -1082G/-819C/-592C in Australian women [68]. Velez et al. have proved the existing dependency between PTD prevalence with a carrier condition of haplotype GAGC (allel C in the place of rs1800795 identical to z -174) in mothers of the Caucasian race ( $p = 0,05$ ). This dependency did not correlate, however, with the change of IL-6 concentration [55].

### **The influence of TNFA -308 polymorphism on PTD occurrence**

The gen for TNF $\alpha$  is situated in chromosome 6 [69]. SNP of the promotor in the place -308 conditions the prevalence of two forms of allele. In the more rarely occurring (23-30% [64, 65, 70, 71]) allele \*2 in position -308 adenine (A) substitutes guanine (G). The genotypes differ among themselves by the influence on the intensity of the production of TNF $\alpha$  (AA is linked with high concentrations of this cytokine, AG with medium concentrations, and GG with low concentrations) [65, 71]. The line of limphocytes B in homozygotes of allele \*2,

allela \*1 [64]. TNFA - 308 allel \*2 związany jest z MHC klasy II A1, B8, DR3, DQ2, które z kolei odpowiadają za procesy autoimmunologiczne i zwiększoną produkcję TNFα [72]. Nosicielstwo tego allela wiąże się ze stopniem ciężkości przebiegu wielu przewlekłych chorób o tle zapalnym, np. malarii mózgowej, leishmaniozy [73,74], jak również ze wstrząsem septycznym [19,20]. Istnieje wiele przesłanek sugerujących związek matczyne nosicielstwa TNFA - 308 allela\*2 ze zwiększonym ryzykiem PPRM i PTD [75-78].

Wpływ rasy na częstotliwość występowanie SNP tego genu w *locus* - 308 podkreślało wielu autorów. Większość z nich donosiło o częstszym nosicielstwie niekorzystnego allela \*2 u Afroamerykanek [43,64,70,75-77,79]. Roberts i wsp. piszą o występowaniu PTD poprzedzonego PPRM u Afroamerykanek, nosicielek TNFA-308 allela\*2, które były urodzone przedwcześnie. Z tego powodu autorzy określają występowanie tego SNP, jako czynnik ryzyka w tej grupie kobiet [75]. Fortunado i wsp. opisuje związek między nosicielstwem SNP - 488 (tożsame w jego metodzie badawczej z - 308) u noworodków rasy afroamerykańskiej a wystąpieniem porodu przedwczesnego [69]. Podobnie Aidoo i wsp. badając grupę 1048 noworodków, donoszą jedynie o związku płodowego (a nie matczyne) nosicielstwa zarówno homo- (RR=7,3 95%CI 2,85-18,9), jak i heterozygotycznego (RR=6,7 95%CI 2,0-23) polimorfizmu - 308 allela A z wcześniactwem [80]. Amory i wsp. nie potwierdzili związku między matczynym genotypem - 308 a ryzykiem porodu przedwczesnego niepoprzedzonego PPRM lub wystąpieniem powikłań okołoporodowych i zwiększeniem zachorowalności u noworodków [79]. Przykładem interakcji gen-środowisko jest zwiększenie ryzyka wystąpienia PTD przy współistnieniu SNP TNFA-308 allela \*2 i BV [18,64,76]. Opisywane zwiększenie ryzyka z 2,5. krotnego (95%CI 1,4-4,5) do 10,1. krotnego (95%CI 4,4-23,5) występowało jedynie u Afroamerykanek, przy jednoczesnym występowaniu obu czynników [64]. Amory i wsp. nie udało się powtórzyć wyników badań Macones i wsp. [79]. Natomiast Moor i wsp. udowodnili związek polimorfizmu TNFA - 308 z porodem przedwczesnym jedynie u kobiet niepalących [43].

Menon i wsp. nie wykazali w populacji kobiet amerykańskich związku PTD ani z SNP - 308, ani też z haplotypem TNF/TNFRI/TNFRII. Autorzy podkreślają jednak, iż duża rozbieżność wyników i brak istotności statystycznej mogą wynikać z większej ilości haplotypów powszechnych (TNF/TNFRI/TNFRII) u Euroamerykanek niż u Afroamerykanek. Przyczyną może być również wykluczenie z badania przypadków PPRM [70,81]. Wyniki metaanalizy wskazują, że nie istnieje związek statystyczny między polimorfizmem w *locus* - 308 a występowaniem PTD (OR=1,41 95%CI 0,9-2,19) [71]. Badacze tłumaczą to możliwością występowania innych SNP w genie TNFA lub innego oddziaływania typu gen-gen, które może wpływać na ekspresję, translację lub modyfikację potranslacyjną.

shows a five times greater transcriptive activity of the promotor, and by that – an increased expression of the gene, in comparison to lymphocytes in allel \*1 carriers [64]. TNFA - 308 allel \*2 is linked with MHC class II A1, B8, DR3, DQ2, which in turn respond for the auto-immunological processes and an increased production of TNFα [72]. The carrier condition of this allel is linked with a level of severity of the course of many chronic diseases of a inflammatory background, e.g. cerebral malaria, leishmaniasis [73,74], as well as a septic shock [19,20]. There are many premises suggesting the existence of a link between the mothers' carrier condition of TNFA - 308 allel\*2 and an increased PPRM and PTD risk [75-78].

The influence of race on the frequency of SNP prevalence of this gene in *locus* - 308 has been underlined by many authors. The majority of them reported about a frequent condition of being a carrier of an adverse allel\*2 in Afroamerican women [43,64,70,75-77,79]. Roberts et al. write about PTD prevalence preceded by PPRM in Afroamerican women, carriers of TNFA-308 allel\*2, who were born prematurely. Consequently, the authors defined the occurrence of this SNP as a risk factor in this group of women [75]. Fortunado et al. describe this relation between being a carrier of SNP - 488 (identical in its research method with - 308) in newborn babies of Afroamerican race and the occurrence of premature delivery [69]. Similarly, Aidoo et al., while examining a group of 1048 newborn babies, report only about the existence of a fetal link (and not the mothers' link) of being a carrier of both homo- (RR=7,3 95%CI 2,85-18,9) and heterozygotic (RR=6,7 95%CI 2,0-23) polymorphism - 308 allel A with prematurity [80]. Amory et al. have not confirmed the existence of a relation between the mother's genotype - 308 with the risk of premature delivery not preceded by PPRM or the occurrence of perinatal complications and the increase of the morbidity in newborn babies [79]. An example of the interaction gen-the environment is the increase of the risk of PTD prevalence with the coexistence of SNP TNFA-308 allel \*2 and BV [18,64,76]. The described increase of risk from a 2,5 time (95%CI 1,4-4,5) to a 10,1 time (95%CI 4,4-23,5) occurred only in Afroamerican women, with a simultaneous prevalence of both factors [64]. Amory et al. has not succeeded to repeat the results of researches carried out by Macones et al. [79]. Moor et al., however, have proved that there is a link between TNFA - 308 polymorphism with preterm delivery only in non-smoking women [43].

Menon et al. have not shown in any race in the population of American women that there was a link between PTD and SNP - 308, or with haplotype TNF/TNFRI/TNFRII. The authors, however, underline, that the great discrepancy of results and a lack of statistical significance may result from a greater number of universal haplotypes (TNF/TNFRI/TNFRII) in Euroamerican women than in Afroamericans. Another cause may also be the exclusion of PPRM cases from the research [70,81]. The results of the meta-analysis indi-

Speer i wsp. znaleźli związek między PTD a SNP - 308, jednak nie z allelem \*2, ale z allelem \*1. Występowanie SNP TNFA-308G wiązało się również z histologicznie potwierdzonym *chorioamnionitis* oraz zakażeniem dróg moczowych w przebiegu PTD [65]. Podobne wyniki uzyskali Annells i wsp., u których występowanie allele G w haplocie TNFA +488A/-238G/-308G wiązało się z wystąpieniem porodu przedwczesnego poniżej 29. tygodnia u ciężarnych rasy kaukaskiej [68].

Moura i wsp. badając w populacji 410 ciężarnych polimorficzne miejsca genów dla sześciu cytokin, znaleźli związek idiopatycznego PTD z genotypem TNFA-308(GG)/IL6-174(GG)/IFNG+874(AA) ( $p=0,002$ ). Natomiast nie wskazali na związek PTD z izolowanymi SNP dla konkretnych cytokin. Może być to dowód na zależność między wielogenowymi układami SNP, obejmującymi kilka cytokin, a występowaniem PTD [82]. Przykładem zależności między konkretnym haplotypem a ryzykiem wystąpienia porodu przedwczesnego jest doniesienie Engel i wsp. Badając SNP u białych kobiet dla TNFA-308 oraz limfotoksyny A LTA(IVS1+90) i LTA(IVS1-82), powiązali oni występowanie haplotypu GAG ze zmniejszeniem ryzyka PTD o 40% (OR=0,6; 95% CI 0,3-1,0). Jednocześnie badacze dowiedli, że haplotyp GAC ryzyko to zwiększał (OR 1,6; 95% CI 0,9-2,9) [18].

## PODSUMOWANIE

Dowody naukowe przedstawiają dyskusyjne dane, czasem rozbieżne. Istnieje niewiele doniesień na temat związku polimorfizmów dla przedstawionych cytokin (w tym SNP genów IL1B+3953, IL1RN intronu 2, IL6-174 oraz TNFA-308 [83-86]) z porodem przedwczesnym w populacji polskiej. Wskazują one na możliwy udział polimorfizmu IL1B+3953 oraz IL1RN w patogenie PTD. Ze względu na uwarunkowanie polietologiczne PTD i zmienność populacyjną istnieje potrzeba oceny wpływu powyższych zmian polimorficznych genomu ludzkiego na wystąpienie porodu przedwczesnego w grupie polskich kobiet. Specyficzne cechy rasowe, środowiskowe i genetyczne w naszej populacji znajdują być może odbicie w odkryciu specyficznego układu wybranych SNP i określeniu ich wpływu na tak poważną patologię, jaką jest wcześniactwo, wyjaśniając jednocześnie jego uwarunkowania genetyczne. Odkrycia w tej dziedzinie mogą w przyszłości pomóc w skutecznej identyfikacji kobiet narażonych na urodzenie wcześniaka, jak również ułatwić opiekę i poradnictwo kobiet ciężarnych z niepowodzeniami położniczymi.

cate that there is no statistical link between the polymorphism in locus - 308 and PTD prevalence (OR=1,41 95%CI 0,9-2,19) [71]. The researchers explain this by a possibility of prevalence of other SNP in the TNFA gen or another impact of the type gene-gene, which may influence on the expression, translation or post-translation modification.

Speer et al. have found a link between PTD and SNP - 308, however not with allele\*2, but with allele\*1. SNP TNFA-308G prevalence was also linked with a histologically confirmed *chorioamnionitis* and the infection of urinary tract in PTD course [65]. Similar results were obtained by Annells et al, in whom the prevalence of allele G in haplotype TNFA +488A/-238G/-308G was linked with the occurrence of preterm delivery below the 29th week in pregnant women of the Caucasus race [68].

Moura et al., carrying out a research, in the population of 410 pregnant women, on the polymorphic locations of genes for 6 cytokines, have found a link between the idiopathic PTD with genotype TNFA-308(GG)/IL6-174(GG)/IFNG+874(AA) ( $p=0,002$ ). They have not, however, proved the existence of the link between PTD and isolated SNP for concrete cytokines. This may be a proof for the dependency between multi-gene SNP arrangements, including several cytokines, and PTD prevalence [82]. An example of dependency between a specific haplotype and the risk of preterm delivery occurrence is the report of Engel et al. While examining SNP in white women for TNFA-308 and the limphotoxine A LTA(IVS1+90) and LTA(IVS1-82), they linked the prevalence of haplotype GAG with a decrease of the PTD risk by 40% (OR=0,6; 95% CI 0,3-1,0). At the same time, the researchers have proved that haplotype GAC was increasing this risk (OR 1,6; 95% CI 0,9-2,9) [18].

## CONCLUSION

Scientific evidence present ambivalent data, sometimes very divergent. There are not many reports on the correlation of the polymorphisms for the presented cytokines (including the SNP genes IL1B+3953, IL1RN intron 2, IL6-174 and TNFA-308 [83-86]) with preterm delivery in the Polish population. They indicate to a possible participation of IL1B+3953 polymorphism and IL1RN polymorphism in PTD pathogenesis. Due to the polyethiologic conditioning of PTD and the population variability, there is a need to evaluate the influence of the above polymorphic changes of the human genome on the occurrence of preterm delivery in the group of Polish women. Specific racial, environmental and genetic traits in our population may be reflected in the discovery of a specific arrangement of chosen SNP and defining their influence on such serious pathology as preterm birth, at the same time explaining its genetic conditions. Discoveries in this field may in future help to identify efficiently the women exposed to giving birth a preterm baby, as well as facilitate the care and counselling in pregnant women with obstetrics failures.

## Piśmiennictwo / References:

1. **Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ et al.** National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet* 2012;379(9832):2162-72.
2. **Bręborowicz GH, Paszkowski T i wsp.** Poród przedwczesny 2006; ISBN 87-7314-053-0.
3. **Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP et al.** The preterm parturition syndrome. RCOG 2006 BJOG *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2006;113(3):17-42.
4. **Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T et al.** Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatol* 2002;7:259-74.
5. **Romero R, Espinoza J, Goncalves LF et al.** Inflammation in preterm and term labour and delivery. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 2006;11:317-26.
6. **Blank V, Hitsch E, Challis JRG et al.** Cytokine signaling, inflammation, innate immunity and preterm labor - a workshop report. Placenta 29, Supplement A, *Trophoblast Research* 2008;22:102-4.
7. **Holst D, Garnier Y.** Preterm birth and inflammation-The role of genetic polymorphisms. *European Journal of Obstetrics & Gynecology an Reproductive Biology* 2008;141:3-9.
8. **Bręborowicz GH, Paszkowski T.** Położnictwo t.2. 2012:19-40; ISBN 978-83-200-4271-9,
9. **Migone A, Emanuel I, Mueller B et al.** Gestational duration and birthweight in white, black and mixed-race babies. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1991;5:378-91.
10. **Magnus P.** Causes of variation in birthweight: a study of offspring of twins. *Clin Genet* 1984;25:15-24.
11. **Magnus P.** Further evidence of significant effect of fetal genes on variation in birth weight. *Clin Genet* 1984; 26:289-96.
12. **Li DK.** Changing paternity and the risk of preterm delivery in the subsequent pregnancy. *Epidemiology* 1999; 10:148-52.
13. **Basso O, Olsen J, Christiansen K.** Low birthweight and prematurity in relation to paternal factors: a study of recurrence. *Int J Epidemiol* 1999;28:695-700.
14. **Adams K, Eschenbach D.** The genetic contribution towards preterm delivery. *Seminars in fetal & neonatal medicine* 2004;9:445-52.
15. **Esplin S, Varner M.** Genetic factor in preterm birth-the future. *BJOG* 2005;112(sup1):97-102.
16. **Rudnik-Schoneborn S, Nicholson GA, Mordan G et al.** Different patterns of obstetric complication in myotonic dystrophy in relation to the disease status of the fetus. *Am J Med Genet* 1998;80:314-21.
17. **Orsi N, Gopichandran N, Simpson N.** Genetics of preterm labor. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2007;21(5):757-72.
18. **Engel S, Erichsen H, Savitz D et al.** Risk of spontaneous preterm birth is associated with common proinflammatory cytokine polymorphisms. *Epidemiology* 2005; 16(4):469-77.
19. **Mira J, Cariou A, Grall F et al.** Association of TNF2, a TNF A promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA* 1999;282:561-8.
20. **Wilson AG, Symons JA, McDowell TL et al.** Effects of polymorphism in the human tumor necrosis factor A promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3195-9.
21. **Fishman D, Faulds G, Jeffery R et al.** The effect of novel polymorphisms in the IL-6 gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102:1369-76.
22. **Gentile DA, Doyle WJ, Zeevi A et al.** Cytokine gene polymorphisms moderate illness severity in infants with respiratory syncytial virus infection. *Hum Immunol* 2003;64:338-44.
23. **Engel S, Olshan A, Savitz D et al.** Risk of small-for-gestational age is associated with common anti-inflammatory cytokine polymorphisms. *Epidemiology* 2005; 16(4):478-86.
24. **Strauss JF.** Unravelling the genetics of complex disorder of reproduction. *Reprod Med: A Millenium Review* 1999:284-7.
25. **Kornman KS, Crane A, Wang HY et al.** The interleukin-1 genotype as severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997;24:72-7.
26. **Genc M, Gerber S, Nesin M et al.** Polimorphism in the interleukin-1 gene complex a spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187(1):157-63.
27. **Hillier SL, Witkin SS, Krohn MA et al.** The relationship of amniotic fluid cytokines and preterm delivery, amniotic fluid infection, histological chorioamnionitis, and chorioamnion infection. *Obstet Gynecol* 1993; 81:941-8.
28. **Goldenberg RL, Haut JC, Andrews WW.** Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 342:1500-7.
29. **Watts DH, Krohn MA, Hillier SL et al.** The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol* 1992;79:351-7.
30. **Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL et al.** Amniotic fluid interleukin-6: correlation with upper genital tract microbial colonisation and gestational age in women delivered after spontaneous labor versus indicated delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:606-11.
31. **Romero R, Mazor M, Sepulveda W et al.** Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1576-82.
32. **Romero R, Gomez R, Ghezzi F et al.** A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:186-93.
33. **Yoon BH, Romero R, Park JS et al.** Microbial invasion of the amniotic cavity with *Ureaplasma urealyticum* is associated with a robust host response in fetal, amniotic, and maternal compartments. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1254-60.
34. **Wegmann TG, Lin H, Guilbert L et al.** Bidirectional cytokines interactions in the maternal-fetal relationship is successful pregnancy a th2 phenomenon. *Immunol Today* 1993;14:353-6.
35. **Marzi M, Vigano A, Trabattoni D et al.** Characterisation of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. *Clin Exp Immunol* 1996;106:127-33.
36. **Fortunado SJ, Menon R, Lombardo SJ.** Interleukin-10 and transforming growth factor-beta inhibit amnio-

- chorion tumor necrosis factor-alpha production by contrasting mechanisms of action: therapeutic implications in prematurity. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177(4):803-9.
37. **Edwards R, Ferguson R, Duff P.** The interleukin-1B +3953 single nucleotide polymorphism: Cervical protein concentration and preterm delivery risk. *Am J Reprod Immunol* 2006;55:259-64.
  38. **Webb AC, Collins KL, Auron PE et al.** Interleukin-1 gene (IL1) assigned to long arm of human chromosome 2. *Lymphokine Res* 1986;5:77-85.
  39. **Choi Y, Kwak-Kim J.** Cytokine gene polymorphisms in recurrent spontaneous abortions: A comprehensive review. *American Journal of Reproductive Immunology* 2008;60:91-110.
  40. **Pociot F, Molving J, Wogensen L et al.** A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992;22:396-402.
  41. **Hernandez-Guerrero C, Mononz-Bordonaba F, Jimenez-Zamudio L et al.** In-vitro secretion of proinflammatory cytokines by human amniochorion carrying hyper-responsive gene polymorphisms of tumor necrosis factor-A and interleukin-1B. *Mol Hum Reprod* 2003;9:625-9.
  42. **Hollegaard MV, Bidwell JL.** Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line database, Supplement 3. *Genes Immun* 2006;7:169-76.
  43. **Moore S, Ide M, Randhawa M et al.** An investigation into the association among preterm birth, cytokine gene polymorphisms and periodontal disease. *BJOG* 2004; 111:125-32.
  44. **Murtha A, Nieves A, Hauser E et al.** Association of maternal IL-1 receptor antagonist intron 2 gene polymorphism and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195:1249-53.
  45. **Hurme M, Santtila S.** IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1ra and IL-1beta genes. *Eur J Immunol* 1998;28:2598-602.
  46. **Gene MR, Onderdonk A, Vardhana S et al.** Polymorphism in intron 2 of the interleukin-1 receptor antagonist gene, local midtrimester cytokine response to vaginal flora, and subsequent preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1324-30.
  47. **Perni S, Vardhana S, Tuttle S et al.** Fetal interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism, intra-amniotic interleukin-1B levels, and history of spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1318-23.
  48. **Gene MR, Witkin SS, Delaney ML et al.** A disproportionate increase in IL-1B over IL-1ra in the cervicovaginal secretions of pregnant women with altered vaginal microflora correlates with preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1191-7.
  49. **Danis VA, Millington M, Hyland VJ et al.** Cytokine production by normal human monocytes: Inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL1-ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol* 1995: 99:303-10.
  50. **Chaves JHB, Babayan A, de Melo Bezerra C et al.** Maternal and Neonatal Interleukin Receptor Antagonist Genotype and Pregnancy Outcome in a Population with a High Rate of Pre-term Birth. *American Journal of Reproductive Immunology* 2008;60:312-17.
  51. **Hao K, Xiaobin W, Niu T et al.** A candidate gene association study on preterm delivery: application of high-throughput genotyping technology and advanced statistical methods. *Human Molecular Genetics* 2004; 13(7):683-91.
  52. **Bessler H, Osovsky M, Sirota L.** Association between IL-1ra gene polymorphism and premature delivery. *Biol Neonate* 2004;85:179-83.
  53. **Kalish R, Vardhana S, Gupta M et al.** Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and multifetal pregnancy outcome. *AJOG* 2003:911-4.
  54. **Jamie W, Edwards R, Ferguson R et al.** The interleukin-6 -174 single nucleotide polymorphism: Cervical protein production and the risk of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:1023-7.
  55. **Velez D, Fortunato S, Williams S et al.** Interleukin-6 (IL-6) and receptor (IL-6R) gene haplotypes associate with amniotic fluid protein concentrations in preterm birth. *Human Molecular Genetics* 2008;17(11):1619-30.
  56. **Stonek F, Metzzenbauer M, Hafner E et al.** Interleukin 6 -174 G/C promoter polymorphism and pregnancy complications: result of a prospective cohort study in 1626 pregnant women. *American Journal of Reproductive Immunology* 2008;59:347-51.
  57. **Simhan H, Krohn M, Roberts J et al.** Interleukin-6 promoter -174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2003:915-8.
  58. **Hartel Ch, Finas D, Ahrens P et al.** Polymorphisms of genes involved in innate immunity: association with preterm delivery. *Molecular Human Reproduction* 2004;10(12):911-5.
  59. **Kilpinen S, Hulkkonen J, Wang XY et al.** The promoter polymorphism of the interleukin -6 gene regulates interleukin -6 production in neonates but not in adults. *Eur Cytokine Netw* 2001;12:62-8.
  60. **Muller-Steinhardt M, Hartel C, Muller B et al.** The interleukin-6-174 promoter polymorphism is associated with long-term kidney allograft survival. *Kidney Int* 2002;62:1824-7.
  61. **Flex A, Gaetani E, Pola R et al.** The -174 G/C polymorphism of the interleukin-6 gene promoter is associated with peripheral artery occlusive disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2002;24:264-8.
  62. **Basso F, Lowe GD, Rumley A et al.** Interleukin-6-174 G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:599-604.
  63. **Pola R, Gaetani E, Flex A et al.** -174 G/C interleukin-6 gene polymorphism and increased risk of multi-infarct dementia: a case-control study. *Exp Gerontol* 2002; 37:949-55.
  64. **Macones G, Parry S, Elkousy M et al.** A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: Preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1504-8.
  65. **Speer E, Gentile D, Zeevi A et al.** Role of single polymorphisms of cytokine genes in spontaneous preterm delivery. *Human immunology* 2006;67:915-23.
  66. **Cox ED, Hoffman SC, DiMercurio BS et al.** Cytokine polymorphic analyses indicate ethnic differences in the allelic distribution of interleukin-2 and interleukin-6. *Transplantation* 2001;72:720-6.
  67. **Reiman M, Kujari H, Ekholm E et al.** Interleukin-6 polymorphism in association with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. *The Journal of Pediatrics* 2008;7:19-24.

68. **Annels MF, Hart PH, Mullighan CG et al.** Interleukins-1, -4, -6, -10, tumor necrosis factor, transforming growth factor-B, FAS, and mannose-binding protein C gene polymorphisms in Australian women: Risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:2056-67.
69. **Fortunato S, Menon R, Velez D et al.** Racial disparity in maternal-fetal genetic epistasis in spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:666.e1-10.
70. **Menon R, Velez D, Thorsen P et al.** Ethnic differences in key candidate genes for spontaneous preterm birth: TNF-A and its receptors. *Hum Hered* 2006;62:107-18.
71. **Menon R, Meriardi M, Betran A et al.** Analysis of association between maternal tumor necrosis factor-A promoter polymorphism (-308), tumor necrosis factor concentration, and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:1240-8.
72. **Wilson AG, Symons JA, McDowell TL et al.** Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3195-9.
73. **McGuire W, Hill AV, Allsopp CE et al.** Variation in the TNF A promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994;371:508-11.
74. **Cabrera M, Shaw MA, Sharples C et al.** Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 1995; 182: 1259-64.
75. **Roberts A, Monzon-Bordonaba F, Van Deerlin P et al.** Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor A gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1999;5:1297-302.
76. **Menon R, Velez D, Morgan N et al.** Genetic regulation of amniotic fluid TNF-alpha and soluble TNF receptor concentration affected by race and preterm birth. *Hum Genet* 2008;124:243-53.
77. **Menon R, Thorsen P, Vogel I et al.** Racial disparity in amniotic fluid concentrations of tumor necrosis factor (TNF)-A and soluble TNF receptors in spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:533.e1-10.
78. **Macones G, ParryS, MarderS et al.** Evidence of a gene-environment interaction in the etiology spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000;184:S3.
79. **Amory J, Adams K, Lin M et al.** Adverse outcomes after preterm labour are associated with tumor necrosis factor-A polymorphism -863, but not -308, in mother-infant pairs. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1362-7.
80. **Aidoo M, McElroy PD, Kolczak MS et al.** Tumor necrosis factor-alpha promoter variant 2 (TNF2) is associated with pre-term delivery, infant mortality, and malaria morbidity in western Kenya: Asembo Bay Cohort Project IX. *Genet Epidemiol* 2001;21(3):201-11.
81. **Menon R, Velez D, Simhan H et al.** Multilocus interactions at maternal tumor necrosis factor-A, tumor necrosis factor receptors, interleukin-6 and interleukin-6 receptor genes predict spontaneous preterm labor in European-American women. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:1616-24.
82. **Moura E, Mattar R, de Souza E et al.** Inflammatory cytokine gene polymorphisms and spontaneous preterm birth. *Journal of Reproductive Immunology* 2009; 80:115-21.
83. **Kalinka J, Bitner A.** Ocena związku polimorfizmu genów kodujących wybrane cytokiny z występowaniem porodu przedwczesnego w populacji kobiet polskich. *Ginekol Pol* 2009;80(2):111-7.
84. **Kalinka J, Bitner A.** Interleukin-1 $\beta$  and interleukin-1 receptor antagonist genes polymorphisms and the risk of spontaneous preterm delivery in the population of Polish women. *Archives of Perinatal Medicine* 2008; 14(4):33-6.
85. **Bitner A, Sobala W, Kalinka J.** Association between maternal and fetal TLR4 (896A>G, 1196C>T) gene polymorphisms and the risk of pre-term birth in the Polish population. *American Journal of Reproductive Immunology* 2013;69:272-80.
86. **Bitner A, Kalinka J.** IL-1 $\beta$ , IL-6 promoter, TNF- $\alpha$  promoter and IL-1RA gene polymorphisms and the risk of preterm delivery due to preterm premature rupture of membranes in a population of Polish women. *Arch Med Sci* 2010;6(4):552-7.