

Γενετική Βάση Πρόωρου Τοκετού

Μαρία Σφακιωτάκη, Σταύρος Σηφάκης

Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Κρήτης Ηράκλειο

Αλληλογραφία: Σταύρος Σηφάκης, Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική ΠΑΓΝΗ
Βούτες, Ηράκλειο, 71201, Τηλ: 2810392609
E-mail: stavros.sifakis@yahoo.com

Περίληψη

Ως πρόωρος τοκετός (ΠΤ) ορίζεται ο τοκετός πριν την συμπλήρωση της 37ης εβδομάδας ενδομήτριας ζωής. Αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα της σύγχρονης Μαιευτικής και μια από τις σημαντικότερες αιτίες περιγεννητικής θνησιμότητας και νοσηρότητας με ποσοστό που αγγίζει το 70 και 75 % αντιστοίχως. Παράλληλα ευθύνεται για πολλές σοβαρές νοσολογικές καταστάσεις και αναπηρίες των επιζώντων πρόωρων νεογνών, που εκδηλώνονται στη βρεφική, νηπιακή και παιδική ηλικία και που αναπόφευκτα σχετίζονται με σημαντική επιβάρυνση στο κόστος της υγειονομικής περίθαλψης. Η επίπτωση του ΠΤ ανέρχεται σε 9-12% του αριθμού των κήσεων παγκοσμίως, παρουσιάζοντας ανοδική τάση τα τελευταία χρόνια. Παρά τις εξελίξεις στον τομέα της σύγχρονης βιοτεχνολογίας και έρευνας τα ακριβή αίτια του εξακολουθούν να παραμένουν αδιευκρίνιστα, καθώς αποτελεί μια πολυπαραγοντική νοσολογική οντότητα που προκύπτει ως αποτέλεσμα διαφορετικών παθοφυσιολογικών διαδικασιών, διαφόρων υποκείμενων παθογενετικών μονοπατιών και αιτιολογικών παραγόντων. Στην προσπάθεια κατανόησης των μηχανισμών που οδηγούν σε ΠΤ, τα τελευταία χρόνια επιχειρούνται περισσότερο συστηματικές και εντατικές προσεγγίσεις. Συνεχώς δε πληθαίνουν τα επιχειρήματα που ενισχύουν την άποψη ότι ο ΠΤ έχει – τουλάχιστον εν μέρει - γενετική προδιάθεση και υπόστρωμα. Η τάση «επαναληψιμότητας» του ΠΤ σε γυναίκες καθώς και η αυξημένη του συχνότητα σε οικογένειες και φυλές υποδεικνύει τη συσχέτιση του με γενετικούς παράγοντες, ενώ επιδημιολογικά στοιχεία επιβεβαιώνουν την συμβολή περιβαλλοντικών παραγόντων στην παθογένειά του – είτε αυτούσια είτε ως αλληλεπίδραση γονιδίων και περιβάλλοντος. Ανοσοτροποποιητικά μόρια και οι υποδοχείς τους καθώς και πολυμορφισμοί διαφόρων γονιδίων ή/και απλών νουκλεοτιδίων (single nucleotide polymorphisms, SNPs) είναι πιθανόν να οδηγούν προς αυτή την κατεύθυνση. Προηγμένες μέθοδοι Μοριακής Βιολογίας έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση και μελέτη των γονιδίων που πιθανά ενέχονται στην πρόωρη έναρξη τοκετού, ενώ η πρόοδος στη μελέτη του ανθρώπινου γονιδιώματος (γενομική) και των πρωτεϊνικών παραγώγων του (πρωτεομική) επιτρέπει σήμερα την ταυτοποίηση γονιδίων και πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία του ΠΤ. Έτσι πιθανά στο άμεσο μέλλον να είναι εφικτή η ανάπτυξη ακριβέστερων διαγνωστικών προσεγγίσεων και στοχευμένων θεραπευτικών επιλογών έναντι αυτής της σοβαρής επιπλοκής στη Μαιευτική. Μια σύντομη ανασκόπηση της υπάρχουσας γνώσης σχετικά με τους γενετικούς παράγοντες που συμμετέχουν είτε ως προδιαθεσικοί είτε ως αιτιοπαθογενετικοί στην εμφάνιση του ΠΤ επιχειρείται στην παρούσα ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.

Λέξεις κλειδιά: κυτταροκίνες, γενετική προδιάθεση, γονίδια, κήση, περιβαλλοντικοί παράγοντες, πολυμορφισμοί γονιδίων, πρόωρη ρήξη υμένων, πρόωρος τοκετός, προωρότητα, SNPs.

Εισαγωγή

Ο πρόωρος τοκετός (ΠΤ) αποτελεί ένα σημαντικό παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, που παρά τις σημαντικές προόδους της Ιατρικής Επιστήμης στον τομέα της Μαιευτικής, η επίπτωσή του όχι μόνο δεν έχει μειωθεί αλλά αντιθέτως παρουσιάζει ανοδική τάση τα τελευταία χρόνια^{1,2}. Ως ΠΤ - σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας - ορίζεται κάθε τοκετός που συμβαίνει πριν την συμπλήρωση της 37ης εβδομάδας ενδομήτριας ζωής³ και ο οποίος υποδιαιρείται σε δύο υποομάδες: τον «αυτόματης έναρξης» ΠΤ και τον «ιατρογενή» ΠΤ - ως αποτέλεσμα συνήθως της ενδομήτριας υπολειπόμενης ανάπτυξης, της προεκλαμψίας, της εμβρυικής δυσπραγίας, του ολογαμνίου και άλλων παθολογικών καταστάσεων της μητέρας ή του εμβρύου. Ο χαρακτηρισμός «επαπειλούμενος» ΠΤ δίδεται στην κατάσταση εκείνη όπου υπάρχουν συστολές της μήτρας με ένταση και συχνότητα τέσσερις (ή περισσότερες) στο εικοσάλεπτο ή έξι (ή περισσότερες) στην ώρα και οδηγούν προοδευτικά σε διαστολή (μεγαλύτερη από 2 εκ.) ή/και εξάλειψη του τραχήλου (μεγαλύτερη από 80% ή μήκος τραχήλου κάτω από ένα εκ.) μεταξύ της 23ης-37ης εβδομάδας της κύησης. Περαιτέρω, ο ΠΤ μπορεί να διακριθεί με βάση την ηλικία κύησης σε εξαιρετικά πρόωρο (πριν την 28η εβδομάδα), πολύ πρόωρο (μεταξύ 28ης και 31+6 εβδομάδας) και μέτρια πρόωρο (μεταξύ 32ης και 36+6 εβδομάδας) τοκετό³. Αν και δεν υπάρχει ομοφωνία σχετικά με το κατώτερο χρονικό όριο το οποίο χαρακτηρίζει την προωρότητα - καθώς αποτελεί μια θεώρηση που βασίζεται περισσότερο σε θεωρητικά στοιχεία και στους νομικούς ορισμούς κάθε χώρας και όχι σε πραγματικά στοιχεία που αφορούν στη δυνατότητα ενός εμβρύου να επιβιώσει σε συγκεκριμένη εβδομάδα κύησης⁴ - η πιθανότητα επιβίωσης πρόωρου νεογνού φθάνει στο 50% μόνο μετά την 24η εβδομάδα ή όταν το βάρος γέννησης είναι τουλάχιστον 600gr⁵⁻⁸.

Ο ΠΤ αποτελεί την κυριότερη αιτία περιγεννητικής θνησιμότητας και νοσηρότητας, με ποσοστό 70 και 75 % αντιστοίχως, ενώ παράλληλα ευθύνεται για πολλές σοβαρές νοσολογικές καταστάσεις και αναπηρίες, με κίνδυνο που αυξάνει όσο μικρότερη είναι η ηλικία-εβδομάδα κύησης που αυτός λαμβάνει χώρα. Σημαντικές επιπλοκές που έχουν άμεση σχέση

με τη προωρότητα και οφείλονται κυρίως στην ανωριμότητα (λειτουργική και ανατομική) των διαφόρων οργάνων-συστημάτων του οργανισμού αποτελούν: η βρογχοπνευμονική δυσπλασία, το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας νεογνού (ΣΑΔΝ), η άπνοια, η νεκρωτική εντεροκολίτιδα, ο ανοικτός βοττάλειος πόρος, η υπερχολερυθριναιμία, η νεφροπάθεια, η εγκεφαλική (ενδοκοιλιακή) αιμορραγία, η αμφιβληστροειδοπάθεια και η σηψαιμία. Συνολικά περίπου το 12% έως το 25% των επιζώντων εξαιρετικά πρόωρων νεογνών έχουν τουλάχιστον μία σημαντική αναπηρία με προβλήματα όρασης, διανοητικής ανάπτυξης, εγκεφαλική παράλυση, τύφλωση ή κώφωση⁸. Τα προβλήματα όρασης και διανοητικής ανάπτυξης αποτελούν τις πλέον κοινές αναπηρίες αυτών των νεογνών, με ποσοστό που κυμαίνεται από 17% έως 21%, ακολουθούμενη από την εγκεφαλική παράλυση με ποσοστό 12-15%⁸. Η κώφωση και τύφλωση είναι λιγότερο κοινή αναπηρία, με συχνότητα 5-8% και 3-5% αντίστοιχα, ενώ περίπου το ήμισυ των επιζώντων εξαιρετικά πρόωρων νεογνών με ειδικές ανάγκες έχουν περισσότερες από μία σημαντικές αναπηρίες⁸. Υπολογίζεται ότι το 7.5% από τα νεογνά με βάρος γέννησης μικρότερο των 1500gr, θα εμφανίσουν κάποια μείζονα διαταραχή που θα εμποδίσει την κοινωνική ή επαγγελματική τους ένταξη και προσαρμογή⁵, ενώ στο 70% των παιδιών με βάρος γέννησης κάτω από 800gr, έχει μακροπρόθεσμα παρατηρηθεί ανάπτυξη νευρολογικών ελλειμμάτων και αναπτυξιακών διαταραχών - επιπλοκές που αναπόφευκτα σχετίζονται με σημαντική επιβάρυνση στο κόστος της υγειονομικής περίθαλψης^{8,9}.

Η αύξηση της συχνότητας του ΠΤ που παρατηρείται τα τελευταία χρόνια (αναφέρεται αύξηση περίπου 30% κατά τη διάρκεια των 25 τελευταίων χρόνων) οφείλεται κυρίως σε αύξηση των γεννήσεων πρόωρων νεογνών μεταξύ της 34ης και 36+6 εβδομάδα κύησης, καθώς η συχνότητα του ΠΤ πριν την 34η εβδομάδα κύησης παραμένει γενικά σταθερή³. Η συχνότητα του ΠΤ ανέρχεται σε 9-12% του αριθμού των κύσεων παγκοσμίως¹⁰. Αν και η αναγνώριση των κύσεων «υψηλού κινδύνου» για ΠΤ θα μπορούσε λογικά να συμβάλλει στη μείωση της συχνότητας του, ωστόσο στο ήμισυ των γυναικών που γεννούν πρόωρα δεν συνυπάρχει κανένας γνωστός παράγον-

τας κινδύνου. Η χρήση παραδοσιακών ή νεότερων μεθόδων πρόβλεψης των κινήσεων που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για ΠΤ όπως το μαιευτικό ιστορικό, η τακτική τοκογραφική δραστηριότητα του μυομητρίου, ο προσδιορισμός βιοχημικών δεικτών και η χρήση υπερηχογραφικών δεικτών δεν έχουν καταφέρει έως σήμερα να μειώσουν τη συχνότητα του ΠΤ. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι ο ΠΤ αποτελεί πιθανά ένα «σύνδρομο» ή περισσότερο σίγουρα μια πολυπαραγοντική νοσολογική οντότητα που προκύπτει ως αποτέλεσμα διαφορετικών παθοφυσιολογικών διαδικασιών και διαφόρων υποκειμένων παθογενετικών μονοπατιών και αιτιολογικών παραγόντων.

Αν και τα ακριβή αίτια που οδηγούν σε ΠΤ εξακολουθούν να παραμένουν αδιευκρίνιστα, η ενδομήτρια φλεγμονή, η μητροπλακουντιακή ανεπάρκεια, η θρομβωτική αγγειοπάθεια, η υπερβολική διάταση του μυομητρίου και του τραχήλου της μήτρας καθώς και το ψυχολογικό ή σωματικό stress της μητέρας ή του εμβρύου (που μπορεί να οδηγήσει σε πρόωρη ενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια της μητέρας/εμβρύου διεγείροντας την παραγωγή της κορτικοτροπίνης-CRH και τελικά την παραγωγή προσταγλανδινών που προκαλούν πρόωρες συσπάσεις του μυομητρίου) αποτελούν τους περισσότερο πιθανούς γνωστούς παθογενετικούς μηχανισμούς¹¹⁻¹⁴. Παράγοντες κινδύνου για ΠΤ θεωρούνται επίσης η ηλικία της μητέρας, το ιστορικό ΠΤ, η αποβολή 2ου τριμήνου, οι ανωμαλίες μήτρας και τραχήλου, η εξωσωματική (in vitro) γονιμοποίηση, η πολύδυμος κύηση, ποικίλες παθολογικές καταστάσεις της μητέρας (σακχαρώδης διαβήτης κύησης, προεκλαμψία κ.α), η φυλετική καταγωγή, η χαμηλή κοινωνικο-οικονομική κατάσταση, η κοινωνική απομόνωση, το κάπνισμα και η κατάχρηση ουσιών, ο χαμηλός ΔΜΣ πριν την σύλληψη, και ο ανεπαρκής προγεννητικός έλεγχος (Πίνακας 1). Ωστόσο - και ανεξάρτητα από το αρχικό ερέθισμα - πιστεύεται ότι η φλεγμονή (είτε ως συστηματική λοίμωξη της μητέρας, είτε ως τοπική φλεγμονή της μήτρας με πλήρη κλινική συμπτωματολογία, ή ακόμη και ως ασυμπτωματική φλεγμονή ανατομικών στοιχείων της κύησης) αποτελεί την κοινή σηματοδοτική οδό που μέσω της ενεργοποίησης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών και άλλων μεσολαβητών της φλεγμονής προάγει τη

βιοσύνθεση προσταγλανδίνης η οποία με τη σειρά της διεγείρει το μυομήτριο σε συστολές, με τελικό αποτέλεσμα την κατάληξη σε (πρόωρο ή τελειόμηνο) τοκετό¹⁵. Μια άλλη πιθανή οδός (η οποία δεν είναι αναγκαστικά κοινή με την προαναφερθείσα) είναι η παραγωγή κυτοκινών και αντισωμάτων ως αποτέλεσμα «αλλεργικής» αντίδρασης^{16,17}.

Στην προσπάθεια κατανόησης των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που οδηγούν σε ΠΤ τα τελευταία χρόνια επιχειρούνται περισσότερο συστηματικές και εντατικές προσεγγίσεις οι οποίες στηρίζονται στα αποτελέσματα της έρευνας στο χώρο της Βιοτεχνολογίας, της Μοριακής Βιολογίας και της Γενετικής, καθώς συνεχώς πληθαίνουν τα επιχειρήματα που ενισχύουν την άποψη ότι ο ΠΤ έχει - τουλάχιστον εν μέρει - γενετική προδιάθεση και υπόστρωμα. Έτσι, ολοένα και περισσότερο γίνεται πλέον αποδεκτό ότι ο ΠΤ είναι το αποτέλεσμα όχι απλά μιας γονιδιακής «διαταραχής» αλλά μάλλον το αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης μεταξύ γονιδίων ή μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος. Βασίζόμενοι σε αυτή την θεώρηση ο ΠΤ θα μπορούσε να οφείλεται σε μεταλλάξεις και πολυμορφισμούς γονιδίων των οποίων η δράση εκδηλώνεται όταν έχει ήδη εκδηλωθεί κάποιος άλλος βλαπτικός παράγοντας όπως είναι η τοπική φλεγμονή ή η γενικευμένη λοίμωξη¹⁸. Πρόσφατες έρευνες έχουν επικεντρώσει το ενδιαφέρον τους στη μελέτη της μητρο-εμβryo-πλακουντιακής μονάδας ως ενιαίας οντότητας από τα πρώιμα ακόμη στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου και γίνεται προσπάθεια αναγνώρισης της υπερ- ή υπο- έκφρασης πιθανά εμπλεκόμενων γονιδίων σε σειρά μητρικών και εμβρυϊκών βιολογικών υλικών¹⁸. Προηγμένες μέθοδοι Μοριακής Βιολογίας (έρευνα της λειτουργικής μεταβλητότητας του υποψήφιου γονιδίου, τεχνική Northern blots analysis, περιοχική κλωνοποίηση, τεχνική του περιοριστικού υβριδισμού του DNA, αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης κτλ) έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση και μελέτη των γονιδίων που πιθανά ενέχονται στην πρόωρη έναρξη του τοκετού. Μια σύντομη ανασκόπηση της υπάρχουσας γνώσης σχετικά με τους γενετικούς παράγοντες που συμμετέχουν είτε ως προδιαθεσικοί είτε ως αιτιοπαθογενετικοί στον ΠΤ επιχειρείται στη συνέχεια.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΟΥ ΑΠΟΔΕΙΚΝΥΟΥΝ ΤΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΓΙΑ ΠΡΩΩΡΟ ΤΟΚΕΤΟ

Ατομικό και οικογενειακό ιστορικό της εγκύου

Γυναίκες με ιστορικό ΠΤ διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για επανεμφάνιση ΠΤ σε επόμενη εγκυμοσύνη τους ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης γενετικών, επιγενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου¹⁹. Πολλοί μητρικοί παράγοντες έχουν συσχετιστεί με τον αυξημένο κίνδυνο για ΠΤ ανάμεσα στους οποίους η ηλικία της μητέρας (μικρή ή προχωρημένη), το σύντομο χρονικό διάστημα μεταξύ των κήσεων καθώς και ο ΔΜΣ της μητέρας^{20,21}. Η πιθανότητα επανεμφάνισης ΠΤ είναι περίπου 15-18% εάν έχει προηγηθεί ένας ΠΤ και φθάνει στο 35-40% εάν έχουν προηγηθεί δύο ή περισσότεροι ΠΤ²². Έχει δε παρατηρηθεί η τάση να λαμβάνει χώρα ο ΠΤ στις ίδιες περίπου εβδομάδες κύησης^{11,12}. Η τάση

αυτή «επαναληψιμότητας» του ΠΤ υποδεικνύει ότι μερικές γυναίκες μπορούν να φέρουν κάποια σχετική γενετική προδιάθεση – θεώρηση που απαιτεί όμως εντατική και περαιτέρω μελέτη. Αυξημένη συχνότητα ΠΤ παρατηρείται επίσης σε γυναίκες οι οποίες είχαν και οι ίδιες γεννηθεί πρόωρα και μάλιστα ο σχετικός κίνδυνος ΠΤ αυξάνει όσο μικρότερη είναι η εβδομάδα κύησης κατά την οποία έλαβε χώρα ο τοκετός τους. Ο γενετικά μεταβιβαζόμενος χαρακτήρας του ΠΤ ενισχύεται περαιτέρω από τα πορίσματα των Winkvist και συν. που παρατήρησαν ότι ο κίνδυνος ΠΤ είναι αυξημένος σε γυναίκες των οποίων οι αδελφές είχαν ιστορικό ΠΤ²³. Μελέτες σε διδύμους αποδεικνύουν γενετική προδιάθεση ΠΤ της τάξεως του 17-36%^{24,25}. Επίσης, η άποψη ότι υπάρχουν ένα ή περισσότερα κοινά αλληλόμορφα γονίδια που μπορούν να δράσουν ως «μείζονα γονίδια» σε οικογένειες με ιστορικό ΠΤ και προδιαθέ-

Πίνακας 1: Προδιαθεσικοί παράγοντες πρόωρου τοκετού με βάση την κατά καιρούς βιβλιογραφία (με αλφαβητική σειρά)

Προδιαθεσικοί παράγοντες ΠΤ

- Ανατομικές ανωμαλίες μήτρας (μονόκερη 20%, δίκερη 20-66%, διάφραγμα 3-12%)
- Ανεπάρκεια τραχηλικού στομίου (ιδιοπαθής, επέμβαση στον τράχηλο)
- Αυξημένο μέγεθος μήτρας (υδράμνιο)
- διατροφή
- Δίδυμος κύηση: >50%
- Δυσπραγία εμβρύου
- Επιπλοκές στην κύηση (π.χ. αποκόλληση πλακούντα, αιμορραγία α' τριμήνου, ολιγάμνιο, ΣΔ κύησης, υπέρταση κύησης)
- Ινομύματα (υποβλεννογόνια, υποπλακουντιακά)
- Κάπνισμα
- Λοίμωξη της μητέρας (ασυμπτωματική βακτηριουρία, πυελονεφρίτιδα, λοιμώξεις γεννητικού σωλήνα, άλλες συστηματικές λοιμώξεις)
- Ηλικία (εφηβεία, προχωρημένη ηλικία)
- Ιστορικό ΠΤ: 20-40%
- Πρόωρη ρήξη εμβρυϊκών υμένων
- Σεξουαλικές επαφές
- Stress μητέρας (δράση κατεχολαμινών)
- Σωματικό βάρος: μικρή πρόσληψη βάρους, μειωμένο βάρος πριν την κύηση (BMI<19)
- Τραύμα & χειρουργείο της μητέρας (π.χ. σκοληκοειδίτιδα)
- Φυλή (μαύρη φυλή)
- Χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο
- Χρονικό διάστημα μεταξύ τοκετών

των σε αυτόν υποστηρίζεται από τα πορίσματα των Ward και συν.²⁶ Το γεγονός ότι η αλλαγή συντρόφου βρέθηκε ότι μειώνει μόνο κατά 1/3 την πιθανότητα ΠΤ σε γυναίκες με σχετικό ιστορικό, αποδεικνύει ότι ο μητρικός και όχι ο πατρικός γονότυπος ενοχοποιείται περισσότερο για την επιπλοκή αυτή²⁷, ενώ ο Li και συν. διαπίστωσαν ότι η αλλαγή της πατρότητας από έναν τοκετό στον επόμενο σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ΠΤ - γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανά υπάρχει και πατρική συνιστώσα²⁸. Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά δεν έχουν επιβεβαιωθεί σε άλλους πληθυσμούς. Επιπλέον και ο εμβρυϊκός γονότυπος έχει δειχθεί επίσης ότι έχει σημαντικό ρόλο στην επαναληψιμότητα του ΠΤ καθώς σε αρκετές μελέτες έχει διαπιστωθεί η παρουσία πολυμορφισμών σε διάφορα γονίδια κυτοκινών και πρωτεασών εμβρύων από κυήσεις επιπλεγμένες από ΠΤ ή πρόωρη ρήξη υμένων²⁹⁻³⁶. Το γεγονός δε ότι αρκετές γονιδιακές διαταραχές (μυοτονική δυστροφία, σύνδρομο Ehlers-Danlos, σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz, νευρινωμάτωση) έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ΠΤ - συχνά ως αποτέλεσμα της προδιάθεσης για αυξημένη παραγωγή αμνιακού υγρού (υδράμνιο) στις επιπλεγμένες κυήσεις - αποτελεί ακόμα μια παράμετρο της γενετικής του προδιάθεσης³⁷.

Φυλετικές διαφορές

Η διαφορά στη συχνότητα του ΠΤ μεταξύ εθνοτήτων στηρίζει επίσης την υπόθεση της γενετικής του προδιάθεσης. Οι Goldenberg και συν. έδειξαν αυξημένο κίνδυνο για ΠΤ σε γυναίκες μαύρης φυλής σε σύγκριση με αυτές της λευκής φυλής - διαφορά που εξακολουθεί να υφίσταται ακόμη και αν ληφθούν υπόψη παράγοντες όπως οι κοινωνικοοικονομικές διαφορές, το επίπεδο εκπαίδευσης κτλ.¹³. Οι Zhang και Savitz βρήκαν ότι οι γυναίκες της μαύρης φυλής είχαν δυο έως τρεις φορές αυξημένο κίνδυνο πρόωρης ρήξης υμένων και αυτόματης έναρξης ΠΤ σε σύγκριση με εκείνες της λευκής φυλής³⁸. Η προδιάθεση των μαύρων γυναικών να βιώσουν ΠΤ φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερη σε μικρότερη ηλικία κύησης και υψηλότερη μεταξύ των μαύρων γυναικών με ιστορικό ΠΤ³⁹. Η υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης ΠΤ στις γυναίκες της μαύρης φυλής μπορεί να εξηγηθεί από τις διαφορετικές συχνότητες αλληλομόρφων γονι-

δίων που εκφράζονται σε αυτές⁴⁰⁻⁴⁵. Σε μία μελέτη οι μαύρες γυναίκες φαίνεται ότι είχαν σε σύγκριση με τις λευκές γυναίκες 2 έως 4 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να φέρουν πολυμορφισμούς σε γονίδια κυτοκινών όπως στο γονίδιο που κωδικοποιεί την IL-1 και -6⁴⁶. Συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού του γονιδίου της IL-1 και της πρόωρης ρήξης υμένων καθώς και συσχέτιση μεταξύ του 308a TNF-a αλληλόμορφου γονιδίου και του ΠΤ έχει επίσης περιγραφεί σε γυναίκες της μαύρης φυλής στη Φιλαδέλφεια^{47,48}. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση των Dizon-Townson και συν. που δεν ανέφεραν διαφορά στην συχνότητα του πολυμορφισμού του 308a TNF-a αλληλόμορφου γονιδίου μεταξύ γυναικών λευκού πληθυσμού που είχαν πρόωρο ή τελειόμηνο τοκετό⁴⁹. Επιπλέον, η υψηλότερη συγκέντρωση της IL-6 στο αμνιακό υγρό πρόωρων νεογνών λευκής φυλής συσχετίστηκε με πολυμορφισμούς τύπου απλού νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism, SNP) της IL-6 στο -661 νουκλεοτίδιο, ως αποτέλεσμα μικροβιακή λοίμωξης της αμνιακής κοιλότητας - γεγονός που υποδηλώνει αλληλεπίδραση γονιδίων και περιβάλλοντος. Τέτοια συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε σε πρόωρα νεογνά της μαύρης φυλής. Η ανίχνευση των SNPs τεκμηριώνει σημαντικές διαφορές στη συχνότητα αλληλομόρφων γονιδίων μεταξύ μαύρων και λευκών πρόωρων νεογνών^{45,50} και ως εκ τούτου η διαφορά στο ποσοστό των πρόωρων γεννήσεων μεταξύ μαύρων και λευκών γυναικών μπορεί να αποδοθεί σε διαφορές αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παραλλαγών αυτών των γονιδίων και των υπεύθυνων για τον ΠΤ παθοφυσιολογικών μηχανισμών.

Φύλο και ΠΤ

Είναι γνωστός ο αυξημένος κίνδυνος νοσηρότητας και θνητότητας για τα άρρενα έμβρυα, νεογνά και βρέφη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, της νεογνικής και βρεφικής ηλικίας, αντίστοιχα^{51,52}. Τα άρρενα έμβρυα/νεογνά/βρέφη έχουν επίσης υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας και είναι πιο ευάλωτα σε μακροπρόθεσμες νευρολογικές και κινητικές αναπηρίες μετά από ΠΤ⁵³⁻⁵⁶. Κατά την τελευταία δεκαετία πολλές μελέτες αναφέρουν μεγαλύτερη αναλογία αγοριών που γεννιούνται πρόωρα⁵⁷⁻⁵⁹. Το υψηλότερο ποσοστό προωρότητας των αρρένων νεογνών πιθανά

συμβάλει στην ερμηνεία και της υψηλότερης νοσηρότητας και θνησιμότητάς τους στη βρεφική ηλικία καθώς ίσως και στην κατανόηση μηχανισμών που σχετίζονται με την προωρότητα. Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για να εξηγήσουν τη συγκεκριμένη παρατήρηση: (i) ο αυξημένος μέσος όρος σωματικού βάρους των αρρένων εμβρύων που αυξάνει την πιθανότητα ΠΤ (57,60) ii) η μεγαλύτερη επιρροή σε ορισμένες ιατρικές επιπλοκές που συνδέονται με τον ΠΤ όπως υπέρταση της κύησης ή λοίμωξη^{61,62} και (iii) οι σχετιζόμενες με το φύλο βιοχημικές διεργασίες (που μπορεί να διαφέρουν μεταξύ αρρένων και θηλέων εμβρύων) και που όσον αφορά τον τοκετό σχετίζονται με την παραγωγή οιστρογόνων τα οποία παράγονται από πρόδρομες μορφές ανδρογόνων ή από την IL-1⁵⁸. Γενικότερα πάντως η επιδημιολογική αυτή παρατήρηση δεν έχει επαρκώς αιτιολογικά εξηγηθεί δίνοντας έτσι έδαφος για επιπλέον υποθέσεις και ερμηνείες^{63,64}.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Παρόλο που ορισμένες μεταλλάξεις γονιδίων αυξάνουν τον κίνδυνο για ΠΤ, πολλές γυναίκες που φέρουν αυτές τις μεταλλάξεις δεν οδηγούνται σε ΠΤ. Το γεγονός αυτό οδήγησε τους ερευνητές να διατυπώσουν τη θεώρηση ότι ο ΠΤ είναι το αποτέλεσμα όχι μόνο μιας γονιδιακής μετάλλαξης αλλά μάλλον το αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης μεταξύ γονιδίων ή/και μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος. Πρόσφατα, οι Macones και συν. περιέγραψαν αλληλεπιδράσεις γονιδίων-περιβάλλοντος μεταξύ του πολυμορφισμού του 308α TNF-α αλληλομόρφου γονιδίου και της βακτηριακής κολπίτιδας⁶⁵. Έτσι, γυναίκες που έφεραν τον παραπάνω πολυμορφισμό και είχαν παράλληλα βακτηριακή κολπίτιδα βρίσκονταν σε αυξημένο κίνδυνο για ΠΤ σε σύγκριση με γυναίκες που είχαν μόνο τον ένα από τους δύο αυτούς παράγοντες. Είναι πάντως αυτονόητο ότι μια τέτοια συσχέτιση θα πρέπει να επιβεβαιωθεί από περισσότερες μελέτες.

Το κάπνισμα επίσης αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα κινδύνου εμβρυϊκής δυσπραγίας ενώ παράλληλα φαίνεται να συμβάλλει σε αυξημένη πιθανότητα για ΠΤ. Αρκετοί από τους γονιδιακούς πολυμορφισμούς που προδιαθέτουν τους καπνιστές στην εμ-

φάνιση καρκίνου πνεύμονα (CYP1A1 MspI και GSTT1) έχει δειχθεί ότι σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο περιορισμού της εμβρυϊκής ανάπτυξης σε έγκυες γυναίκες που καπνίζουν⁶⁶. Σε πρόσφατη μελέτη έχει βρεθεί ότι οι γυναίκες που φέρουν ομόζυγο πολυμορφισμό στο γονίδιο T1 της γλουταθειόνης S τρανσφεράσης (glutathione S-transferase T1 gene, GSTT1), ένζυμο υπεύθυνο για το μεταβολισμό του καπνού, βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΤ όταν εκτεθούν σε καπνό κατά τη διάρκεια της κύησης⁶⁷. Ως γνωστό το φολικό οξύ είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη Β (βιταμίνη Β9) που εμπλέκεται σε διάφορες φυσιολογικές διεργασίες του μεταβολισμού και συμβάλει στην ομαλή εμβρυϊκή αύξηση και ανάπτυξη καθώς αποτελεί βασικό υπόστρωμα για μια σειρά από ενζυματικές αντιδράσεις που απαιτούνται στη σύνθεση αμινοξέων και στο μεταβολισμό των βιταμινών ενώ παράλληλα συμβάλει στην σύνθεση πρωτεϊνών υπεύθυνων για την αντιγραφή του DNA⁶⁸. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η λήψη φολικού οξέως ή συμπληρωμάτων του στην περίοδο πριν ή περί τη σύλληψη αλλά και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να προστατεύσουν από την εκδήλωση ΠΤ, καθώς έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν την ανοσολογική λειτουργία και μειώνουν τους δείκτες φλεγμονής⁶⁹. Επιπλέον, αρκετές γενετικές παραλλαγές σε γονίδια που εμπλέκονται στον μεταβολισμό του φολικού οξέος (DHFR και SHMT1) φαίνεται να αυξάνουν τον κίνδυνο για ΠΤ ακόμη και σε γυναίκες με επαρκή πρόσληψη φολικού οξέος που φέρουν μια τέτοια γενετική παραλλαγή⁷⁰. Έχει παρατηρηθεί ότι η συντομότερη διάρκεια εγκυμοσύνης έχει συσχετιστεί με χαμηλά επίπεδα φολικού οξέος στον ορό ή/και με την απουσία της χρήσης συμπληρωμάτων φολικού οξέος κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης⁷¹⁻⁷³. Μεταγενέστερες μελέτες δείχνουν ότι συμπληρώματα φολικού οξέος μπορεί να προστατεύσουν από ΠΤ και ότι ο κίνδυνος για ΠΤ είναι αντιστρόφως ανάλογος με τη διάρκεια της λήψης φολικού οξέος και τέλος είναι χαμηλότερος στις γυναίκες που ανέφεραν τη χρήση συμπληρωμάτων φολικού οξέος για περισσότερο από ένα έτος πριν από τη σύλληψη⁷⁴⁻⁷⁶.

Πολυμορφισμοί Γονιδίων

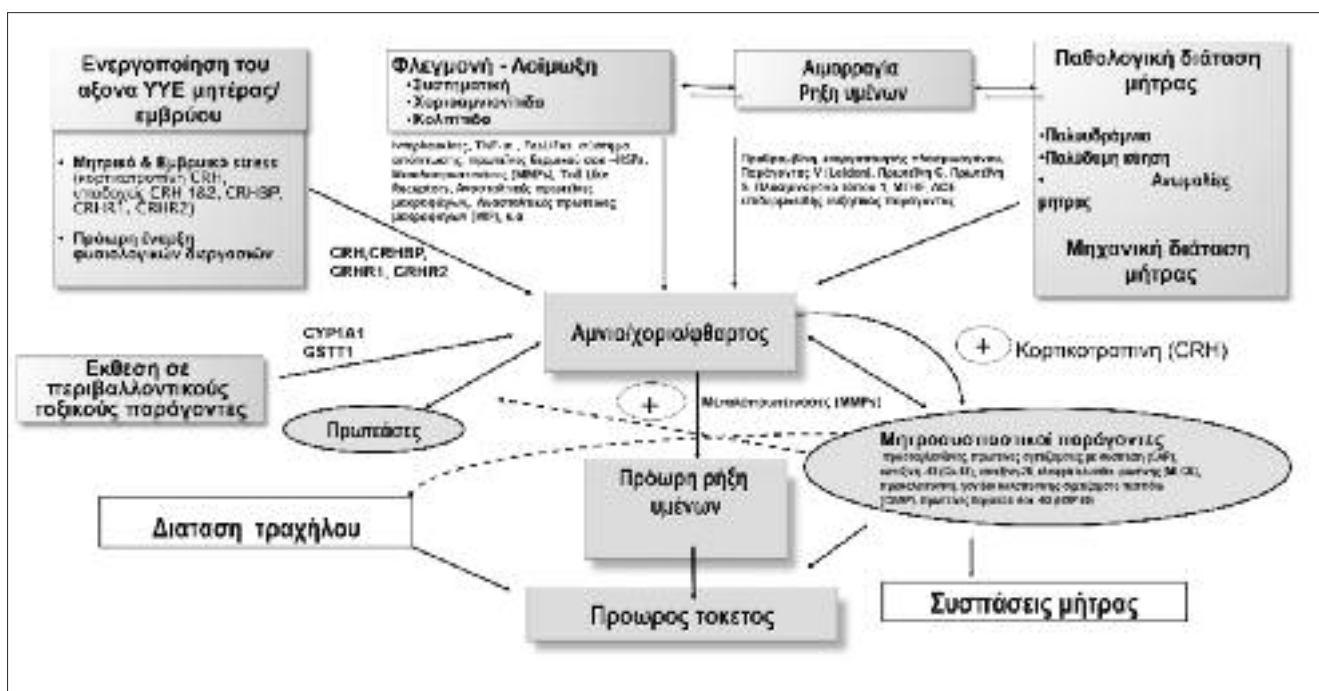
Πολλά γονίδια που εκφράζονται στο μυομήτριο⁷⁷ και

στις εμβρυϊκές μεμβράνες⁷⁸ υπερεκφράζονται στον ΠΤ και σε φλεγμονώδεις καταστάσεις στη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων αυτών μπορεί να αντιπροσωπεύουν τις ατομικές διαφορές του κινδύνου για ΠΤ⁷⁹. Ένας προτεινόμενος μηχανισμός της γενετικής διαφοροποίησης μπορεί να σχετίζεται με τους πολυμορφισμούς απλών νουκλεοτιδίων (SNPs) σε ορισμένα από αυτά τα γονίδια και μπορεί να οδηγήσει σε διαφορική έκφραση των προϊόντων τους. Η ταυτοποίηση αυτών των γονιδίων και του πολυμορφισμού τους που προδιαθέτουν σε ΠΤ μπορεί να αποτελέσει μια σημαντική εξέλιξη στην έγκαιρη διάγνωση ή ακόμη και στην αποτροπή του⁸⁰. Είναι επίσης σαφές ότι, στη διαδικασία συμμετοχής τους στην εκδήλωση ΠΤ μπορούν να συμμετέχουν περισσότερα του ενός γονιδιακά προϊόντα ή ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να διαφοροποιήσουν την έκφραση τους.

TLRs υποδοχείς

Μικροοργανισμοί που προκαλούν κολπική φλεγμονή ή χοριοαμνιονιτιδα αλληλεπιδρούν με τους Toll-like υποδοχείς (TLRs). Αυτή η αλληλεπίδραση ενε-

ργοποιεί την παραγωγή ενός ή περισσότερων κυτοκινών και αντιμικροβιακών πεπτιδίων, οδηγώντας σε ΠΤ ή/και σε πρόωρη ρήξη υμένων⁸¹. Παρόλο που είναι σημαντική η ενεργοποίηση παραγόντων φλεγμονής στην παθογένεια του ΠΤ, μια τροποποιημένη φλεγμονώδης απάντηση καθοριζόμενη από πολυμορφισμό γονιδίων του ανοσοποιητικού συστήματος, μπορεί να επηρεάσει την συχνότητα και τις επιπτώσεις του. Πολυμορφισμοί γονιδίων του ανοσοποιητικού συστήματος εξετάστηκαν σε αρκετές μελέτες συγκρίνοντας τον επιπολασμό συγκεκριμένων SNPs μεταξύ νεογνών με ΠΤ, τελειόμηνων καθώς και των μητέρων τους. Έχει διαπιστωθεί ότι σε γυναίκες με λοιμώξεις ουρογεννητικού από Gram-αρνητικά βακτήρια ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS) του κυτταρικού τους τοιχώματος μπορεί να οδηγήσει σε ΠΤ τις γυναίκες εκείνες που είναι γενετικά ευαίσθητοποιημένες σε ανοσιακή υπερανταπόκριση - με την ανεύρεση υψηλών τιμών των κυταροκινών στους ιστούς της κύησης της μητέρας ή του εμβρύου ή ακόμη και στις δύο πλευρές της εμβρυομητρικής μονάδας⁸². Ο LPS αναγνωρίζεται από δύο συνιστώσες της έμφυτης ανοσίας: τα γονίδια CARD15 και TLR4. Μετάλλαξη



Εικόνα 1. Σχηματική παράσταση της πολυπλοκότητας στην ενεργοποίηση του μηχανισμού του πρόωρου τοκετού

του 2936insC στο γονίδιο CARD15 και πολυμορφισμός του 896 AinsG στο γονίδιο TLR4 ευοδώνει την ανοσιακή υπερανταπόκριση. Δεδομένου ότι οι Αφροαμερικανές έχουν υψηλότερη συχνότητα πρόωρης ρήξης υμένων, οι Srinivas & Macones μελέτησαν μεταλλάξεις του γονιδίου CARD15 και πολυμορφισμούς του TLR4 σε αυτές σε σύγκριση με γυναίκες Καυκάσιας φυλής και δε βρήκαν διαφορά στη συχνότητα μετάλλαξης 2936insC του γονιδίου CARD15 και του πολυμορφισμού του 896 AinsG στο γονίδιο TLR4 μεταξύ των μητέρων και των εμβρύων τους⁸³. Ωστόσο, μετάλλαξη του CARD15 εντοπίστηκε μόνο στον πληθυσμό ελέγχου και όχι σε περιπτώσεις με πρόωρη ρήξη υμένων. Επίσης, στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε ούτε στη συχνότητα πολυμορφισμού της ρυθμιστικής περιοχής του γονιδίου TLR4-896 G⁸⁴, ούτε και μεταξύ του TLR2 και άλλων υποδοχέων που ενέχονται στην ανοσολογική απόκριση μεταξύ τελειόμηνων και πρόωρων νεογνών και στις μητέρες τους^{84,85}. Αντιθέτως, η συχνότητα του αλληλομόρφου 299Gly (Asp/Gly ή Gly/Gly) του γονιδίου TLR4 βρέθηκε υψηλότερη μεταξύ νεογνών μονήρους κύησης ΠΤ σε σύγκριση με τελειόμηνα ή πρόωρα νεογνά πολύδυμης εγκυμοσύνης³⁶.

Παράγοντες φλεγμονής και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες

Όπως έδειξαν *in vitro* και *in vivo* μελέτες τα στοιχεία της κύησης στον άνθρωπο αποτελούν ιστούς που είναι πλούσιοι σε φλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως είναι ο ογκο-νεκρωτικός παράγοντας-άλφα (TNF-α), η ιντερλευκίνη-1 (IL-1), η ιντερλευκίνη-1β (IL-1β), η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και η ιντερλευκίνη-10 (IL-10). Υψηλά επίπεδα των κυτταροκινών αυτών έχουν βρεθεί στο μητρικό πλάσμα και στο αμνιακό υγρό των γυναικών με ΠΤ έπειτα από ρήξη των εμβρυϊκών υμένων, με θετικές καλλιέργειες στο αμνιακό υγρό⁸⁶. Ο TNF-α παράγοντας εντοπίζεται στα μακροφάγα κύτταρα του φθαρθού, των λαχνών και της τροφοβλάστης, τόσο στο 1ο όσο και στο 3ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης⁸⁷. Το αλληλόμορφο γονίδιο A της περιοχής -308 του υποκινητή TNF-α οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή αυτού. Οι Roberts και συν. ανέφεραν θετική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού της περιοχής του υποκινητή του TNF-α (-308 A αλ-

ληλόμορφο) και του ΠΤ ή/και πρόωρης ρήξης υμένων μεταξύ Αφροαμερικανών γυναικών⁴⁸. Αντίθετα, οι Amory και συν.⁶⁰ διαπίστωσαν ότι ομοζυγώτες μητέρες για το αλληλόμορφο-863 A γονίδιο TNF-α είχαν σημαντικά αυξημένη συχνότητα ΠΤ, χοριοαμνιονιτίδας και περιγεννητικής νοσηρότητας, δίχως όμως αυτή να σχετίζεται με δυσμενή έκβαση⁶⁰. Ο Menon και συν. περιέγραψαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ ΠΤ και γονιδιακών πολυμορφισμών των υποδοχέων 1 και 2 (TNFR1 και TNFR2) του TNF-α, συμπεριλαμβανομένων πολυμορφισμών απλών νουκλεοτιδίων του γονιδίου του TNFR1 στη θέση -4203, και του γονιδίου του TNFR2 στις θέσεις -19027 και -35150⁵⁰. Με ανοσοκυτταρικές τεχνικές, οι Baergen και συν. καθώς και άλλοι ερευνητές ανακάλυψαν σε περιπτώσεις γυναικών με ΠΤ την παρουσία της IL-1 στο αμνιακό υγρό, στο χόριο, στο φθαρτό και στην τροφοβλάστη καθώς και στις καλλιέργειες κυττάρων του πλακούντα^{18,81,87}. Ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1 αναστέλλει τις βιολογικές δράσεις της IL-1, αποκλείοντας τους υποδοχείς της. Κατά συνέπεια μείωση της παραγωγής της IL-1 και της επαγόμενης από αυτήν παραγωγής προσταγλανδίνης από τους ενδομήτριους ιστούς μπορεί να αποτρέψει τον ΠΤ που σχετίζεται με λοίμωξη⁸⁸. Οι Witkin και συν.³² έδειξαν ότι πολυμορφισμοί του εμβρυϊκού ιντρονίου 2 του IL-1ra (IL-1RN*2) σχετίζονται με 50% αύξηση των επιπέδων IL-1β του αμνιακού υγρού σε σύγκριση με τα επίπεδα των εμβρύων που ήταν ομοζυγώτες για τον IL-1RN*1. Οι Bessler και συν. ανέφεραν σημαντικά υψηλότερη συχνότητα ομοζυγωπίας του IL1RN*2 μεταξύ των βρεφών που γεννιούνται πρόωρα, ενώ η ομοζυγωπία για τον IL-1RN*2 φαίνεται να συνδέεται με ΠΤ και αυξημένο κολπικό εποικισμό Αφροαμερικανών γυναικών⁸⁹.

Η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) είναι η κυτταροκίνη που μελετήθηκε περισσότερο από κάθε άλλη στην εγκυμοσύνη. Η διαπίστωση δε πολύ αυξημένων επιπέδων της συγκεκριμένης κυτταροκίνης στο αμνιακό υγρό εγκύων γυναικών που παρουσίασαν κάποιου είδους φλεγμονή και οι πολύ χαμηλές συγκέντρωσης αυτής σε περιπτώσεις ΠΤ "ιδιοπαθούς" αιτιολογίας⁹⁰, την καθιστούν ως ένα από τους πλέον ευαίσθητους και ειδικούς δείκτες ΠΤ με στοιχεία συνυπάρχουσας φλεγμονής. Επιπλέον, καλλιέργειες κυττάρων των

λαχνών και του χορίου, έδειξαν ρύθμιση της έκκριση της IL-6 από την IL-1β και τον παράγοντα TNF-α⁹¹. Οι Simhan και συν. αναφέρουν ότι ομοζυγωτία του αλληλομόρφου -174 C της IL-6 συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο ΠΤ σε γυναίκες Καυκάσιας φυλής, σε αντίθεση με Αφροαμερικανές εγκύους που γέννησαν πρόωρα⁹². Οι Velez και συν. μελετώντας τη συσχέτιση πολυμορφισμών του γονιδίου της IL-6 και του υποδοχέα της (IL6R) με την εμφάνιση ΠΤ, ανέφεραν σημαντική συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμού του απλού νουκλεοτιδίου του γονιδίου του υποδοχέα της IL-6R στις θέσεις -37672 και -4553185 μεταξύ Αφροαμερικανών γυναικών^{45,93}. Αντιθέτως καμία σημαντική συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ του πολυμορφισμού του γονιδίου της IL-6 στη θέση 174 και του ΠΤ, μεταξύ Αφροαμερικανών ή Ευρωπαϊκό-Αμερικανών γυναικών⁴⁵. Οι ίδιοι ερευνητές επίσης αναφέρουν προστατευτική συσχέτιση του απλότυπου των δύο απλών νουκλεοτιδίων του γονιδίου του υποδοχέα της IL-6R στις θέσεις -1800795 και -2069840 έναντι του ΠΤ⁹³. Προσδιορισμός της συγκεντρώσεως της IL-6 στο αμνιακό υγρό έδειξε ισχυρότερη συσχέτιση ΠΤ μεταξύ των απλοτύπων του υποδοχέα της IL-6 (IL6R) που σχηματίζονται μεταξύ αλληλομόρφων SNPs στις θέσεις -4601580, -4845618, και -7549338 μεταξύ Αφροαμερικανών γυναικών καθώς και στις θέσεις -4601580 και -4845618 για τα έμβρυα Ευρωπαϊκό-Αμερικανών γυναικών⁹³. Οι Speer και συν. δεν αναφέρουν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά του γονότυπου της IL-6 στη θέση -174 σε ότι αφορά τον ΠΤ, είτε σε μητρικά είτε σε εμβρυϊκά δείγματα (94). Ωστόσο, απουσία χαμηλής-παραγωγής C/C γονότυπου της IL-6 σημειώθηκε σε Αφροαμερικανές γυναίκες⁹⁴. Οι Menon και συν. αντίθετα αναφέρουν στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στις Ευρωπαϊκό-Αμερικανές γυναίκες που γέννησαν πρόωρα⁴².

Η ιντερλευκίνη-10 (IL-10) αποτελεί ως γνωστό την κυριότερη ανασταλτική κυτταροκίνη στη διαδικασία σύνθεσης κυτταροκινών τόσο από τα Τ-κύτταρα (ιντερφερόνη-γ και IL-2), όσο και από μονοκύτταρα μακροφάγα (TNF-α, IL-6, IL-8, και IL-12)¹⁸ και ως εκ τούτου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επιτυχή έκβαση της κύησης διασφαλίζοντας την μητρική ανοχή στο αλλογενές έμβρυο⁹⁵. Στις περισσότερες κύσεις η IL-10 ανιχνεύεται στο αμνιακό υγρό καθό-

λη τη διάρκεια της κύησης⁹⁶. Τα υψηλά επίπεδα της IL-10 στο αμνιακό υγρό σε κύσεις επιπλεγμένες με υπολειπόμενη εμβρυϊκή ανάπτυξη καθώς και σε περιπτώσεις εγκύων γυναικών με κλινική συμπτωματολογία χοριοαμνιονίτιδας συνδέονται με δυσλειτουργία της ανοσιακής δραστηριότητας στην κύηση και στον ΠΤ^{96,97}. Η IL-10 φαίνεται ότι ρυθμίζει την παραγωγή της IL-6 σε μεταγραφικό επίπεδο στις αμνιοχοριονικές μεμβράνες⁹⁸ ενώ αναστέλλει την παραγωγή της μεταλλοπρωτεϊνάσης MMP-9 από την κυτταροτροφοβλάστη⁹⁹. Καλλιέργειες κυττάρων του φθαρτού έδειξαν ρύθμιση της έκκρισης της IL-10 από την IL-1β και τον LPS^{100,101}. Το υπεύθυνο γονίδιο για την παραγωγή της IL-10 εδράζεται στο χρωμόσωμα 1. Πολυμορφισμοί της ρυθμιστική περιοχής του γονιδίου της IL-10 στις θέσεις -1082,-819,-592, σχετίζονται με το σημείο έναρξης της μεταγραφικής δραστηριότητας. Πολυμορφισμός της θέσης -1082 φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα IL-10¹⁰².

Η IL-4 ευοδώνει τη διαφοροποίηση των Τ λεμφοκυττάρων εμποδίζοντας την παραγωγή ιντερφερόνης-γ οδηγώντας έτσι στη μειωμένη σύνθεση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών¹⁰³. Η IL-4, της οποίας η συγκεντρωση αυξάνει κατά τη διάρκεια της φυσιολογική εγκυμοσύνης, ενεργοποιεί επίσης τα Β λεμφοκύτταρα προκαλώντας τον πολλαπλασιασμό τους και τη σύνθεση αντισωμάτων¹⁰⁴. Πολυμορφισμός απλού νουκλεοτιδίου στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου της IL-4 στη θέση -590 αυξάνει τη μεταγραφική δραστηριότητα και την παραγωγή IL-4^{105,106}.

Η ιντερλευκίνη-8 (IL-8), παράγωγο των μονοκυττάρων που διεγείρεται από τη φλεγμονή, ίσως να μπορεί να χρησιμοποιηθεί μελλοντικά ως προβλεπτικός δείκτης ΠΤ καθώς έχει εντοπισθεί σε κύσεις επιπλεγμένες με χοριοαμνιονίτιδα, ενώ και το αντιγόνο ιστοσυμβατότητας (παράγωγο επίσης των μακροφάγων κυττάρων, που θεωρείται απαραίτητο στην απάντηση της κυτταρικής ανοσίας) σχετίζεται με φλεγμονή των στοιχείων της κύησης⁷⁸. Ο συμπληρωματικός παράγοντας-B, πρωτεΐνη που συντίθεται στους εμβρυϊκούς υμένες και υπερπαραγάγεται σε φλεγμονή των στοιχείων της κύησης (έχοντας εντοπισθεί στο αμνιακό υγρό, στο μητρικό πλάσμα και σε στο αίμα του ομφαλίου λώρου) αποτελεί δείκτη πρώιμης ανοσολογικής απάντησης της εγκύου προς

τη φλεγμονή (ακόμα και της ασυμπτωματικής φλεγμονής) που σχετίζεται επίσης με τη διάρκεια της ρήξης των εμβρυϊκών υμένων¹⁰⁷. Ομοίως η G-πρωτεΐνη και άλλες παρόμοιες πρωτεΐνες ενεργοποιούνται στους εμβρυϊκούς υμένες των γυναικών με ΠΤ, με ή χωρίς ρήξη των εμβρυϊκών υμένων^{78,108}. Η πρωτεΐνη F-ακτίνη, που καθορίζει την ανασυγκρότηση των νηματίων της ακτίνης στα κύτταρα, σχετίζεται επίσης με φλεγμονή των εμβρυϊκών υμένων, και δύναται να προκαλέσει άμεσα τη ρήξη αυτών¹⁰⁹ - ειδικά έπειτα από λοίμωξη από μύκητες ή βακτηρίδια, λόγω της διάσπαση των νηματίων της ακτίνης. Η ανεύρεση επίσης υψηλών επιπέδων φερριτίνης στον ορό εγκύων με φλεγμονή θεωρείται ότι αποτελεί διαγνωστικό κριτήριο του ΠΤ¹¹⁰. Η εκλυτική ορμόνη της κορτικοτροπίνης (CRH) κατατάσσεται στις πρωτεΐνες που ενέχονται στην παθογένεια του ΠΤ εμφανίζοντας αυξημένα επίπεδα¹¹¹ καθώς διεγείρουν τους υποδοχείς οξυτοκίνης¹¹². Πολυμορφισμός απλού νουκλεοτιδίου του εμβρυϊκού γονιδίου της ιντερφερόνης-γ (IFNG) στη θέση -874T φαίνεται να σχετίζεται με ΠΤ, εφόσον και η μητέρα έχει τον ίδιο γονότυπο⁹⁴ - ενώ πολυμορφισμός απλού νουκλεοτιδίου του γονιδίου της IL-2 στη θέση -385 δεν έχει δειχθεί να αυξάνει αυτόν τον κίνδυνο¹¹³. Τέλος, μειωμένες ποσότητες της πρωτεΐνης SERPINH1 έχουν περιγραφεί σε δείγματα αμνιακού υγρού σε περιπτώσεις μετάλλαξης του αλληλόμορφου γονιδίου της SERPINH1 στη θέση - 656T¹¹⁴. Σημειώνεται ότι το γονίδιο που κωδικοποιεί την SERPINH1 εντοπίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και χρησιμεύει στη σταθεροποίηση της τριπλής έλικας του κολλαγόνου. Αύξηση των επιπέδων της Hsp47 προκαλεί αυξημένη παραγωγή κολλαγόνου τύπου I. Η μειωμένη περιεκτικότητα σε κολλαγόνο των εμβρυϊκών υμένων σε περιπτώσεις πρόωρης ρήξης υμένων μπορεί να οφείλεται εν μέρει στη μειωμένη σύνθεση αυτής της πρωτεΐνης ή σε αυξημένη αποδόμηση. Το αλληλόμορφο γονίδιο T βρίσκεται σε αφθονία σε άτομα αφρικανικής καταγωγής¹¹⁵. Οι Wang και συν.¹¹⁶ εντόπισαν ακόμα μια σχετικά σπάνια διαγραφή 12-bp στο 5'- περιοχή του γονιδίου της SERPINH1 που αυξάνει τη δραστηριότητα του υποκινητή και προστατεύει κατ' αυτόν τον τρόπο από την πρόωρη ρήξη εμβρυϊκών υμένων τις γυναίκες Αφρο-Αμερικανικής καταγωγής.

Μεταλοπρωτεϊνάσες

Οι εμβρυϊκοί υμένες χρησιμεύουν ως μια φυσική και λειτουργική ασπίδα προστασίας για το έμβρυο. Πρόωρη παθολογική ρήξη των δομών αυτών αποτελεί σημαντική αιτία ΠΤ. Ενεργοποίηση των μεταλοπρωτεϊνών (MMPs) της θεμέλιας ουσίας (MMP-1, -3, -8, -9) οδηγεί σε αποδόμηση του συνδετικού ιστού, μεταβολές του τραχήλου της μήτρας και ρήξη υμένων. Βακτηριδιακά προϊόντα ή/και προφλεγμονώδεις κυτοκίνες δρώντας σε κύτταρα του τραχήλου της μήτρας δύναται να προκαλέσουν τη μεταβολή της έκφρασης των MMPs¹¹⁷. Υψηλές συγκεντρώσεις MMP-8 του αμνιακού υγρού συσχετίζονται με ΠΤ (πριν την 32η εβδομάδα κύησης)¹¹⁸ καθώς και πρόωρη ρήξη υμένων¹¹⁹. Παρόμοια συσχέτιση έχει αναφερθεί για τις MMP-9³⁴ και MMP-1³⁵.

Vascular endothelial growth factor (VEGF)

Ο αγγειογενετικός παράγοντας VEGF, εκφραζόμενος στις εμβρυϊκές μεμβράνες και στο φθαρτό, συμμετέχει ουσιαστικά στην ομαλή αγγειογένεση και πλακουντοποίηση - διασφαλίζοντας κατ' αυτό τον τρόπο την ομαλή εμβρυϊκή αύξηση και ανάπτυξη - ενώ παράλληλα τροποποιεί την διαπερατότητα του πλακούντα και των αμνιακών μεμβρανών. Οι Daneshmand και συν.¹²⁰ και Kramer και συν.¹²¹ αναφέρουν ότι τόσο ο παράγοντας VEGF όσο και οι υποδοχείς του (VEGF-R1 και VEGF-R2) παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση σε καταστάσεις υποξίας και χοριοαμνιονίτιδας, διαταράσσουν την ομαλή λειτουργία του πλακούντα και οδηγούν σε ΠΤ. Ομοίως, οι Parazoglou και συν.¹²² συνέδεσαν δύο κοινούς λειτουργικούς γονιδιακούς πολυμορφισμούς του VEGF (-634G/C και 936C/T) με ΠΤ.

Beta2-adrenergic receptor (beta2-AR)

Καθώς β-2 αδρενεργικοί υποδοχείς έχουν αναγνωριστεί στα μητριαία αγγεία και στον πλακούντα¹²³ οι β-αγωνιστές, χρησιμοποιούνται για να εμποδίσουν τις συσπάσεις της μήτρας και συνεπώς να παρατείνουν την εγκυμοσύνη για τουλάχιστον 48 ώρες. Δύο SNPs που σχετίζονται βιολογικά μεταξύ τους έχουν προσδιοριστεί στο κωδικόνιο 16 και στο κωδικόνιο 27 του γονιδίου beta2-AR. Ομοζυγωτία του αλληλόμορφου A στο κωδικόνιο 16 (Arg-16) έχει συσχετι-

στεί με μείωση της γονιδιακής έκφρασης του beta2-AR *in vitro*¹²⁴ προσδίδοντας του προστατευτικό ρόλο έναντι του ΠΤ. Πάντως πολλοί ερευνητές μελετώντας τη συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών σε αυτές τις δύο περιοχές του γονιδίου beta2-AR και της έκβασης της κύησης κατέληξαν σε αντικρουόμενα συμπεράσματα¹²³⁻¹²⁶. Ο Landau και συν.¹²⁴ δε βρήκαν συσχέτιση του ΠΤ με το γονότυπο της θέσης 27, ενώ αντίθετα, ο Ozkur και συν.¹²³ αναφέρουν αντιστοιχία μεταξύ του αλληλόμορφου Gln 27Glu και ΠΤ. Επίσης, οι Doh και συν.¹²⁵ αναφέρουν ομοζυγωτία του αλληλόμορφου A στο κωδικόνιο 16 (Arg-16) στο 20% των γυναικών με τελειόμηνο τοκετό και καμία συσχέτιση σε γυναίκες με ΠΤ. Επιπλέον βρήκαν ότι το 75% των γυναικών που γέννησαν πρόωρα ήταν ετεροζυγώτες στο συγκεκριμένο αλληλόμορφο γονίδιο σε σύγκριση με το 46% εκείνων των γυναικών που είχαν τελειόμηνο τοκετό¹²⁵.

Πολυμορφισμός θρομβωτικών και αντι-θρομβωτικών παραγόντων

Επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν συσχέτιση μεταξύ θρόμβωσης, αποβολών και ΠΤ⁸⁴. Δεδομένου ότι η θρόμβωση των αγγείων του πλακούντα προκαλεί εκδήλωση δυσλειτουργίας του και ότι η θρομβίνη αποτελεί ισχυρό διεγερτικό παράγοντα συσπάσεων της μήτρας¹²⁶, πολυμορφισμοί θρομβωτικών και αντι-θρομβωτικών δεικτών έχουν συσχετιστεί με μαιευτικές επιπλοκές και παθήσεις που σχετίζονται με την πλακουντιακή κυκλοφορία. Ωστόσο, αντικρουόμενα αποτελέσματα αναφέρθηκαν όταν πολυμορφισμοί αυτών των γονιδίων συσχετίστηκαν με ΠΤ. Ο παράγοντας 5 Leiden – που σχετίζεται με συμβάματα θρόμβωσης στη μητέρα, στον πλακούντα και στο έμβρυο - επιβαρύνει την ομαλή πορεία της κύησης. Ο γονότυπος της μητέρας συνδέεται με θρομβωτικά επεισόδια στην έγκυο, ενώ ο γονότυπος του εμβρύου προκαλεί θρομβωτικά έμφρακτα στον πλακούντα και πιθανόν θρομβώσεις στο έμβρυο^{111,127}. Επίσης έχουν περιγραφεί μεταλλάξεις της προθρομβίνης (G20210A) και πολυμορφισμοί των παραγόντων VII (121del/ins) και XIII (Val34Leu). Συγκεκριμένα, ο πολυμορφισμός του παράγοντα VII (-121del/ins) εμφανίζει μεγαλύτερη συχνότητα σε πρόωρα νεογνά με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης και στις μητέρες

τους σε σύγκριση με τελειόμηνα⁸⁴, ενώ η συχνότητα πολυμορφισμού του παράγοντα XIII (-Val34Leu) εμφανίζεται εξαιρετικά μειωμένη σε αυτά. Επιπλέον, πολυμορφισμοί σε δύο γονίδια της ανθρώπινης υπεροξειδάσης (ένζυμο που ενέχεται στην αγγειοδιαστολή και στην θρόμβωση και δυνητικά στην ανακατανομή του αίματος που ρέει μέσω του πλακούντα) με γονότυπους PON1RR και PON2CC βρέθηκαν σε αυξημένη συχνότητα σε πρόωρα νεογνά¹²⁸.

Μεταβολές οξειδωτικής ισορροπίας

Μεταβολές και πολυμορφισμοί των ενζύμων που σχετίζονται με την οξειδωτική ισορροπία των κυττάρων μπορούν να προκαλέσουν ΠΤ. Μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου τρανσφεράσης της γλουταθειόνης S βρέθηκε σε πλακούντες κύησης επιπλεγμένες με ΠΤ. Ομοίως, μειωμένη δραστηριότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων αναφέρονται σε εγκυμοσύνες που ανέπτυξαν παθολογία κύησης, διαβήτη ή/και προεκλαμψία¹²⁹. Επιπρόσθετα, γενετικός πολυμορφισμός των ενζύμων υδρολάσης (με γονότυπο EPHX His113/His113) και τρανσφεράσης της γλουταθειόνης S (glutathione S-transferase T1 gene, GSTT1) βρέθηκε σε γυναίκες όπου οι κυήσεις τους χαρακτηριζόταν από αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα σαν αποτέλεσμα παθολογίας του πλακούντα, συγγενών ανωμαλιών και επιπλοκών του ΠΤ¹³⁰.

Πολύδυμη κύηση

Η πλειονότητα των πολύδυμων κύσεων όπως προαναφέρθηκε σχετίζεται με ΠΤ και η υπερδιάταση της μήτρας πιθανά συμβάλει σε αυτό. Οι Kalish και συν.^{33,131,132} διερευνώντας πολυμορφισμούς διαφορετικών γονιδίων σε έμβρυα πολύδυμων κύσεων ανέφεραν συσχέτιση μεταξύ πρόωρης ρήξης υμένων και ύπαρξης πολυμορφισμού του γονιδίου TNFα-308 ή/και του αλληλίου 2 της «πρωτεΐνης -70 θερμικού σοκ» (heat shock protein) στο πρώτο έμβρυο, καθώς και πολυμορφισμό του αλληλίου T της IL-4 σε μητέρες και έμβρυα με ΠΤ. Τέλος, πολυμορφισμός του γονιδίου Fas στη θέση -670 σχετίζεται με πρόωρη ρήξη υμένων.

ΓΕΝΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΟΜΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Η προσπάθεια κατανόησης των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που οδηγούν σε ΠΤ οδήγησε τα τελευ-

ταία χρόνια σε περισσότερο συστηματικές και εντατικές μελέτες των γονιδίων και των πρωτεϊνικών τους παραγών σε ότι αφορά την συμμετοχή τους στην παθογένεια αυτής της επιπλοκής. Τα ταχέως αναπτυσσόμενα πεδία που μελετούν το ανθρώπινο γονιδίωμα (γενομική) και τα πρωτεϊνικά προϊόντα αυτού (πρωτεομική) δύναται να επιτρέψουν την ταυτοποίηση γονιδίων και πρωτεϊνών αντίστοιχα που εμπλέκονται στην παθολογία του ΠΤ, καθιστώντας με αυτό τον τρόπο δυνατή την ανάπτυξη συγκεκριμένων διαγνωστικών και θεραπευτικών προσεγγίσεων έναντι αυτού. Η χρήση συστοιχιών DNA (DNA arrays) βοηθάει στην αναγνώριση της διαφορετικής έκφρασης γονιδίων και την εμπλοκή τους στον τοκετό, πρόωρο ή τελειόμηνο¹³³. Η μελέτη της έκφρασης γονιδίων του μυομητρίου, εγκύων και μη γυναικών, με τη χρήση μικροσυστοιχειών DNA (DNA micro-arrays), αποκάλυψε διαφορετική έκφραση ενός συνόλου γονιδίων που εμπλέκονται στην σύσπαση των λείων μυών του μυομητρίου, δίχως όμως να ευθύνονται απαραίτητα για ΠΤ¹³⁴. Μειωμένη έκφραση του ινσουλινοεξααρτώμενου παράγοντα ΙΙ (IGF-II), της γκαλγκρανουλίνης Α και Β (calgranulin Α και Β) και του υποδοχέα δέσμευσης των G πρωτεϊνών (G-protein-coupled receptor) παρατηρήθηκε στο μυομήτριο γυναικών κατά τη διάρκεια του τοκετού - σε αντίθεση με την αυξημένη έκφραση των γονιδίων της δεσμευτικής πρωτεΐνης των ινσουλινοεξααρτώμενων παραγόντων IGFs (IGF-binding protein), της δεσμευτικής πρωτεΐνης των ιόντων Ca²⁺/CaM (Ca²⁺/CaM binding protein), του υποστρώματος της C-κινάσης (kinase C substrate) και του μετατρεπτικού ενζύμου του αγγιοτενσινογόνου (angiotensin-converting enzyme)¹³⁴. Επίσης, η χρήση συστοιχιών DNA στη μελέτη της έκφρασης γονιδίων των κυτταροκινών των εμβρυικών υμένων γυναικών με ενδομήτρια φλεγμονή που γέννησαν πρόωρα, έδειξε υπερ-έκφραση σε 22 γονίδια και υπο-έκφραση σε 4 επί ενός συνόλου 90 γονιδίων που μελετήθηκαν. Τα γονίδια της IL-1β, της ογκοστατίνης Μ (oncostatin Μ) και του ενισχυτικού παράγοντα των προ-B-κυττάρων (pre-B-cell enhancing factor) ήταν εκείνα με τη μεγαλύτερη διαφορετική έκφραση. Αυτές οι μελέτες αποδεικνύουν τη δυναμική της γενομικής έρευνας στην ταυτοποίηση των γονιδίων που εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία

σύνθετων ασθενειών, όπως στην περίπτωση του ΠΤ. Αν και τα αποτελέσματα των μελετών με τη χρήση συστοιχιών DNA μπορεί να δείχνουν σημαντική υπερ- ή υπο-έκφραση σε ένα σύνολο γονιδίων, αυτή δε σχετίζεται απαραίτητα με αλλαγές στο επίπεδο της πρωτεϊνικής τους έκφρασης. Επιπλέον ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα που σε συνδυασμό με το υψηλό κόστος των δοκιμών σε πολλά δείγματα θέτει πολλούς περιορισμούς στη χρήση της γενομικής μελέτης.

Σε αντίθεση με τη γενομική έρευνα, η πρωτεομική σαφώς πλεονεκτεί - λόγω κυρίως της άμεσης μελέτης των σχετικά άφθονων πρωτεϊνών σε ένα συγκεκριμένο ιστό. Καμία προϋπόθεση δεν είναι αναγκαία για τη συσχέτιση της έκφρασης γονιδίων και της παραγωγής πρωτεϊνών. Οι εφαρμογές της πρωτεομικής στη μελέτη του ΠΤ είναι σε πρώιμο στάδιο ακόμα. Οι Gravett και συν. εφάρμοσαν μια πρωτεομική βάση ανάλυσης για την μελέτη του αμνιακού υγρού σε ένα πειραματικό μοντέλο ενδομήτριας λοίμωξης χρησιμοποιώντας πειραματοζώα¹³⁵. Δώδεκα ώρες μετά τη λοίμωξη και πριν από την έναρξη των συστολών της μήτρας μια κορυφή 11 kDa προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας εντελώς εξειδικευμένη τεχνική (surface-enhanced laser desorption ionization time of flight analysis, SELDI-TOF analysis). Μια κορυφή 11 kDa εντοπίστηκε επίσης στο αμνιακό υγρό των 11 γυναικών με υποκλινική ενδομήτρια λοίμωξη, σε 2 από τις 11 γυναίκες που είχαν ΠΤ χωρίς λοίμωξη και σε καμία από τις 11 γυναίκες που γέννησαν κανονικά χωρίς λοίμωξη. Με τη χρήση της μαζικής φασματομετρίας οι πρωτεΐνες που εντοπίστηκαν μέσα αυτή η κορυφή περιλάμβαναν την azurocidin, την γκαλγκρανουλίνη-B (calgranulin-B), την ασβέστιο-δεσμευτική πρωτεΐνη S-100 και ένα μοναδικό τεμάχιο της δεσμευτικής πρωτεΐνης IGF-I. Η μελέτη αυτή αντιπροσωπεύει την πρώτη εφαρμογή της πρωτεομικής στην μελέτη πρωτεϊνών που πιθανά ενέχονται στον ΠΤ και στον εντοπισμό της διαφορετικής έκφρασης πρωτεϊνών σε φλεγμονώδες αμνιακό υγρό. Πρόκληση για την πρωτεομική έρευνα αποτελεί η αφθονία των πρωτεϊνών σε διάφορους ιστούς, η μετα-μεταφραστική πρωτεϊνική τροποποίησή τους, καθώς και οι αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών σε σύνθετες ασθένειες.

Η τεχνολογική πρόοδος στην μελέτη του ανθρώπινου

γονιδιώματος και των πρωτεϊνικών παραγώγων τους αναμένεται να επιτρέψουν την ταυτοποίηση γονιδίων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην παθογένεια του ΠΤ, συμβάλλοντας παράλληλα στην κατανόηση της γενετικής του βάσης, και καθιστώντας με αυτό τον τρόπο δυνατή την ανάπτυξη συγκεκριμένων διαγνωστικών και θεραπευτικών προσεγγίσεων έναντι αυτής της επιπλοκής, που θα οδηγήσει πιθανά σε μείωση της προωρότητας και της σχετιζόμενης νεογνικής νοσηρότητας και θνησιμότητας.

ΣΥΝΟΨΗ

Ο ΠΤ και οι συνέπειές του αποτελούν μείζον υγειονομικό πρόβλημα παγκοσμίως. Επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι γυναίκες με ΠΤ συχνά έχουν ατομικό ή/και οικογενειακό ιστορικό ΠΤ, ενώ παράλληλα φυλετικές και εθνοτικές διαφορές επηρεάζουν την επίπτωση του, γεγονός που υποδεικνύει τη γενετική του προδιάθεση. Καθώς υπάρχει έκθεση φυλών και εθνοτήτων σε συγκεκριμένους κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες (τοξίνες, συνθήκες διαβίωσης, διατροφή, κάπνισμα), τα επιδημιολογικά στοιχεία αποδεικνύουν τη δράση περιβαλλοντικών παραγόντων στον ΠΤ. Συνεπώς ο ΠΤ μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος. Επίσης πολλοί παράγοντες φλεγμονής συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο πρόωρης ρήξης υμένων και ΠΤ. Ανοσοτροποποιητικά μόρια και οι υποδοχείς τους - συνήθως προϊόντα πολυμορφισμού γονιδίων - συμμετέχουν στις παθοφυσιολογικές διαδικασίες του ΠΤ. Είναι γνωστό ότι πολυμορφισμός απλού νουκλεοτιδίου ενός γονιδίου (SNPs) μπορεί να οδηγήσει σε μια διαφορετική έκφραση του προϊόντος του και μέχρι τώρα SNPs για διάφορα γονίδια έχουν συσχετιστεί με ΠΤ. Η τεχνολογική πρόοδος της μελέτης του ανθρώπινου γονιδιώματος και των πρωτεϊνικών παραγώγων του δύναται να επιτρέψει την ταυτοποίηση των γονιδίων και των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία του ΠΤ καθιστώντας δυνατή την ανάπτυξη συγκεκριμένων διαγνωστικών και θεραπευτικών προσεγγίσεων έναντι αυτής της επιπλοκής, προσαρμοσμένες στα μοναδικά γενετικά χαρακτηριστικών του εκάστοτε ζεύγους μητέρας - εμβρύου.

The genetic contribution towards preterm delivery

Sfakiotaki M., Sifakis S.

Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital of Heraklion, Crete, Greece

Correspondence: Stavros Sifakis, MD

Department of Obstetrics and Gynecology,
University Hospital of Heraklion, Heraklion, Crete,
71201, Greece, Tel: +306932701813
E-mail: Stavros.sifakis@yahoo.com

Summary

Preterm labor (PTB) is defined as the birth before the completion of the 37th week of gestation. It consists a major clinical and public health challenge in modern Obstetrics, as it is one of the leading causes of perinatal mortality and morbidity worldwide accounting for around 70% and 75%, respectively. In many cases, it has severe life-long consequences for the health and neurological development of the surviving premature newborns, affecting the social or professional integration and customization of them, and inevitably the cost of health care. The PTB complicates as many as 9-12% of pregnancies worldwide, showing an upward trend in recent years, despite the developments in the field of modern technology and research. The etiology of PTD still remains unknown and consists a clinical enigma due to etiologic, pathophysiologic and genetic heterogeneities. PTB is a complex pathological entity and is not initiated by a single etiologic agent. Etiologic factors operate through multiple pathophysiologic pathways that include highly overlapping biomarkers and molecular factors creating heterogeneity. Several studies suggest that genetic factors may play a role in PTB. However, its genetic background is insufficiently characterized. The recurrence of spontaneous preterm delivery in individual women, families and ethnic groups suggests a long-acting aetiology, consistent with a genetic factor, while, epidemiologic data confirm environmental influences on PTB. Moreover, PTB may represent a consequence of gene-environment or/and gene-gene interactions. Infection and inflammation correlate with increased risk for preterm premature rupture of amniotic membranes and PTB. Immunomodulatory molecules and their receptors regulate these processes and many of them are products of genes' polymorphisms. Technological advances in the study of the human genome (genomics) and protein complement (proteomics) will allow identification of novel genes and proteins involved in preterm delivery. Insight into the complex gene regulation and protein production in PTB may contribute to the understanding of the genetic basis and/or predisposition. A discovered genetic factor may lead to medical breakthroughs and reductions in prematurity, neonatal morbidity and mortality, through the development of targeted diagnostic and therapeutic approaches tailored towards unique genetic characteristics of a mother/fetus pair. A brief review of existing literature about

the genetic factors involved as either predisposing or as etiological on PTB is the aim of this review article.

Key words: cytokines, environmental factors, genes, genetic predisposition, polymorphisms, PPROM, pregnancy, premature labor, prematurity, SNPs.

Βιβλιογραφία

- Green NS, Damus K, Simpson JL, et al. March Of Dimes Scientific Advisory Committee On Prematurity. Research agenda for preterm birth: recommendations from the March of Dimes. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:626-35.
- Mattison DR, Damus K, Fiore E, Petrini J, Alter C. Preterm delivery: a public health perspective. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15:7-16.
- World Health Organisation. The incidence of low birth weight: a critical review of available information. *World Health Stat Q* 1980;33:197-225.
- Amon E, Sibai BM, Anderson GD. Obstetric variables predicting survival of immature newborns (<1000gr): a five year experience of a single perinatal center. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:1380-9.
- Amon E, Myles TD. Preterm Labor. In: Reece EA, Hobbins JC, eds. *USA Clin Obstet* 2007; 3rd ed:1085-129.
- Lipper EG, Ross GS, Auld PA, Glassman MB. Survival and outcome of infants weighing less than 800 grams at birth. *Obstet Gynecol* 1990;163:146-50.
- Nguyen TP, Amon E, Al-Hosni M, Gavard JA, Gross G, Myles TD. "Early" versus "late" 23-week infant outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:226e1-6.
- Dani C, Poggi C, Romagnoli C, Bertini G. Survival and major disability rate in infant born at 22-25 weeks of gestation. *J Perinat Med* 2009;37:599-608.
- Institute of Medicine (US) Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcomes; Behrman RE, Butler AS. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*.
- Steer P. Epidemiology of preterm birth. *BJOG* 2005;112:1-3.
- Wang X, Zuckerman B, Kaufman G, et al. Molecular epidemiology of preterm delivery: methodology and challenges. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15:63-77.
- Carr-Hill RA, Hall MH. The repetition of spontaneous preterm labour. *Br J Obstet Gynaecol* 1985;92:921-8.
- Goldenberg RL, Cliver SP, Mulvihill FX, et al. Medical, psychosocial and behavioral risk factors do not explain the increased risk for low birth weight among black women. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1317-24.
- Berkowitz GS, Kasl SV. The role of psychosocial factors in spontaneous preterm delivery. *J Psychosom Res* 1983;27:283-90.
- Romero R, Avila C, Brekus CA, Morotti R. The role of systemic and intrauterine infection in preterm parturition. *Ann N Y Acad Sci* 1991;622:355-75.
- Garfield RE, Irani AM, Schwartz LB, Bytautiene E, Romero R. Structural and functional comparison of mast cells in the pregnant versus nonpregnant human uterus. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:261-7.
- Witkin SS. Allergy and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:e27.
- Dizon-Townson DS. Preterm labour and delivery: a genetic predisposition. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15:57-62.
- Plunkett J, Muglia LJ. Genetic contributions to preterm birth: implications from epidemiological and genetic association studies. *Ann Med* 2008;40:167-95.
- Ehrenberg HM, Iams JD, Goldenberg RL, et al. Maternal obesity, uterine activity, and the risk of spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 2009;113:48-52.
- Muglia LJ, Katz M. The enigma of spontaneous preterm birth. *N Engl J Med* 2010;362:529-35.
- Kliegman RM, Rottman CJ, Behrman RE. Strategies for the prevention of low birthweight. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:1073-83.
- Winkvist A, Mogren I, Hogberg U. Familial patterns in birth characteristics: impact on individual and population risks. *Int J Epidemiol* 1998;27:248-54.
- Clausson B, Lichtenstein P, Cnattingius S. Genetic influence on birthweight and gestational length determined by studies in offspring of twins. *BJOG* 2000;107:375-81.
- Treloar SA, Macones GA, Mitchell LE, et al. Genetic influences on premature parturition in an Australian twin sample. *Twin Res* 2000;3:80-2.
- Ward K, Argyle V, Meade M. The heritability of preterm delivery. *Obstet Gynecol* 2005;106:1235-9.
- Khoury MJ, Cohen BH, Diamond EL, Chase GA, McKusick VA. Inbreeding and prereproductive mortality in the Old Order Amish. III. Direct and indirect effects of inbreeding. *Am J Epidemiol* 1987;125:473-83.
- Li DK. Changing paternity and the risk of preterm delivery in the subsequent pregnancy. *Epidemiology* 1999;10:148-52.
- 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;21:201-11.
- Chen D, Hu Y, Wu B, et al. Tumor necrosis factor-alpha gene G308A polymorphism is associated with the risk of preterm delivery. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2003;35:377-81.
- Genc MR, Gerber S, Nesin M, Witkin SS. Polymorphism in the interleukin-1 gene complex and spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:157-63.
- Witkin SS, Vardhana S, Yih M, Doh K, Bongiovanni AM, Gerber S. Polymorphism in intron 2 of the fetal interleukin-1 receptor antagonist genotype influences midtrimester amniotic fluid concentrations of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:1413-7.
- Kalish RB, Vardhana S, Gupta M, Perni SC, Witkin SS. Interleukin-4 and -10 gene polymorphisms and spontaneous preterm birth in multi-fetal gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:702-6.
- Ferrand PE, Parry S, Sammel M, et al. A polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with increased risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. *Mol Hum Reprod* 2002;8:494-501.
- Fujimoto T, Parry S, Urbanek M, et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) promoter influences amnion cell MMP-1 expression and risk for preterm premature rupture of the fetal membranes. *J Biol Chem* 2002;277:6296-302.
- Lorenz E, Hallman M, Marttila R, Haataja R, Schwartz DA. Association between the Asp299Gly polymorphisms in the Toll-like receptor 4 and premature births in the Finnish population. *Pediatr Res* 2002;52:373-6.
- Varner MW, Esplin MS. Current understanding of genetic factors in preterm birth. *BJOG* 2005;112:28-31.
- Zhang J, Savitz DA. Preterm birth subtypes among blacks and whites. *Epidemiology* 1992;3:428-33.
- Adams MM, Elam-Evans LD, Wilson HG, Gilbert DA. Rates of and factors associated with recurrence of preterm delivery. *JAMA* 2000;283:1591-6.
- Menon R, Merialdi M, Lombardi SJ, Fortunato SJ. Differences in the placental membrane cytokine response: a possible explanation for the racial disparity in preterm birth. *Am J Reprod Immunol* 2006;56:112-8.
- Menon R, Thorsen P, Vogel I, Jacobsson B, Williams SM, Fortunato

- SJ. Increased Bioavailability of TNF- α in African Americans during in vitro Infection: predisposing Evidence for Immune Imbalance. *Placenta* 2007;28:946-50.
- 42.Menon R, Camargo MC, Thorsen P, Lombardi SJ, Fortunato SJ. Amniotic fluid interleukin-6 increase is an indicator of spontaneous preterm birth in white but not black Americans. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:77.e1-7.
- 43.Menon R, Thorsen P, Vogel I, et al. Racial disparity in amniotic fluid concentrations of tumor necrosis factor (TNF)-alpha and soluble TNF receptors in spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:533.e1-10.
- 44.Menon R, Velez DV, Simhan H, et al. Multilocus interactions at maternal tumor necrosis factor-alpha, 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.
- 45.Velez DR, Menon R, Thorsen P, et al. Ethnic differences in interleukin 6 (IL-6) and IL6 receptor genes in spontaneous preterm birth and effects on amniotic fluid protein levels. *Ann Hum Genet* 2007;71:586-600.
- 46.Ness RB, Haggerty CL, Harger G, Ferrell R. Differential distribution of allelic variants in cytokine genes among African Americans and White Americans. *Am J Epidemiol* 2004;160:1033-8.
- 47.Macones G, Parry S, Marder S, Clothier B, Ural SH, Strauss JF 3rd. Evidence of a gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:53.
- 48.Roberts AK, Monzon-Barbonaba F, Van Deerlin PG, et al. Association of polymorphism with 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;180:1297-302.
- 49.Dizon-Townson DS, Major H, Varner M, Ward K. A promoter mutation that increases transcription of the tumor necrosis factor-alpha gene is not associated with preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:810-3.
- 50.Menon R, Velez DR, Thorsen P, et al. Ethnic characterization of candidate genes for spontaneous preterm delivery: TNF-alpha and receptors. *Hum Hered* 2006; 62:107-18.
- 51.Kent AL, Wright IM, Abdel-Latif ME. Mortality and adverse neurologic outcomes are greater in preterm male infants. *Pediatrics* 2012;129:124-31.
- 52.Zeitlin J, Saurel-Cubizolles MJ, De Mouzon J, et al. Fetal sex and preterm birth: are males at greater risk? *Hum Reprod* 2002;17:2762-8.
- 53.Khoury MJ, Marks JS, McCarthy BJ, Zaro SM. Factors affecting the sex differential in neonatal mortality: the role of respiratory distress syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151: 777-82.
- 54.Verloove-Vanhorick SP, Veen S, Ens-Dokkum MH, Schreuder AM, Brand R, Ruys JH. Sex difference in disability and handicap at five years of age in children born at very short gestation. *Pediatrics* 1994;93:576-9.
- 55.Smith GC. Sex, birth weight, and the risk of stillbirth in Scotland, 1980-1996. *Am J Epidemiol* 2000;151:614-9.
- 56.Stevenson DK, Verter J, Fanaroff AA, et al. Sex differences in outcomes of very low birthweight infants: the newborn male disadvantage. *Arch Dis Child* 2000; 83: F182-5.
- 57.McGregor JA, Leff M, Orleans M, Baron A. Fetal gender differences in preterm birth: findings in a North American cohort. *Am J Perinatol* 1992;9:43-8.
- 58.Cooperstock M, Campbell J. Excess males in preterm birth: interactions with gestational age, race, and multiple birth. *Obstet Gynecol* 1996;88:189-93.
- 59.Moore S, Ide M, Randhawa M, Walker JJ, Reid JG, Simpson NA. An investigation into the association among preterm birth, cytokine gene polymorphisms and perinatal disease. *BJOG* 2004;111:125-32.
- 60.Amory JH, Adams KM, Lin MT, Hansen JA, Eschenbach DA, Hitti J. Adverse outcomes after preterm labor are associated with tumor necrosis factor-alpha polymorphism - 863, but not -308, in mother-infant pairs. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1362-7.
- 61.Campbell DM, MacGillivray I, Carr-Hill R, Samphier M. Fetal sex and pre-eclampsia in primigravidae. *Br J Obstet Gynaecol* 1983;90:26-7.
- 62.MacGillivray I, Davey DA. The influence of fetal sex on rupture of the membranes and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153:814-5.
- 63.James WH. Cycle day of insemination, sex ratio of offspring and duration of gestation. *Ann Hum Biol* 1994;21:263-6.
- 64.James WH. Why are boys more likely to be preterm than girls? Plus other related conundrums in human reproduction. *Hum Reprod* 2000;15:2108-11.
- 65.Macones GA, Parry S, Elkousy M, Clothier B, Ural SH, Strauss JF 3rd. 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.
- 66.Wang X, Zuckerman B, Pearson C, Kaufman G, Chen C, Wang G. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA* 2002; 287:241-2.
- 67.Nukui T, Day RD, Sims CS, Ness RB, Romkes M. Maternal/newborn GSTT1 null genotype contributes to risk of preterm, low birthweight infants. *Pharmacogenetics* 2004;14:569-76.
- 68.Greenberg JA, Bell SJ, Guan Y, Yu YH. Folic Acid supplementation and pregnancy: more than just neural tube defect prevention. *Rev Obstet Gynecol* 2011;4:52-9.
- 69.Dhur A, Galan P, Hercberg S. Folate status and the immune system. *Prog Food Nutr Sci* 1991;15:43-60.
- 70.Johnson WG, Scholl TO, Sychala JR, Buyske S, Stenroos ES, Chen X. Common dihydrofolate reductase 19-base pair deletion allele: a novel risk factor for preterm delivery. *Am J Clin Nutr* 2005;81:664-8.
- 71.Bodnar LM, Himes KP, Venkataramanan R, Chen JY, Evans RW, Meyer JL, Simhan HN. Maternal serum folate species in early pregnancy and risk of preterm birth. *Am J Clin Nutr* 2010;92:864-71.
- 72.Malinow MR, Rajkovic A, Duell PB, Hess DL, Upson BM. The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocyst(e)ine suggests a potential role for maternal homocyst(e)ine in fetal metabolism. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:228-33.
- 73.Tchernia G, Blot I, Rey A, Kaltwasser JP, Zittoun J, Papiernik E. Maternal folate status, birthweight and gestational age. *Dev Pharmacol Ther* 1982;4(suppl):58-65.
- 74.Czeizel AE, Puhó EH, Langmar Z, Acs N, Bánhidy F. Possible association of folic acid supplementation during pregnancy with reduction of preterm birth: a population-based study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;148:135-40.
- 75.Muggli EE, Halliday JL. Folic acid and risk of twinning: a systematic review of the recent literature, July 1994 to July 2006. *Med J Aust* 2007;186:243-8.
- 76.Bukowski R, Malone FD, Porter FT, et al. Preconceptional folate supplementation and the risk of spontaneous preterm birth: a cohort study. *PLoS Med* 2009;6:e1000061.
- 77.Chien EK, Tokuyama Y, Rouard M, Phillippe M, Bell GI. Identification of gestationally regulated genes in rat myometrium by use of messenger ribonucleic acid differential display. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:645-52.
- 78.Tashima LS, Millar LK, Bryant-Greenwood GD. Genes upregulated in human fetal membranes by infection or labor. *Obstet Gynecol* 1999;94:441-9.
- 79.Esplin MS, Varner MW. Genetic factors in preterm birth-the future. *BJOG* 2005;112:97-102.
- 80.Varner MW, Esplin MS. Current understanding of genetic factors in preterm birth. *BJOG* 2005 ;112:28-31.
- 81.Baergen R, Benirschke K, Ulich TR. Cytokine expression in the placenta: the role of interleukin 1 and interleukin 1 receptor antagonist expression in chorioamnionitis and parturition. *Arch Pathol Lab Med*

- 1994;118:52-5.
82. Bone RC, Balk RA, Cerra B, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992;101:1644-55.
 83. Srinivas SK, Macones GA. Preterm premature rupture of the fetal membranes: current concepts. *Minerva Ginecol* 2005;57:389-96.
 84. Hartel Ch, Finas D, Ahrens P. Polymorphisms of genes involved in innate immunity: association with preterm delivery *Mol Hum Reprod* 2004;10:911-5.
 85. Nguyen DP, Genc M, Vardhana S, Babula O, Onderdonk A, Witkin SS. Ethnic differences of polymorphisms in cytokine and innate immune system genes in pregnant women. *Obstet Gynecol* 2004;104:293-300.
 86. Romero R, Wu YK, Brody DT, Oyarzun E, Duff GW, Durum SK. Human decidua: a source of interleukin-1. *Obstet Gynecol* 1989;73:31-4.
 87. Vince G, Shorter S, Starkey P, et al. Localization of tumour necrosis factor production in cells at the materno/fetal interface in human pregnancy. *Clin Exp Immunol* 1992; 88:174-80.
 88. Romero R, Sepulveda W, Mazor M, et al. The natural interleukin-1 receptor antagonist in term and preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:863-72.
 89. Bessler H, Osovsky M, Sirota L. Association between IL-1ra gene polymorphism and preterm birth. *Biol Neonate* 2004;85:179-83.
 90. Romero R, Avila C, Santhanam, U, Sehgal PB. Amniotic fluid interleukin 6 in pre-term labor: association with infection. *J Clin Invest* 1990;85:1392-400.
 91. Dudley DJ, Trautman MS, Edwin SS, Lundin-Schiller S, Mitchell MD. Biosynthesis of interleukin-6 by cultured human chorion leave cells: regulation by cytokines. *J Clin Endocrinol Metabol* 1992;75:1081-6.
 92. Simhan HN, Krohn MA, Roberts JM, Zeevi A, Caritis SN. Interleukin-6 promoter -174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:915-8.
 93. Velez DR, Fortunato S, Williams SM, Menon R. Interleukin-6 (IL-6) and receptor (IL6-R) gene haplotypes associate with amniotic fluid protein concentrations in preterm birth. *Hum Mol Genet* 2008;17:1619-30.
 94. Speer EM, Gentile DA, Zeevi A, Pillage G, Huo D, Skoner DP. Role of single nucleotide polymorphisms of cytokine genes in spontaneous preterm delivery. *Hum Immunol* 2006;67:915-23.
 95. Cadet P, Rady PL, Tyring SK, Yandell RB, Hughes TK. Interleukin-10 messenger ribonucleic acid in human placenta: implications of a role for interleukin-10 in fetal allograft protection. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:25-9.
 96. Greig PC, Herbert WNP, Robinette BL, Teot LA. Amniotic fluid interleukin-10 concentrations increase through pregnancy and are elevated in patients with preterm labor associated with intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1223-7.
 97. Heyborne KD, McGregor JA, Henry G, Witkin SS, Abrams JS. Interleukin-10 in amniotic fluid at midtrimester: immune activation and suppression in relation to fetal growth. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:55-9.
 98. Fortunato SJ, Menon R, Swan KF, Lombardi SJ. Interleukin-10 inhibition of interleukin-6 in human amniochorionic membrane: transcriptional regulation. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1057-65.
 99. Roth I, Fisher SJ. IL-10 is an autocrine inhibitor of human placental cytotrophoblast MMP-9 production and invasion. *Dev Biol* 1999; 205:194-204.
 100. Dudley DJ, Edwin SS, Dangerfield A, Jackson K, Trautman MS. Regulation of decidual cell and chorion cell production of interleukin-10 by purified bacterial products. *Am J Reprod Immunol* 1997;38:246-51.
 101. Dudley DJ, Edwin SS, Van Wagoner J, Augustine NH, Hill HR, Mitchell MD. Regulation of decidual cell chemokine production by group B streptococci and purified bacterial cell wall components. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:666-72.
 102. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997;24:1-8.
 103. Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. *Annu Rev Immunol* 1999;17:701-38.
 104. Saito S, Sakai M, Sasaki Y, Tanebe K, Tsuda H, Michimata T. Quantitative analysis of peripheral blood Th0, Th1, Th2 and the Th1:Th2 cell ratio during normal human pregnancy and preeclampsia. *Clin Exp Immunol* 1999;117:550-5.
 105. Rosenwasser LJ, Klemm DJ, Dresback JK, et al. Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin Exp Allergy* 1995;2:74-8.
 106. Wierenga EA, Messer G. Regulation of interleukin 4 gene transcription: alterations in atopic disease? *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:81-5.
 107. Katz Y, Gur S, Aladjem M, Strunk RC. Synthesis of complement proteins in amnion. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2027-32.
 108. Fortunato SJ, Menon R, Swan KF. Amniochorion: A source of interleukin-8. *Am J Reprod Immunol* 1995;34:156-62.
 109. Fowler VM. Capping actin filament growth: Tropomodulin in muscle and nonmuscle cells. *Soc Gen Physiol Ser* 1997;52:79-89.
 110. Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, Cliver SP, Hickey CA. Serum ferritin: A predictor of early spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol* 1996;87:360-5.
 111. Holzman C, Bullen B, Fisher R, Paneth N, Reuss L and the Prematurity Study Group. Pregnancy outcomes and community health: the POUCH study of preterm delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15:136-58.
 112. Majzoub JA, Karalis KP. Placental corticotrophin-releasing hormone: function and regulation. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:242-6.
 113. Engel SA, Erichsen HC, Savitz DA, Thorp J, Chanock SJ, Olshan AF. Risk of spontaneous preterm birth is associated with common proinflammatory cytokine polymorphisms. *Epidemiology* 2001;16:469-77.
 114. Wang H, Parry S, Macones G, et al. A functional SNP in the promoter of the SERPINH1 gene increases risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:13463-7.
 115. Rocnik EF, van der Veer E, Cao H, Hegele RA, Pickering JG. Functional linkage between the endoplasmic reticulum protein Hsp47 and procollagen expression in human vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2002;277:38571-8.
 116. Wang H, Sammel MD, Tromp G, et al. A 12-bp deletion in the 5'-flanking region of the SERPINH1 gene affects promoter activity and protects against preterm premature rupture of membranes in African Americans. *Hum Mutat* 2008; 29:332-7.
 117. Vellido-Ortega F, Estarda-Guierrez G. Role of metalloproteinases in preterm birth. *BJOG* 2005;112:19-22.
 118. Watari M, Watari H, DiSanto ME, Chacko S, Guo-Ping Shi, Strauss, III JF. Pro-Inflammatory Cytokines Induce Expression of Matrix-Metabolizing Enzymes in Human Cervical Smooth Muscle Cells. *Am J Pathol* 1999;154:1755-62.
 119. Wang H, Parry S, Macones G, et al. Functionally significant SNP MMP8 promoter haplotypes and preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Hum Mol Genet* 2004;13:2659-69.
 120. Daneshmand SS, Chmait RH, Moore TR, Bogic L. Preterm premature rupture of membranes: vascular endothelial growth factor and its association with histologic chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1131-6.
 121. Kramer BW, Kaemmerer U, Kapp M, et al. Decreased expression of angiogenic factors in placentas with chorioamnionitis after preterm birth. *Pediatr Res* 2005;58:607-12.
 122. Papazoglou D, Galazios G, Koukourakis MI, Kontomanolis EN, Maltezos E. Association of -634G/C and 936C/T polymorphisms of

- the vascular endothelial growth factor with spontaneous preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:461-5.
123. Ozkur M, Dogulu F, Ozkur A, Gokmen B, Inaloz SS, Aynaciaoglu A. Association of the Gln27Glu polymorphism of the beta-2-adrenergic receptor with preterm labor. *Int J Gynaecol Obstet* 2002;77:209-15.
124. Landau R, Xie HG, Dishy V, et al. Beta2-Adrenergic receptor genotype and preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1294-8.
125. Doh K, Sziller I, Vardhana S, Kovacs E, Papp Z, Witkin SS. Beta2-adrenergic receptor gene polymorphisms and pregnancy outcome. *J Perinat Med* 2004;32:413-7.
126. Norwitz ER, Robinson JN, Challis JR. The control of labor. *New Eng J Med* 1999; 341:660-6.
127. Bertina R, Koeleman B, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-7.
128. Chen D, Hu Y, Chen C, et al. Polymorphisms of the paraoxonase gene and risk of preterm delivery. *Epidemiology* 2004;15:466-70.
129. Orhan H, Onderoglu L, Yucel A, Sahin G. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch Gynecol Obstet* 2003;267:189-95.
130. Raijmakers MT, de Galan-Roosen TE, Schilders GW, Merkus JM, Steegers EA, Peters WH. The Tyr113His polymorphism in exon 3 of the microsomal epoxide hydrolase gene is a risk factor for perinatal mortality. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:1056-60.
131. Kalish RB, Vardhana S, Gupta M, Perni SC, Chasen ST, Witkin SS. Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene at position -308 and the inducible 70 kd heat shock protein gene at position +1267 in multifetal pregnancies and preterm premature rupture of fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1368-74.
132. Kalish RB, Nguyen DP, Vardhana S, Gupta M, Perni SC, Witkin SS. A single nucleotide A>G polymorphism at position -670 in the Fas gene promoter: relationship to preterm premature rupture of fetal membranes in multifetal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:208-12.
133. Romero R, Kuivaniemi H, Tromp G. Functional genomics and proteomics in term and preterm parturition. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2431e4.
134. Marvin KW, Keelan JA, Eykholt RL, Sato TA, Mitchell MD. Use of cDNA arrays to generate differential expression profiles for inflammatory genes in human gestational membranes delivered at term and preterm. *Mol Hum Reprod* 2002;8:399-408.
135. Gravett MG, Novy MJ, Rosenfeld RG, et al. Diagnosis of intra-amniotic infection by proteomic profiling and identification of novel biomarkers. *JAMA* 2004;292:462-9.