

P R A C E O R Y G I N A L N E

położnictwo

Polimorfizm genów receptorów Toll-podobnych typu 2 oraz 4 (TLR-2 i TLR-4) a ryzyko wystąpienia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych – doniesienie wstępne

Polymorphism in the genes of Toll-like receptors type 2 and type 4 (TLR-2 and TLR-4) and the risk of premature rupture of the membranes – preliminary study

Łukaszewski Tomasz¹, Barlik Magdalena¹, Seremak-Mrozikiewicz Agnieszka¹, Kurzawińska Grażyna¹, Mrozikiewicz Przemysław M.², Sieroszewski Piotr³, Drews Krzysztof¹

¹ Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

² Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

³ Klinika Medycyny Płodowej i Ginekologii I Katedry Ginekologii i Położnictwa, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Wstęp: Receptory Toll-podobne (TLR – Toll-like receptors) są częścią podstawowego mechanizmu obrony organizmu przed infekcją, jak również rozpoznają grupowe struktury drobnoustrojów, co w efekcie wzmacnia odpowiedź immunologiczną gospodarza. Wykazano istotny związek ekspresji receptorów TLR z występowaniem zakażenia wewnątrzrodniowego (IAI) oraz porodu przedwczesnego. Sugeruje się zatem wpływ polimorfizmów genów TLR-2 i -4 na ryzyko wystąpienia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych (PROM) oraz na wiążące się z nim ryzyko infekcji wewnątrzrodniowej i porodu przedwczesnego.

Cel pracy: Celem pracy była ocena częstości występowania polimorfizmu Arg753Gln (G20877A) w genie TLR2 oraz polimorfizmu Thr399Ile (C8993T) w genie TLR-4 w grupie kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych i porodem przedwczesnym.

Materiał i metody: Do badań włączono 33 kobiety, u których rozpoznano przedwczesne pęknięcie błon płodowych między 30 a 36 tygodniem ciąży, natomiast grupę kontrolną stanowiło 60 zdrowych ciężarnych. Polimorfizm Arg753Gln genu TLR-2 oraz Thr399Ile genu TLR-4 analizowano za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy oraz metody polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR/RFLP).

Wyniki: Dla polimorfizmu G20877A genu TLR-2 częstość występowania heterozygot GA w grupie kobiet z PROM wynosiła 9,1% i była porównywalna z częstością występowania heterozygot GA w grupie kontrolnej (8,3%, $p=ns$). Również częstość występowania zmutowanego allela G była porównywalna pomiędzy obydwoma badanymi grupami (4,6% w grupie z PROM oraz 4,2% w grupie kontrolnej, $p=ns$).

Dla polimorfizmu C8993T genu TLR-4 zaobserwowano mniejszą częstość występowania genotypu heterozygotycznego CT w badanej grupie kobiet z PROM w porównaniu do grupy kontrolnej (9,1 vs 16,7%). Odnotowano również większą częstość występowania genotypu homozygotycznego CC w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej (90,0 vs 83,3%, $p=ns$), przy jednocześnie stosunkowo dużej wartości współczynnika ryzyka $OR=2,0$. Podobne obserwacje przeprowadzono analizując częstość występowania alleli w obydwu badanych grupach.

Adres do korespondencji:

Tomasz Łukaszewski
Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu
60-535 Poznań, ul. Polna 33
tel. 0618419613; fax: 0618474651; e-mail: lukaszewski_tomasz@o2.pl

Otrzymano: 10.08.2009
Zaakceptowano do druku: 15.11.2009

Wnioski: Przewaga występowania heterozygotycznego genotypu CT oraz zmutowanego allele T dla polimorfizmu C8993T w genie TLR-4 w grupie kontrolnej zdrowych ciężarnych może sugerować jego ochronną rolę w stosunku do występowania PROM. Obserwacje te wymagają potwierdzenia w większej grupie kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych.

Słowa kluczowe: **ciąża / przedwczesne pęknięcie błon płodowych / poród przedwczesny / receptory Toll-podobne / polimorfizm genetyczny /**

Summary

Introduction: Toll-like receptors (TLR) -2 and -4 are a part of basic defence mechanism protecting against bacterial infections. They recognize microbial products and increase immune response of the host organism. The relationship between the expression of TLR receptors and the occurrence of intraamniotic infection (IA) as well as preterm labour was demonstrated. Therefore, a relationship between TLR-2 and -4 genes polymorphism, premature rupture of membranes (PROM), intraamniotic infection and preterm labour is claimed to exist.

Aim: The aim of the following study was to evaluate the frequency of two genetic polymorphisms: Arg753Gln (G20877A) in TLR-2 and Thr399Ile (C8993T) in TLR-4 genes in a group of pregnant women with preterm rupture of membranes and preterm labour.

Material and methods: 33 pregnant women with the diagnosis of preterm – between 30 and 36 weeks of gestation – rupture of membranes (study group), and 60 healthy pregnant women (controls) were enrolled into the study. To analyse Arg753Gln polymorphism of TLR-2 gene and Thr399Ile polymorphism of TLR-4 gene, polymerase chain reaction and restriction fragments length polymorphism (PCR/RFLP) were used.

Results: For G20877A polymorphism in TLR-2 gene, the frequency of heterozygous GA genotype in the study group was 9.1% and was comparable with the control group (8.3%, $p=ns$). Moreover, frequency mutated G allele was comparable in both examined groups (4.6% in the study group and 4.2% in the control group, $p=ns$).

For C8993T polymorphism in TLR-4 gene, heterozygous CT genotype was less frequent in the study group in comparison with the control group (9.1 vs. 16.7%). The homozygous CC genotype was more frequent in the study group (90.0 vs 83.3%, $p=ns$), with relatively high value of the odds ratio ($OR=2,0$). Similar observations were conducted by analysing the frequencies of the alleles in both examined groups.

Conclusion: Overrepresentation of heterozygous CT genotype and mutated T allele of C8993T polymorphism in TLR-4 gene in the control group may indicate that, possibly, it plays a protective role against PROM. However, this hypothesis requires further investigation on a larger group of patients with premature rupture of membranes.

Key words: **pregnancy / preterm rupture of membranes / preterm labour / Toll-like receptors / genetic polymorphism /**

Wstęp

Receptory Toll-podobne (*Toll like receptors* – TLR) są częścią podstawowego mechanizmu obrony organizmu przed infekcją – odporności wrodzonej. Układ ten jest filogenetycznie starszy od odporności nabytej i charakteryzuje się szybszą, niespecyficzną i niewymagającą wcześniejszej ekspozycji na antygen reakcją. Omawiane receptory są ogniwem łączącym odporność swoistą z nieswoistą. TLR są przykładem tzw. „receptorów rozpoznających wzorce” (*pattern recognition receptors* – PRR), które rozpoznają grupowe struktury drobnoustrojów, co w efekcie wznaga odpowiedź immunologiczną gospodarza. Ponadto obecność receptorów Toll-podobnych umożliwia komórkom odpowiedź immunologiczną na odróżnienie antygenów własnych od obcych [1, 2].

Wśród komórek rozpoznających patogeny przy pomocy TLR znajdują się m. in. komórki układu immunologicznego (makrofagi, komórki dendrytyczne, komórki tuczne, eozynofile, neutrofile, limfocyty B), komórki nabłonkowe, komórki śródbłonna czy kardiomiocyty. Efektem pobudzenia TLR jest m.in. uwolnienie czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (*nuclear factor- κ B*, czynnik jądrowy κ B), który następnie wnika do jądra komórkowego i indukuje ekspresję genów kodujących cytokiny prozapalne (np. interleukina-1, czynnik martwicy nowotworów), chemokiny (np. interleukina-8) czy białka przeciwbakteryjne (defensyny).

Uważa się również, że ekspresję receptorów Toll-podobnych wykazują komórki trofoblastu – ma to istotny związek z wpływem infekcji wewnątrzmacicznej na zwiększone ryzyko wystąpienia porodu przedwczesnego czy stanu przedrzucawkowego. TLR-2 oraz TLR-4 rozpoznają najczęstsze patogeny wywołujące zakażenie wewnątrzrodniowe [1, 2, 3].

Opisano 15 typów receptorów TLR [4]. Łączą się one z wybranymi ligandami oraz wykazują różną ekspresję na komórkach układu immunologicznego. Zaburzenia ich funkcji mają wpływ na właściwości obronne organizmu, co może mieć znaczne implikacje kliniczne [1, 2, 3]. TLR-2 wykazuje powinowactwo do licznych ligandów znajdujących się zarówno na powierzchni bakterii Gram-dodatnich, *Neisseria sp.*, (np. peptydoglikan, kwas lipoteichojowy czy poryny) oraz grzybów (zymosan). Natomiast TLR-4 łączy się przede wszystkim z lipopolisacharydem (LPS) stanowiącym amfilowy integralny składnik zewnętrznej błony komórkowej osłonybakterii gram ujemnych (np. *Escherichia coli*) [1].

Znaczenie omawianych receptorów nie ogranicza się tylko do ich roli w procesach immunologicznych. W licznych doniesieniach badano związek polimorfizmów TLR-2 i TLR-4 z powikłaniami położniczymi, takimi jak przedwczesne pęknięcie błon płodowych, stan przedrzucawkowy/rzucawka, czy występowanie bakteryjnej waginozy u kobiet ciężarnych [5, 6, 7, 8, 3].

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych (*premature rupture of membranes* – PROM) należy do częstych patologii położniczych – występuje w 2-4% wszystkich ciąży i jest przyczyną ok. 1/3 porodów przedwczesnych. Spośród czynników ryzyka przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, zakażenie wydaje się być najczęstszą przyczyną tego powikłania. Ostatnie badania wskazują, że błony płodowe nie stanowią jedynie bariery mechanicznej dla patogenów, ale również wyposażone są w receptory PRR i umożliwiają uruchomienie mechanizmów odporności wrodzonej [10, 11, 12, 13, 14].

Opierając się na powyższych doniesieniach badano wpływ polimorfizmów genów TLR-2 i -4 na ryzyko wystąpienia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, związku z zakażeniem wewnątrzrodniowym oraz porodem przedwczesnym.

Cel pracy

Ocena częstości polimorfizmu *Arg753Gln* (*G20877A*) w genie TLR-2 oraz polimorfizmu *Thr399Ile* (*C8993T*) w genie TLR-4 w grupie kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych i porodem przedwczesnym.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiły 33 kobiety (średnia wieku 29,6±3,9 lat), u których rozpoznano przedwczesne pęknięcie błon płodowych między 30 a 36 tygodniem ciąży. Średni tydzień zakończenia ciąży w tej grupie kobiet wynosił 33,2±4,6 tygodni. Wiek ciążowy ustalano na podstawie daty ostatniej miesiączki, regularności cykli miesięczkowych oraz analizy biometrycznej w kolejnych badaniach ultrasonograficznych. Pęknięcie błon płodowych i odpływanie płynu owodniowego rozpoznawano w badaniu z użyciem wziernika dopochwowego i potwierdzano poprzez badanie obecności komórek oranżowych oraz ultrasonograficzny pomiar ilości płynu owodniowego w jamie macicy. Grupę kontrolną stanowiło 60 zdrowych ciężarnych (średnia wieku 28,8±3,4 lat, średni tydzień zakończenia ciąży 39,1±1,1 tygodni).

Pacjentki z obu grup należały do rasy kaukaskiej oraz były narodowości polskiej. Wszystkie kobiety zostały poinformowane o celowości badania i wyraziły zgodę na jego przeprowadzenie. Uzyskano również zgodę Komisji Bioetycznej UM w Poznaniu nr 136/06.

Polimorfizm *Arg753Gln* genu TLR-2 oraz *Thr399Ile* genu TLR-4 analizowano za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy oraz metody polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (*polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism* – PCR/RFLP,).

Izolacje DNA z leukocytów przeprowadzono za pomocą komercyjnego zestawu do izolacji QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN Inc., Niemcy). Sekwencje starterów dla TLR-2 były następujące: GAG TGG TGC AA GTA TGA ACT GGA, TCC CAA CTA GAC AAA GAC TGG TCT, natomiast dla TLR-4: TGG CAA CAT TTA GAA TTA GTT AAC, CTC AGA TCT AAA TAC TTT AGG CCG (TibMolBioI, Polska).

Wynik reakcji PCR sprawdzano w 2% żelu agarozowym przy napięciu 80 V. Uzyskane produkty PCR dla TLR-2 wielkości 262 par zasad i dla TLR-4 wielkości 227 par zasad poddawano hydrolizie enzymem restrykcyjnym *Pst*I (dla TLR-2) i *Msp*I (dla TLR-4). Hydrolizę prowadzono w temperaturze 37°C przez 16 godz. Wynik trawienia analizowano w 3% żelu agarozowym w świetle UV.

Po trawieniu uzyskiwano następujące fragmenty dla poszczególnych genotypów TLR-2 (polimorfizm *Arg753Gln* (*G20877A*)): homozygota *GG* – 262 par zasad (pz), heterozygota *GA* – 262 pz, 134 pz, 128 pz, homozygota *AA* – 134 pz, 128 pz oraz TLR-4 (polimorfizm *Thr399Ile* (*C8993T*)): homozygota *CC* – 203 pz, 24 pz, heterozygota *CT* 227 pz, 203 pz, 24 pz, homozygota *TT* – 227 pz. Przykładowy obraz rozdziału fragmentów po elektroforezie dla polimorfizmu *Thr399Ile* (*C8993T*) genu TLR-4 zamieszczono poniżej. (Fot. 1).

Do analizy statystycznej zastosowano program SPSS vs 13.0 PL for Windows, za statystycznie istotną wartość $p < 0,05$. Otrzymane rezultaty podawano z 95% przedziałem ufności (CI) zarówno dla otrzymanych alleli, jak i genotypów. Dla częstości występowania genotypów i alleli obliczano współczynnik ryzyka (OR). Wzajemne korelacje badanych polimorfizmów genetycznych wyznaczano za pomocą testu Pearsona. Wartości obserwowane porównywano z wartościami oczekiwanymi (WO), które obliczano z częstości występowania alleli danego genu na podstawie prawa Hardy-Weinberga. Wartości średnie danych klinicznych pomiędzy poszczególnymi grupami porównywano za pomocą testu *U*-Manna-Whitneya.

Wyniki

Dla polimorfizmu *G20877A* genu TLR-2 częstość występowania heterozygot *GA* w grupie kobiet z PROM wynosiła 9,1% i była porównywalna z częstością występowania heterozygot *GA* w grupie kontrolnej (8,3%, $p = ns$). Również częstość występowania zmutowanego allela *G* była porównywalna pomiędzy obydwo badanymi grupami (4,6% w grupie z PROM oraz 4,2% w grupie kontrolnej). Nie odnotowano różnic statystycznie istotnych pomiędzy grupami. (Tabela I).

Dla polimorfizmu *C8993T* genu TLR-4 obserwowano mniejszą częstość występowania genotypu heterozygotycznego *CT* w badanej grupie kobiet z PROM w porównaniu do grupy kontrolnej (9,1 vs 16,7%). Odnotowano również większą częstość występowania genotypu homozygotycznego *CC* w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej (90,0 vs 83,3%), przy jednocześnie stosunkowo dużej wartości współczynnika ryzyka $OR = 2,0$. Różnice pomiędzy grupami nie były statystycznie istotne. Podobne obserwacje przeprowadzono przy analizie częstości występowania alleli w obydwu badanych grupach, gdzie obserwowana częstość występowania allela *T* w grupie kontrolnej była zdecydowanie wyższa (8,3 vs 4,6%). (Tabela II).

Dyskusja

Polimorfizmy genów TLR, w tym także polimorfizm *Arg753Gln* genu TLR-2 oraz *Thr399Ile* genu TLR-4 są tematem wielu publikacji. Dyskutuje się ich udział w patogenezie nieswoistych zapaleń jelit oraz zakażenia *Helicobacter pylori*, co sprzyja rozwojowi przewlekłego zapalenia błony śluzowej żołądka i, w konsekwencji, raka żołądka [15, 16, 17]. Polimorfizm *Thr399Ile* genu TLR-4 pozostaje w ścisłym związku z ryzykiem rozwoju wrzodziejącego zapalenia jelita grubego [18].

Pabst i wsp. badali znaczenie polimorfizmu *Thr399Ile* genu TLR-4 u 141 pacjentów z sarkoidozą oraz u 141 osób zdrowych. Stwierdzono związek tego wariantu z przewlekłym przebiegiem sarkoidozy [19]. Jednak ta korelacja nie została potwierdzona w pracy Schurmann i wsp., gdzie grupa badana składała się aż z 1203 pacjentów z sarkoidozą [20].

Tabela I. Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmu G20877A genu TLR-2.

TLR-2	Grupa badana		Kontrola		OR	95% CI	p
	n (%) obserwowane	n (%) oczekiwane	n (%) obserwowane	n (%) oczekiwane			
GG	30 (90,9)	91,0	55 (91,7)	91,8	0,9	0,16-6,26	0,59
GA	3 (9,1)	8,8	5 (8,3)	8,0	1,1	0,15-6,10	0,59
AA	0 (0,0)	0,2	0 (0,0)	0,2	-	-	-
Suma	33 (100,0)	100,0	60 (100,0)	100,0			
Allele							
G	63 (95,4)	-	115 (95,8)	-	0,9	0,17-6,07	0,58
A	3 (4,6)	-	5 (4,2)	-	1,1	0,16-5,84	0,58
Suma	66 (100,0)		120 (100,0)				

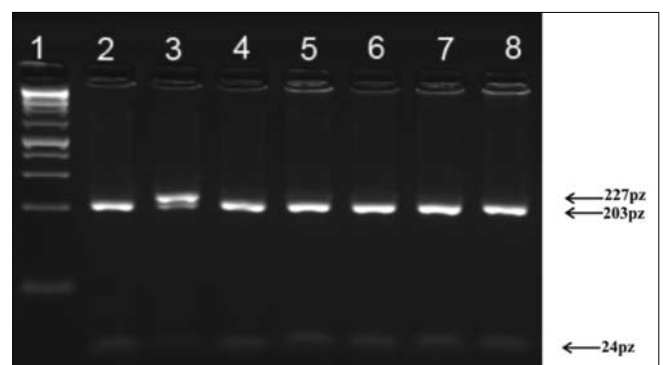
Tabela II. Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmu C8993T genu TLR-4.

TLR-4	Grupa badana		Kontrola		OR	95% CI	p
	n (%) obserwowane	n (%) oczekiwane	n (%) obserwowane	n (%) oczekiwane			
CC	30 (90,9)	91,0	50 (83,3)	84,1	2,0	0,46-12,11	0,24
CT	3 (9,1)	8,8	10 (16,7)	15,2	0,5	0,08-2,16	0,24
TT	0 (0,0)	0,2	0 (0,0)	0,7	-	-	-
Suma	33 (100,0)	100,0	60 (100,0)	100,0			
Allele							
C	63 (95,4)	-	110 (91,7)	-	1,9	0,46-11,15	0,25
T	3 (4,6)	-	10 (8,3)	-	0,5	0,08-2,14	0,25
Suma	66 (100,0)		120 (100,0)				

Wskazuje się również na wpływ badanych polimorfizmów genów TLR na upośledzenie reakcji obronnej organizmu w odpowiedzi na zakażenie przez niektóre bakterie i wirusy, w tym między innymi na zakażenie RSV (*Respiratory Syncytial Virus*). Sugeruje się, że polimorfizm *Thr399Ile* genu TLR-4 wiąże się z nieprawidłową odpowiedzią na zakażenie RSV, co skutkuje ciężkim przebiegiem tej infekcji szczególnie u dzieci [21].

Polimorfizmy *Arg753Gln* genu TLR-2 oraz *Thr399Ile* genu TLR-4 były opisywane również w grupach chorych z przewlekłym i ostrym stanem zapalnym. Rozważa się wpływ powyższych polimorfizmów na rozwój zeszytniającego zapalenia stawów kręgosłupa, czy ciężkość przebiegu gorączki reumatycznej [22, 23]. Polimorfizm *Arg753Gln* genu TLR-2 prawdopodobnie może mieć wpływ na wystąpienie gorączki reumatycznej u dzieci, co zostało przedstawione w pracy Berdeli i wsp. [24].

Niewiele jest natomiast doniesień na temat wpływu polimorfizmów genów receptorów TLR na rozwój patologii położniczych. Dostępne prace wskazują na udział receptorów Toll-podobnych w rozwoju bakteryjnej waginozy u kobiet ciężarnych, wystąpieniu zakażenia wewnątrzrodniowego, przedwczesnego pęknięcia błon płodowych i porodu przedwczesnego, czy wystąpienia stanu przedrzucawkowego [3, 6, 5, 7, 8].



Fot. 1. Analiza genotypów polimorfizmu *Thr399Ile* (C8993T) genu TLR-4 po hydrolizie enzymem restrykcyjnym *MspI*. Tor 1 – marker wielkości DNA, tor 2, 4, 5, 6, 7, 8 – homozygota niezmutowana CC, tor 3 – heterozygota CT.

Szczególnie interesujący jest wpływ wariantów genetycznych receptorów TLR na wystąpienie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych i zakażenia wewnątrzrodniowego.

Tym bardziej, że TLR-2 i 4 wykazują powinowactwo do ligandów obecnych na powierzchni najczęstszych patogenów związanych z PROM. Drugim aspektem jest związek przedwczesnego pęknięcia błon i zakażenia wewnątrzrodniowego z wcześniactwem, gdzie badania wariantów genetycznych mogą być pomocne w przyszłości w ustaleniu właściwego postępowania profilaktycznego i terapeutycznego u ciężarnych.

Istotną rolę procesów odporności wrodzonej oraz receptorów Toll-podobnych wskazano w przebiegu pęknięcia błon płodowych i zakażenia wewnątrzrodniowego. W pracy Kim i wsp. analizowano lokalizację receptorów TLR-2 i TLR-4 oraz zmianę ekspresji tych receptorów w błonach płodowych pozalóżyskowych w grupie kobiet z zakażeniem wewnątrzrodniowym, u których wystąpił poród przedwczesny, z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych oraz ciężarne z prawidłowym przebiegiem ciąży, u których ciąża zakończyła się po 37 tygodniu. Wykazano, że poród o czasie lub przedwczesny przy współistnieniu zakażenia wewnątrzrodniowego wiąże się ze zwiększoną ekspresją TLR-2 oraz TLR-4 w błonach płodowych [3].

Bardzo ważną rolę w rozpoznawaniu patogenów i w odpowiedzi na inwazję patogenów pełnią również komórki trofoblastu, w których wykazano ekspresję receptorów Toll-podobnych. Jednostka łożyskowo-płodowa stanowi unikalną strukturę z punktu widzenia immunologii. Z jednej strony promuje tolerancję allogenicznych antygenów płodu, z drugiej natomiast pełni istotną rolę w ochronie organizmu płodu przed inwazją patogenów w przebiegu infekcji wewnątrzmacicznej. Prawidłowy przebieg procesów odporności nabytej, której częścią są receptory TLR ma więc istotny wpływ na przebieg ciąży. Abrahams i wsp. uważają, że pobudzenie TLR-4 wzmacnia produkcję cytokin, natomiast aktywacja receptorów TLR-2 indukuje apoptozę komórek trofoblastu. Tą drogą infekcja wewnątrzmaciczna wpływa na śmierć komórek trofoblastu, skutkując m.in. ograniczeniem wzrostu płodu, rozwojem stanu przedrzucawkowego czy porodem przedwczesnym [2].

W pracy Kim i wsp. zwrócono uwagę na patogenetyczny związek TLR-4 z preeklampsją. Autorzy wykazali nadmierną aktywację układu odporności wrodzonej oraz zwiększoną ekspresję TLR-4 na komórkach trofoblastu u ciężarnych z preeklampsją. Ponadto różnice w ekspresji TLR wpływają prawdopodobnie na wadliwą inwazję trofoblastu do ścian tętnic spiralnych w przebiegu preeklampsji. W pracy zasugerowano, że patogeny jak i substancje pochodzące z rozpadu komórek gospodarza rozpoznawane przez TLR-4 zapoczątkowują nieprawidłowy ciąg reakcji nadzorowanych przez cytokiny, który w końcowym etapie prowadzi do rozwoju preeklampsji. Jakkolwiek związek infekcji z rozwojem stanu przedrzucawkowego nie jest jeszcze dobrze udokumentowany, to wykazano, że lipopolisacharyd (główny ligand TLR-4) upośledza migrację komórek trofoblastu, a ponadto dodatkowo wzmacnia ekspresję TLR-4 [6].

Bakteryjna waginoza jest stwierdzana u około 40% ciężarnych kobiet. Stan ten może być przyczyną poronienia, zakażenia wewnątrzrodniowego, porodu przedwczesnego czy małej masy urodzeniowej noworodka. W pracy Genc i wsp. skupiono uwagę na związku polimorfizmu 896A>G genu TLR-4 z kolonizacją pochwy przez bakterie z gatunku *Gardnerella vaginalis*

i Gram-ujemne beztlenowce. Autorzy wykazali wyższe stężenie IL-1 w pochwie kobiet o genotypie TLR-4 896AA (homozygota) niż w przypadku homozygot TLR-4 896GG (w obu przypadkach stwierdzano kolonizację pochwy wyżej wymienionymi bakteriami). Ponadto stężenie *G.vaginalis* oraz Gram-ujemnych beztlenowców było 10-krotnie wyższe w przypadku obecności allele G (TLR -4 896G). Stąd wniosek, że u nosicieli allele 896G odpowiedź zapalna jest słabsza, co ułatwia namnażanie drobnoustrojów [5, 8, 7].

Receptory Toll-podobne pierwotnie kojarzone wyłącznie z układem odpornościowym okazały się mieć znacznie większe znaczenie w funkcjonowaniu organizmu. Biorąc pod uwagę ich możliwy udział w patogeniezie wielu przedstawionych powikłań położniczych dalsze badania w tym kierunku znajdują pełne uzasadnienie.

Wnioski

1. Przewaga występowania heterozygotycznego genotypu CT oraz zmutowanego allele T dla polimorfizmu C8993T w genie TLR-4 w grupie kontrolnej zdrowych kobiet ciężarnych może sugerować jego ochronną rolę w stosunku do występowania PROM.
2. Obserwacje te wymagają potwierdzenia w większej grupie kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych.

Praca finansowana ze środków pieniężnych grantu Nr 406 061 31/2330.

Praca zgłoszona na XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego „Jakość życia kobiety – Salus feminae suprema lex esto” w dniach 16-19 września 2009 roku w Lublinie

Piśmiennictwo

1. Majewska M, Szczepanik M. Rola receptorów Toll-podobnych (TLR) w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej. *Post Hig Med Dośw.* 2006, 60, 52-63.
2. Abrahams V, Mor G. Toll-like Receptors and their Role in the Trophoblast. *Placenta.* 2005, 26, 540-547.
3. Kim Y, Romero R, Chaiworapongsa T, [et al.]. Toll-like receptor-2 and -4 in the chorioamniotic membranes in spontaneous labor at term and in preterm parturition that are associated with chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol.* 2004, 191, 1346-1355.
4. Davila S, Hibberd M, Hari Dass R, [et al.]. Genetic Association and Expression Studies Indicate a Role of Toll-Like Receptor 8 in Pulmonary Tuberculosis. *PLoS Genet.* 2008, 4, e1000218.
5. Genc M, Vardhana S, Delaney M, [et al.]. Relationship between a toll-like receptor-4 gene polymorphism, bacterial vaginosis-related flora and vaginal cytokine responses in pregnant women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004, 116, 152-156.
6. Kim Y, Romero R, Oh S, [et al.]. Toll-like receptor 4: A potential link between „danger signals”, the innate immune system, and preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol.* 2005, 193, 921-927.

Łukaszewski T, et al.

7. Goepfert A, Varner M, Ward K, [et al.]. Differences in inflammatory cytokine and Toll-like receptor genes and bacterial vaginosis in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2005, 193, 1478-1485.
8. Reza Zariffard M, Novak R, Lurain N, [et al.]. Induction of Tumor Necrosis Factor- α Secretion and Toll-Like Receptor 2 and 4 mRNA Expression by Genital Mucosal Fluids from Women with Bacterial Vaginosis. *J Infect Dis.* 2005, 191, 1913-1921.
9. Kalinka J, Bitner A. Ocena związku polimorfizmów genów kodujących – wybrane cytokiny z występowaniem porodu przedwczesnego w populacji kobiet polskich. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 111-117.
10. ACOG. Practice Bulletin No 80. Premature rupture of membranes. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2007, 1007-1019.
11. Melis G, Orru M, Uras R, [et al.]. Chorioamnionitis. *J Chemother.* 2007, 2, 19 Suppl., 17-19.
12. Mercer B. Preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol.* 2003, 101, 178-193.
13. Mercer B. Preterm premature rupture of the membranes: diagnosis and management. *Clin Perinatol.* 2004, 31, 765-782.
14. Goldenberg R, Culhane J. Infection as a cause of preterm birth. *Clin Perinatol.* 2003, 677-700.
15. Hong J, Leung E, Fraser A, [et al.]. TLR2, TLR4 and TLR9 polymorphisms and Crohn's disease in a New Zealand Caucasian Cohort. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007, 22, 1760-1766.
16. Santini D, Angeletti S, Ruzzo A, [et al.]. Toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms in gastric cancer of intestinal and diffuse histotypes. *Clin Exp Immunol.* 2008, 154, 360-364.
17. Achyut B, Ghoshal U, Moorchung N, [et al.]. Association of Toll-like receptor-4 (Asp299Gly and Thr399Ile) gene polymorphisms with gastritis and precancerous lesions. *Hum Immunol.* 2007, 68, 901-907.
18. Torok H, Glas J, Tonenchi L, [et al.]. Polymorphisms of the lipopolysaccharide-signaling complex in inflammatory bowel disease: association of a mutation in the Toll-like receptor 4 gene with ulcerative colitis. *Clin Immunol.* 2004, 112, 85-91.
19. Pabst S, Baumgarten G, Stremmel A, [et al.]. Toll-like receptor (TLR) 4 polymorphisms are associated with a chronic course of sarcoidosis. *Clin Exp Immunol.* 2006, 143, 420-426.
20. Schurmann M, Kwiatkowski R, Albrecht M, [et al.]. Study of Toll-like receptor gene loci in sarcoidosis. *Clin Exp Immunol.* 2008, 152, 423-431.
21. Tulic M, Hurrelbrink R, Prele C, [et al.]. TLR4 polymorphisms mediate impaired responses to respiratory syncytial virus and lipopolysaccharide. *J Immunol.* 2007, 179, 132-140.
22. Na K, Kim T, Rahman P, [et al.]. Analysis of single nucleotide polymorphisms in Toll-like receptor 4 shows no association with ankylosing spondylitis in a Korean population. *Rheumatol Int.* 2008, 28, 627-630.
23. Kutukculer N, Yeniay B, Aksu G, [et al.]. Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor-2 gene in children with recurrent febrile infections. *Biochem Genet.* 2007, 45, 507-514.
24. Berdeli A, Celik H, Ozyurek R, [et al.]. TLR-2 gene Arg753Gln polymorphism is strongly associated with acute rheumatic fever in children. *J Mol Med.* 2005, 83, 535-541.