

Znaczenie czynników genetycznych w etiologii porodu przedwczesnego

The significance of genetic factors in aetiology of preterm delivery

Seremak-Mrozikiewicz Agnieszka, Drewno Krzysztof

Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie

Duża częstość występowania porodu przedwczesnego (PTD – preterm delivery) (w Polsce około 7,2 do 8,4% wszystkich ciąż) skłania do poszukiwania metod wczesnego rozpoznawania oraz prewencji tego powikłania. Samoistny poród przedwczesny jest chorobą o podłożu wieloczynnikowym, w której wskazywana jest również możliwa rola czynników genetycznych i środowiskowych. Na występowanie PTD mogą mieć wpływ geny cytokin biorące udział w modulacji odpowiedzi zapalnej, geny metaloproteinaz, czy geny układu krzepnięcia i fibrylizacji.

Badania populacyjne wykonane do tej pory obejmują dokładną, indywidualną ocenę czynników ryzyka oraz wywiadu u kobiet, u których zaobserwowano tendencję do pojawiania się PTD i wskazują na genetyczną rodzinną skłonność do występowania porodu przedwczesnego. Innym kierunkiem badań jest wybór genów kandydujących zaangażowanych bezpośrednio lub w sposób pośredni w szlaki patofizjologiczne prowadzące do rozwoju tego powikłania. Aktualne badania pozwoliły na wysunięcie szeregu genów kandydujących związanych ze zwiększeniem ryzyka rozwoju PTD. Dalszym etapem jest rodzinna analiza molekularna polimorfizmu genów kandydujących zarówno u kobiet z obciążonym wywiadem, jak i u krewnych pierwszego i drugiego stopnia (matek, babek, siostr). Coraz więcej prac poświęconych jest, obok indywidualnej predyspozycji genetycznej, także możliwej interakcji pomiędzy genotypem a czynnikami środowiskowymi prowadzącymi do rozwoju PTD.

W pracy podsumowano najnowsze kierunki badań w zakresie genetycznych podstaw porodu przedwczesnego.

Słowa kluczowe: **poród przedwczesny / czynniki genetyczne**

Abstract

The high prevalence of preterm delivery (PTD) (7,2 to 8,4% in Poland) may suggest that much more attention should be paid to the early detection, as well as prevention, of this condition. Spontaneous preterm birth is a multifactorial disease, with possible genetic and environmental determining factors. Genes of cytokines modulating the immunological answer, genes of metalloproteinases and genes of coagulation cascade and fibrinolysis may have a significant involvement in the development of PTD.

Population studies conducted so far comprise exact, individual evaluation of risk factors in women with tendency to PTD and have indicated a genetic susceptibility to PTD occurrence. Another direction of research is the investigation of candidate genes which are directly or indirectly involved in the biochemical pathways related to the disease. Current studies allow to define several candidate genes predisposing to PTD. The next step is the family molecular analysis of candidate gene polymorphisms both: in women with burdened anamnesis and first and second degree relatives (mothers, grandmothers, sisters).

Adres do korespondencji:

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz
Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety, Katedra Perinatologii i GinekologiiUM w Poznaniu
ul. Polna 33, 60-535 Poznań
e-mail: asm@data.pl

Otrzymano: 5.06.2006

Zaakceptowano do druku: 18.01.2007

Seremak-Mrozikiewicz A, et al.

Numerous studies, besides the individual genetic predisposition, focus on the possible gene-environmental interactions and their role in the development of PTD.

In this manuscript we have summarized the current researches of genetic basis of preterm delivery.

Key words: **preterm delivery / genetic factors**

Wstęp

Mimo znacznego postępu wiedzy, dużej ilości badań w medycynie perinatalnej oraz wskazania wielu czynników ryzyka wystąpienia porodu przedwczesnego (PTD – *preterm delivery*) częstość tego powikłania od lat pozostaje na podobnym poziomie. W Polsce występowanie PTD szacuje się na około 7,2 do 8,4% wszystkich ciąż [1], w USA natomiast procent ten waha się od około 11,0 do 12,5% (11,9% w roku 2002, 12,3% w roku 2003) [2].

Spojrzenie na etiopatogenezę porodu przedwczesnego w ostatnim czasie zmienia się i obecnie przyjmuje się jego wieloczynnikowe podłoże. Znane i dobrze już udokumentowane czynniki związane z etiologią porodu przedwczesnego to warunki socjalno-ekonomiczne, w tym niski status życia, bardzo młody lub zaawansowany wiek matki, czynnik stresowy, palenie papierosów i alkoholizm. W dużym stopniu poród przedwczesny jest następstwem wad wrodzonych w budowie macicy, ciąży bliźniaczej, czy niewydolności cieśniowo-szyjkowej. Około 25% porodów odbytych przed czasem związane jest z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych (PROM – *premature rupture of membranes*) i wystąpieniem zakażenia wewnątrzrodzeniowego (IAI – *intra-amniotic infection*) [1, 3].

Osobnym zagadnieniem są również badania dotyczące procesów patofizjologicznych, które mają wpływ na wystąpienie porodu przedwczesnego. W ciągu ostatnich kilku lat zwrócono uwagę na znaczenie czynników genetycznych, które warunkując indywidualną odpowiedź organizmu matki mogą mieć wpływ na rozwój tego powikłania. Przeprowadzane badania podstaw genetycznych PTD często skupiają się na analizie grup kobiet ciężarnych, u których wystąpił poród przedwczesny oraz zbieraniu dokładnego wywiadu rodzinnego w kierunku występowania PTD.

Nie mniej interesującym kierunkiem jest wybór genów kandydujących związanych z procesami patofizjologicznymi w rozwoju porodu przedwczesnego. Coraz więcej studiów wiąże razem badania kliniczne, epidemiologiczne i molekularne oraz podejmuje analizę interakcji pomiędzy genotypem a czynnikami środowiska modyfikującymi występowanie danego fenotypu, a zarazem osobniczą podatność kobiet na wystąpienie PTD [4, 5, 6, 7, 8].

Badania epidemiologiczne

Badania epidemiologiczne dotyczące udziału czynników genetycznych w etiologii PTD przeprowadzane są wielokierunkowo. Obejmują one dokładną analizę grup kobiet, u których wystąpiło to powikłanie (wiek badanych kobiet, długość czasu trwania ciąży, powtarzające się porody przedwczesne), w tym także indywidualną ocenę czynników ryzyka oraz wywiadu w rodzinach kobiet, u których zaobserwowano tendencję do pojawiania się PTD [7, 9, 8]. Obserwacja korelacji odnosi się przede wszystkim do krewnych pierwszego i drugiego

stopnia (obecność obciążonego wywiadu w kierunku PTD u matki, babki, siostry). Rezultaty przeprowadzonych dotąd badań wskazują na dziedziczne uwarunkowanie występowania PTD. Wykazano wyższą częstość występowania przedwczesnych porodów w grupie kobiet, które same pochodzą z ciąż zakończonych przedwcześnie [10], jak również tendencję do powtarzających się porodów przedwczesnych u kobiet, u których co najmniej jedna ciąża zakończyła się porodem przed czasem. Zauważa się także tendencję do ukończenia kolejnych ciąż w tym samym wieku ciążowym. W badaniu przeprowadzonym w Szkocji obejmującym 6072 kobiety ciężarne wykazano wzrost ryzyka wystąpienia PTD w następnej ciąży o 15%, jeśli u badanej pacjentki ciąża poprzedzona była wystąpieniem jednego porodu przedwczesnego oraz aż o 32%, jeśli w wywiadzie występowały dwa lub więcej porody przedwczesne [11]. W badaniach Portera i wsp., wzrost ryzyka wystąpienia PTD w następnej ciąży, po uprzednio odbytym porodzie przedwczesnym, wynosił 18% (grupa 1497 kobiet rasy białej) [10]. Powyższych spostrzeżeń nie potwierdzono w grupie żon mężczyzn urodzonych w przebiegu porodów przedwczesnych [7, 9].

Największymi opracowaniami dokumentującymi rodzinne występowanie PTD są opublikowane niedawno badania przeprowadzone w grupie kobiet i ich rodzin ze stanu Utah w USA. Populacja ta stanowi homogeną komunę religijną, składającą się z potomków około 10 tysięcznej grupy przybyszów z Europy Północnej. Odnotowuje się tutaj niski procent występowania czynników ryzyka PTD, takich jak wpływ zwiększonego spożycia alkoholu, palenia papierosów, niski wskaźnik zażywania narkotyków, ryzyka chorób przenoszonych drogą płciową i występowania zakażenia wewnątrzrodzeniowego. W społeczności tej możliwe jest ustalenie dokładnego ojcostwa, rodziny są bardzo liczne, o dobrze udokumentowanej historii i drzewie genealogicznym (możliwa jest analiza częstości występowania porodów przedwczesnych nie tylko w najbliższej rodzinie, ale także u krewnych dalszego stopnia). Ponadto populacja ta charakteryzuje się wysokim wskaźnikiem urodzeń. Wymienione powyżej czynniki zdecydowały, że badania tej grupy kobiet dają możliwość otrzymania bardzo wiarygodnych wyników. W przeprowadzonych badaniach wzięło udział 220 kobiet, które urodziły swoje dzieci przed 36 t.c. Analizie poddano możliwe czynniki ryzyka oraz wywiad rodzinny w kierunku wystąpienia porodu przedwczesnego. W momencie kiedy u pięciu lub więcej krewnych pierwszego lub drugiego stopnia stwierdzono występowanie PTD, rodziny te kwalifikowano do grupy „*Familial Preterm Delivery*”. Liczba takich rodzin zamknęła się w 28. Kilka analizowanych rodzin miało wspólnych przodków, co stworzyło jednocześnie podstawę do analizy poligenowej. W większości przypadków (93%) w rodzinach z wywiadem ukierunkowanym na występowanie PTD do analizy udało się włączyć jednego lub więcej dziadków.

Znaczenie czynników genetycznych w etiologii porodu przedwczesnego.

W przebiegu badań stworzono dużą bazę danych genealogicznych (więcej niż 9 tys. danych). 42% z badanych kobiet (n=220) wskazało, że u ich matek także wystąpił jeden lub więcej porodów przedwczesnych. Potwierdzono także udział czynników predysponujących do wystąpienia PTD, takich jak przedwczesne pęknięcie błon płodowych, czy zakażenie wewnątrzrodniowe [7, 9].

Prawdopodobnie podłoże genetyczne może mieć również wpływ na wzrastanie płodu, warunkując tym samym masę urodzeniową dziecka oraz czas trwania ciąży. Niektóre badania wskazują na korelację pomiędzy małą masą urodzeniową a występowaniem porodu przedwczesnego [12, 13]. Nie wszystkie doniesienia wskazują na silną tendencję do rodzinnego pojawiania się porodu przedwczesnego. Wśród 4746 kobiet ciężarnych w Szwecji urodzonych przedwcześnie nie potwierdzono rodzinnej tendencji do zwiększonego występowania PTD [14].

Niektóre prace porównują także częstość występowania PTD pomiędzy poszczególnymi rasami. Mimo, iż dotychczasowe obserwacje nie są liczne, opisano różnice rasowe, odnotowując dwa razy większy wskaźnik występowania porodów przedwczesnych u kobiet rasy czarnej w porównaniu do kobiet rasy kaukaskiej. Może to być uwarunkowane zwiększoną produkcją cytokin prozapalnych u kobiet rasy czarnej i zmienioną modulacją odpowiedzi immunologicznej w ich organizmie [15]. Ponadto obserwowane są również różnice pomiędzy grupami kobiet różnego pochodzenia etnicznego w obrębie tej samej rasy, na co mogą mieć wpływ odmienne zwyczaje kulturowe, seksualne oraz różna częstość występowania chorób przenoszonych drogą płciową.

Analiza genów kandydujących do udziału w patomechanizmie porodu przedwczesnego

W ostatnich kilku latach przeprowadzane są analizy molekularne polimorfizmu genów kandydujących związanych z wystąpieniem porodu przedwczesnego. Wybór genów kandydujących przeprowadza się analizując dokładnie szlaki procesów patologicznych, które bezpośrednio lub w sposób pośredni zaangażowane są w rozwój danego powikłania. W etiologii PTD rozważa się możliwy udział szeregu mechanizmów tj. wpływu stresu matczynego i płodowego [16], co wiąże się ze wzrostem syntezy w łożysku i błonach płodowych kortykoliberyny (CRF – *corticotrophin-releasing factor*) [17, 18], udział procesu zapalnego i uruchomienie sieci działania cytokin oraz wpływ zaburzeń regulacji „zegara hormonalnego”, czyli całego układu hormonów biorących udział w inicjacji porodu [19]. Z innych wskazywane są zmiany w aktywności metaloproteinaz i prostaglandyn warunkujące wcześniejsze dojrzewanie i rozwieranie się szyjki macicy. Wszystkie te procesy mogą występować niezależnie od siebie lub być w różnym stopniu połączone ze sobą [20, 21].

Duża ilość badań molekularnych dotyczy polimorfizmu genów biorących udział w modulacji odpowiedzi immunologicznej, która spełnia istotną rolę zarówno w inicjacji mechanizmów w porodzie w ciąży donoszonej, jak również w porodzie przedwczesnym.

W tym zakresie badania dotyczą polimorfizmów warunkujących aktywność poszczególnych cytokin. Najczęściej ba-

danymi są interleukina 1, 4, 6, 10 (IL – *interleukin*) oraz czynnik martwicy nowotworów (TNF- α – *tumor necrosis factor*) [22, 23]. Cytokiny te, włączone w szereg reakcji odpowiedzi immunologicznej, odgrywają ważną rolę w mechanizmie kaskady reakcji zapalnej [24, 25, 26], przedwczesnego pęknięcia błon płodowych oraz rozwoju zakażenia wewnątrzrodniowego [27, 26]. W płynie owodniowym oraz w surowicy krwi ciężarnych z porodem przedwczesnym oraz zakażeniem wewnątrzrodniowym wykazano wzrost stężenia interleukin oraz TNF- α w odpowiedzi na czynnik zapalny [28, 29, 30]. Różnice w aktywności poszczególnych cytokin wynikające z obecności polimorficznych wariantów genów mogą mieć wpływ na przebieg wymienionych powikłań.

Meta-analiza 18 badań wiążących polimorfizmy genetyczne z występowaniem porodu przedwczesnego wskazała na dużą rolę wariantów genetycznych TNF- α [2]. W genie kodującym TNF- α wykryto istnienie kilku rodzajów polimorfizmów, z których w etiologii PTD opisywane jest możliwe znaczenie polimorfizmów zlokalizowanych w odcinku promotorowym -163G/A, -238G/A, -308G/A, -376G/A oraz -863G/A. Te punktowe mutacje prawdopodobnie mają wpływ na regulację transkrypcji genu TNF- α . W pracy Wilsona i wsp. opisano wpływ *allela* TNF-2 (-308A) na zwiększenie aktywności tego procesu [31]. Do tej pory wskazano na znaczenie polimorfizmu -308G/A w przypadku wystąpienia porodu przedwczesnego po przedwczesnym pęknięciu błon płodowych w badaniu przeprowadzonym przez Robertsa i wsp. (OR = 3,18 95% CI 1,33 – 7,83) [32]. Wariantu -308G/A dotyczyły również badania przeprowadzone przez Macones'a i wsp., w powiązaniu z występowaniem waginozy bakteryjnej i możliwym znaczeniem w przebiegu samoistnego porodu przedwczesnego [33]. W populacji kobiet afroamerykańskich w USA nie potwierdzono natomiast korelacji tego samego polimorfizmu ze wzrostem ryzyka wystąpienia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych [34].

W naszych badaniach analizujących związek polimorfizmów TNF- α z występowaniem zakażenia wewnątrzrodniowego i porodu przedwczesnego obserwowaliśmy większą częstość występowania zmutowanego *allela* -238A oraz -308A w grupie kobiet ciężarnych obciążonych tymi powikłaniami (19,8% vs 10,6% w grupie kontrolnej, O.R.=3,0, p=0,002 dla *allela* -238A oraz 31,1% vs 18,7% w grupie kontrolnej, O.R.=1,97, p=0,01 dla *allela* -308A). W przypadku polimorfizmu -238G/A odnotowano znaczący wzrost obwodowego stężenia TNF- α w grupie ciężarnych, których genotyp zawierał co najmniej jeden zmutowany *allel* A (-238G/A, -238A/A). Obserwacje te mogą sugerować udział obydwu wariantów genetycznych w rozwoju zakażenia wewnątrzrodniowego i wystąpieniu porodu przedwczesnego [35, 36].

W przebiegu porodu przedwczesnego oraz zakażenia wewnątrzrodniowego wzrost stężenia IL-6 obserwowany jest zarówno w płynie owodniowym, jak i w surowicy krwi matczynej. IL-6 jest glikoproteiną wydzielaną głównie przez monocyty i makrofagi pod wpływem lipopolisacharydów (LPS) błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Wzrost jej stężenia jest uważany za najbardziej czuły wskaźnik inwazji mikroorganizmów do jamy owodniowej (przy punkcie odcięcia 6,7pg/ml czułość metody określa się na 94,5%, specyficzność 92,3% - z dużą wartością predykcyjną) [37, 38].

W etiologii porodu przedwczesnego najczęściej badanym jest polimorfizm *-174G/C* w regionie promotorowym genu *IL-6*, ale badania genetyczne dotyczą także mutacji punktowych w pozycji *-572G/C* oraz *-597G/A* [39, 40, 41]. W analizie przeprowadzonej przez Simhan i wsp., obserwowano większą częstość występowania genotypu *-174CC* u kobiet, u których poród odbył się w terminie w porównaniu do kobiet, które urodziły przedwcześnie (19,2% w grupie z porodem o czasie vs 3,9% u kobiet z porodem przedwczesnym). Ci sami autorzy wykazali także brak obecności zmutowanego genotypu *-174CC* genu *IL-6* w populacji afroamerykańskiej [40, 41]. Duże znaczenie przypisuje się również oznaczeniu polimorfizmów genu *IL-6*, jako wykładnika możliwości wystąpienia powikłań u noworodków matek z porodem przedwczesnym. W niektórych pracach sugerowano związek zmutowanego genotypu *-174CC* ze znaczącym uszkodzeniem mózgu u noworodków pochodzących z ciąży zakończonych przedwcześnie [42, 43].

W naszych badaniach dotyczących grupy kobiet z zakażeniem wewnątrzrodniowym i porodem przedwczesnym zaobserwowaliśmy podobną częstość występowania zmutowanego allela *-174C* w badanych grupach kobiet (52,2% vs 46,9% w grupie kontrolnej, O.R.=1,23, ns) oraz podobną częstość występowania zmutowanego genotypu *-174CC* w grupie badanej i kontrolnej (17,8% vs 17,2%) [44].

Niektóre prace łączące zmiany w aktywności odpowiedzi immunologicznej z polimorfizmami genetycznymi badają ich znaczenie w zakresie nadrodziny *IL-1/TLRs* tj. kompleksu interleukiny 1 (*IL-1 α* , *IL-1 β* , antagonistą receptora *IL-1 α*) oraz receptorów, które są ważnymi komponentami systemu immunologicznego tzw. *toll-like receptors* (TLRs). U kobiet z zakażeniem wewnątrzrodniowym i porodem przedwczesnym obserwowano podwyższony poziom interleukin *IL-1 α* oraz *IL-1 β* w surowicy i płynie owodniowym oraz sugerowano udział polimorfizmu *+3953/3954* genu *IL-1 β* w etiologii tych powikłań [45]. W niektórych pracach bierze się również pod uwagę możliwe znaczenie allela *IL-1R2* genu kodującego receptor *IL-1* [46, 7]. Ciekawe obserwacje dotyczą polimorfizmu receptorów TLRs, które pełnią rolę w rozpoznawaniu lipopolisacharydów bakterii Gram ujemnych oraz peptydoglikanów bakterii Gram dodatnich. TLRs obecne są u ssaków w błonach jednojądrzastych komórek fagocytarnych. Ich aktywacja przez patogeny prowadzi do wzrostu produkcji cytokin, przede wszystkim *TNF- α* , *IL-6* oraz *IL-12*. W niedawno przeprowadzonych badaniach wskazano na znaczenie polimorfizmu *Asp299Gly* genu receptora TLR 4 oraz polimorfizmu *Arg753Gln* genu receptora TLR 2 w etiologii porodu przedwczesnego [47]. W zakresie układu immunologicznego rozważa się również inne warianty genetyczne, jak polimorfizm molekuly *CD14* (*-159C/T*), która działa jako ko-receptor dla lipopolisacharydów oraz wiążących ich protein. Receptor Fas jest receptorem błonowym należącym do rodziny czynnika martwicy nowotworów (*TNF-R*). Połączenie receptora Fas z ligandem indukuje powstanie wewnątrzkomórkowego sygnału dla procesów apoptozy komórki. Wykazano, że komórki Th1 przechodzą proces apoptozy uwarunkowany aktywacją receptorów Fas. Powoduje to uwolnienie cytokin typu Th1 oraz przedłuża reakcję prozapalną ze strony układu immunologicznego. W regionie promotorowym Fas oznaczono poli-

morfizm *-670A/G*, który wpływa na produkcję molekuly typu *CD14* biorąc udział w etiologii PTD [48].

Z innych genów kandydujących biorących udział w reakcji immunologicznej, badania objęły również wpływ genu indukowanej syntazy tlenu azotu (*NOS2*) produkowanej przez makrofagi, który jest jednym z regulatorów produkcji tlenu azotu. Tlenek azotu włączony jest w uwalnianie cytokin i aktywację limfocytów, stąd jego genetyczne warianty mogą być zaangażowane w rozwój PTD [7].

W mechanizmie porodu uczestniczą także procesy dojrzewania szyjki macicy. Podlegają one regulacji ze strony interleukiny-8, prostaglandyny *PGE2*, jak również metaloproteinaz: -8 oraz -9 (*MMPs* – *metaloproteinases*). Metaloproteinazy degradują białka macierzy pozakomórkowej, odgrywając ważną rolę w przebudowie i procesach naprawczych tkanek oraz w przebiegu reakcji zapalnej. Obecnie badany jest związek mechanizmów porodu przedwczesnego z polimorfizmami dotyczącymi *MMP-1*, *MMP-8* oraz *MMP-9*. Badania wariantu genetycznego polegającego na insercji guaniny w pozycji *-1607GG* genu *MMP-1* u płodu wskazywały na jego znaczący związek z wystąpieniem PROM [49].

Jako kluczowe geny w regulacji długości czasu trwania ciąży i wystąpienia porodu wymieniane są również: gen kodujący enzym cyklooksygenazę 2 (*COX2*) biorący udział w regulacji syntezy prostaglandyn, geny kodujące poszczególne izoformy receptorów progestagenowych oraz gen *20- α* hydroksysteroidowej dehydrogenazy, która jest enzymem biorącym udział w regulacji odpowiedzi zapalnej [21]. Zwraca się również uwagę na mechanizm regulacyjny czynnika transkrypcyjnego NF kappa-B (*nuclear factor kappa-B*), który wykazuje bezpośredni wpływ na ekspresję takich genów, jak *COX2*, *IL-1 β* , *IL-8*, *MMP-8* oraz receptora oksytocynowego (*OTR* – *oxytocin receptor*) [5, 7, 9]. Coraz większa liczba prac dotyczy tych właśnie genów i ich powiązań z patomechanizmem porodu przedwczesnego.

Na obecnym etapie wiedzy nie można pominąć również analizy dziedzicznie uwarunkowanych trombofilii oraz ich znaczenia w etiologii PTD. Zaburzenia te mogą być przyczyną nadmiernej aktywacji układu krzepnięcia, wykrzepiania w naczyniach krążenia łożyskowego, niedotlenienia i niedokrwienia łożyska wywołującego stres płodowy i aktywującego płodową oś podwzgórze-przysadka-nadnercza. W tym zakresie najczęściej bada się znaczenie polimorfizmów czynnika V (mutacja Leiden), protrombiny (*G20210A*) oraz genu reduktazy metylenetetrahydrofianu (*C677T*). W niektórych pracach wskazano na mutacje będące przyczyną stanu nadkrzepliwości i ich związek z powikłaniami położniczymi m.in. z wystąpieniem PTD [50, 46]. W pracy Valdeza i wsp., dotyczącej kobiet meksykańskich, zademonstrowano możliwość udziału mutacji *C667T* genu reduktazy metylenetetrahydrofianu w występowaniu PTD [51]. Nie wszystkie otrzymane do tej pory wyniki są jednoznaczne, niektóre prace nie wykazują możliwego znaczenia genetycznie uwarunkowanych trombofilii w etiologii PTD [52].

Badania molekularne ogniskują się również na wzajemnym oddziaływaniu haplotypów niektórych genów i podejmują próbę łącznej analizy genów włączonych w różne kierunki patomechanizmu PTD. W roku 2004, w USA, badano grupę 758 kobiet ciężarnych rasy czarnej, białej oraz pochodzenia

Znaczenie czynników genetycznych w etiologii porodu przedwczesnego.

hiszpańskiego (300 kobiet z porodem przedwczesnym oraz 458 zdrowych kobiet ciężarnych, które urodziły o czasie). Przeprowadzono analizę szeregu genów związanych z odpowiedzią immunologiczną, układem krzepnięcia oraz odpowiedzią na czynniki środowiskowe [46, 53]. Badania te uwzględniają także różnice populacyjne oraz różnice pomiędzy grupami etnicznymi i rozważane są na tle częstości występowania danego polimorfizmu w populacji ogólnej [46, 54, 15].

Reakcje gen-środowisko

Obecnie wiadomo, że poszczególne warianty genetyczne mogą wpływać na odpowiedź organizmu po jego ekspozycji na różnorodne czynniki środowiskowe. Korzystne czynniki środowiska w połączeniu z genami o działaniu protekcyjnym znacząco zmniejszają możliwość wystąpienia danej choroby. Natomiast w przypadku istnienia w organizmie genów predysponujących do wystąpienia danego powikłania pojawienie się niekorzystnych czynników środowiska może aktywować, a następnie nasilać przebieg choroby. Stąd próby jakościowej i ilościowej oceny możliwości odpowiedzi organizmu gospodarza na działanie określonych czynników, w tym także środowiskowych oraz działania specyficznych genów regulujących odpowiedź gospodarza [21].

Od dawna wiadomo, że proces zapalny odgrywa znaczącą rolę w rozwoju PTD. W reakcjach gen-środowisko, w etiologii porodu przedwczesnego, najczęściej wskazywane jest znaczenie obecności waginozy bakteryjnej i bakteriurii ciężarnych. Odpowiedź obronna organizmu modyfikowana jest przez polimorfizmy genów sieci cytokin, a przede wszystkim TNF- α oraz IL-6. Sztandarowym już przykładem takiej korelacji jest badanie przeprowadzone przez Maconesa i wsp. Ciekawą obserwacją w tym przypadku było wykazanie zwiększonego ryzyka wystąpienia porodu przedwczesnego u kobiet ciężarnych nosicielek *allela* TNF-2 (-308A), które jest dodatkowo modyfikowane poprzez obecność waginozy bakteryjnej podnoszącej ryzyko wystąpienia porodu przedwczesnego w porównaniu do grupy ciężarnych bez obecności waginozy, u których ciąża również zakończyła się porodem przedwczesnym [33]. W badaniu tym autorzy wykazali wysoki współczynnik ryzyka wystąpienia porodu przedwczesnego u kobiet będących nosicielkami zmutowanego *allela* TNF2 (O.R.=2,7; 95% CI 1,7–4,5), który ulegał znaczącemu podwyższeniu w grupie kobiet nosicielek *allela* TNF2, u których dodatkowo wykazano obecność waginozy bakteryjnej (O.R.=6,1; 95% CI 1,9–21,0).

Innym przykładem reakcji gen-środowisko w przypadku porodu przedwczesnego jest możliwy związek tego powikłania ze stanami zapalnymi przyzębia u ciężarnych. Doniesienia na ten temat są, jak do tej pory, niejednoznaczne. W pracy Moore'a i wsp. nie potwierdzono korelacji polimorfizmu -308G/A genu TNF- α z częstością chorób przyzębia w grupie kobiet z PTD [55].

W rozważaniu wpływu czynników wynikających z zachowań kulturowych i seksualnych na wystąpienie porodu przedwczesnego bierze się pod uwagę współżycie z wieloma partnerami, czas trwania odstępu pomiędzy ciążami, nasilenie aktywności seksualnej w czasie ciąży, stosowanie mechanicznych metod antykoncepcji (zapobieganie infekcji wstępującej), utrzymanie higieny osobistej, prawidłowe odżywianie, masę ciała przed i w czasie ciąży, czy stosowanie używek.

Rozważana jest tu rola polimorfizmów genów cytokin (omówiona powyżej), genów warunkujących prawidłową masę ciała oraz enzymów biorących udział w metabolizowaniu substancji toksycznych. Do tych ostatnich należą enzymy rodziny CYP450 (CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1), enzym N-acetylotransferaza 2 (NAT2), czy glutation-S-transferaza (GST) [53, 56]. Enzymy te biorą udział w reakcjach przemiany ksenobiotyków w organizmie ludzkim. Zmiany w ich aktywności mogą prowadzić do spowolnienia lub przyspieszenia toru katalizowanych przez nie procesów. Znaczenie wariantów genetycznych rodziny CYP450 i GST rozpatrywane jest w związku ze skróceniem czasu trwania ciąży i redukcją masy ciała noworodków. Wśród kobiet chińskich pracujących w zakładach petrochemicznych i poddanych względnie małej ekspozycji na benzen stwierdzono korelację polimorfizmu *HincII* genu CYP1A1 z długością czasu trwania ciąży – wśród kobiet z genotypem homozygotycznym AA zaobserwowano skrócenie czasu trwania ciąży w porównaniu do kobiet z genotypem Aa oraz aa [57]. Obydwa powyższe polimorfizmy prawdopodobnie biorą również udział w redukcji masy ciała i wystąpieniu porodu przedwczesnego u kobiet palących papierosy lub zażywających narkotyki [56]. Innymi genami kandydującymi do udziału w mechanizmie porodu przedwczesnego w reakcji gen-środowisko jest gen dehydrogenazy alkoholowej 1C (ADH1C – *alcohol dehydrogenase 1C*) oraz receptora opioidowego typu mu 1 (OPRM1 – *opioid receptor mu 1*). Ich znaczenie korelujące ze zmianą aktywności enzymów wiąże się ze stosowaniem narkotyków lub pić alkoholu w ciąży [46].

Podsumowanie

Badania genetycznych czynników ryzyka modyfikujących wystąpienie samoistnego porodu przedwczesnego to obecnie bardzo dynamicznie rozwijająca się dziedzina w perinatologii. Wiele dowodów dostarczają przeprowadzone dotąd badania epidemiologiczne obejmujące grupy pacjentek z PTD oraz analizujące wywiad rodzinny w kierunku występowania tego powikłania. Integralną częścią prac badawczych są także studia dotyczące genów kandydujących do współdziałania w inicjacji i rozwoju PTD. Rozważa się tu udział *alleli* o wysokiej częstości występowania i względnie małym efekcie lub udział rzadko występujących *alleli* o dużym wpływie na fenotyp (tzw. wpływ krytyczny) [7, 9, 8].

Cennym źródłem informacji są z pewnością także analizy możliwych reakcji gen-środowisko. Również badania na zwierzętach sugerują duży udział wariantów genetycznych w rozwoju PTD [58].

Ponieważ występowanie porodu przedwczesnego uwarunkowane jest prawdopodobnie współdziałaniem wielu wariantów polimorficznych sformułowano pojęcie „geny porodu przedwczesnego”.

Szeroko zakrojone badania wariantów genetycznych działających niezależnie lub współdziałających razem obejmują wystąpienie nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej, przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, zakażenia wewnątrzrodniowego, aktywację osi podwzgórze-przysadka-nadnercza u matki i płodu, wystąpienie patologii w zakresie krążenia maczyno-płodowego, przedwczesnej czynności skurczowej macicy oraz podatności organizmu ciężarnej na

Seremak-Mrozikiewicz A, et al.

działanie czynników toksycznych obecnych w środowisku [46]. Niewątpliwą zaletą przeprowadzanych analiz genetycznych jest możliwość zastosowania prostych technik biologii molekularnej [5, 6].

W interpretacji wyników nie można również pominąć wpływu czynników środowiskowych oraz zachowań i przyzwyczajęń pacjentek. Sam fenotyp porodu przedwczesnego kształtowany jest prawdopodobnie indywidualnie i może być wysoce heterogenny i niespecyficzny stwarzając tym samym trudności interpretacyjne w analizie populacyjnej. Osobnym zagadnieniem jest tu zróżnicowana odpowiedź immunologiczna u poszczególnych osób, modulowana przez ich indywidualny profil genetyczny, dlatego w szerokim pojęciu rozważania dotyczące znaczenia polimorfizmów genetycznych w etiologii porodu przedwczesnego powinny obejmować ciąg procesów: immunologia-stres-profil genetyczny [5, 8].

Na tym gruncie rozpatruje się m. in. nieprawidłową stymulację układu immunologicznego matki i płodu w przebiegu porodu przedwczesnego, czy zakażenia wewnątrzowodniowego, uwarunkowaną występowaniem wariantów polimorficznych. Możliwe jest pojawienie się nadmiernej odpowiedzi i jej aktywny rozwój w przebiegu reakcji obronnej (*hyperresponsiveness*), co skutkuje dynamicznym rozwojem choroby oraz osłabionej odpowiedzi (*hyporesponsiveness*), kiedy dochodzi do nieadekwatnej reakcji i rozwoju posocznicy [59, 33]. Ze względu jednak na dyskusyjne wyniki badań, brak dużych badań populacyjnych oraz niejasną interpretację interakcji gen-środowisko, na tym etapie wiedzy wszystkie badania należy traktować jako doniesienia wstępne.

Zarówno badania kliniczne, epidemiologiczne oraz genetyczne dążą do stworzenia schematów postępowania, zapobiegania i interwencji leczniczej w porodzie przedwczesnym. Ze względu na niejednokrotnie subkliniczny przebieg procesów prowadzących do porodu przedwczesnego, obecnie uważa się, że najważniejsze jest wczesne przewidywanie umożliwiające zapobieganie rozwojowi pełnoobjawowego porodu przedwczesnego. Jako profilaktykę pierwotną sugeruje się identyfikację ryzyka populacyjnego, która stanowiłaby podstawę do wdrożenia profilaktyki wtórnej, czyli identyfikacji i poszerzenia opieki prenatalnej u kobiet narażonych na wystąpienie PTD [60, 3].

Powiązanie genomiki oraz proteomiki z pełnym zrozumieniem patofizjologii porodu przedwczesnego oraz wskazanie diagnostycznych markerów genetycznych może natomiast doprowadzić do stworzenia testu predykcyjnego, który wskazywać będzie grupy kobiet najczęściej predysponowane do wystąpienia PTD. Doprowadzi to również do wprowadzenia i zastosowania zasad farmakogenomiki na gruncie położnictwa, czyli do planowania indywidualnej terapii dla każdej pacjentki (*tailored therapy*).

Piśmiennictwo

1. Cza1. Czajka R. Nieprawidłowy czas trwania ciąży.: Cięża wysokiego ryzyka. Pod red. Bręborowicz G. Poznań: Ośrodek Wydawnictw Naukowych, 2000, 111-133.
2. Crider K, Whitehead N, Buus R. Genetic variation associated with preterm birth: a HuGE review. *Genet Med*. 2005, 7, 593-604.
3. Mercer B, Goldenberg L, Das A, [et al.]. The preterm prediction study: a clinical risk assessment system. *Am J Obstet Gynecol*. 1996, 174, 1885-1893 + Comment in: *Am J Obstet Gynecol*. 1996, 175, 753-755.
4. Adams K, Eschenbach D. The genetic contribution towards preterm delivery. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2004, 9, 445-452.
5. Esplin M, Varner M. Genetic factors in preterm birth – the future. *BJOG*. 2005, 112, suppl 1, 97-102.
6. Hoffman J, Ward K. Genetic factors in preterm delivery. *Obstet Gynecol Surv*. 1999, 54, 203-210.
7. Ward K. Genetic factors in preterm birth. *BJOG*. 2003, suppl 20, 117.
8. Varner M, Esplin M. Current understanding of genetics factors in preterm birth. *BJOG*. 2005, 112, suppl 1, 28-31.
9. Ward K, Argyle V, Meade M, [et al.]. The heritability of preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 2005, 106, 1235-1239.
10. Porter T, Fraser A, Hunter C, [et al.]. The risk of preterm birth across generations. *Obstet Gynecol*. 1997, 90, 63-67.
11. Carr-Hill R, Hall M. The repetition of spontaneous preterm labour. *Br J Obstet Gynaecol*. 1985, 92, 921-928.
12. Clausson B, Lichtenstein P, Cnattingius S. Genetic influence on birthweight and gestational length determined by studies in offspring of twins. *BJOG*. 2000, 107, 375-381.
13. Magnus P, Bekketeig L, Skjaerven R. Correlations of birth weight and gestational age across generations. *Ann Hum Biol*. 1993, 20, 231-238.
14. Winkvist A, Mogren I, Hogberg U. Familial patterns in birth characteristics: impact on individual and population risks. *Int J Epidemiol*. 1998, 27, 248-254.
15. Ness R, Haggerty C, Harger G, [et al.]. Differential distribution of allelic variants in cytokine genes among African Americans and White Americans. *Am J Epidemiol*. 2004, 160, 1033-1038.
16. McGrath S, McLean M, Smith D, [et al.]. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone trajectories vary depending on the cause of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2002, 186, 257-260.
17. Florio P, Torricelli M, Galleri L, [et al.]. High fetal urocortin levels at term and preterm labor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005, 90, 5361-5365.
18. Sirianni R, Mayhew B, Carr B, [et al.]. Corticotropin-releasing hormone (CRH) and urocortin act through type 1 CRH receptors to stimulate dehydroepiandrosterone sulfate production in human fetal adrenal cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005, 90, 5393-5400.
19. Torricelli M, Ignacchiti F, Giovannelli A, [et al.]. Maternal plasma corticotrophin-releasing factor and urocortin levels in post-term pregnancies. *Eur J Endocrinol*. 2006, 154, 281-285.
20. Gennaro S, Hennessy M. Psychological and physiological stress: impact on preterm birth. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 2003, 32, 668-675.
21. Green NS, Damus K, Simpson J, [et al.] Research agenda for preterm birth: recommendations from the March of Dimes. *Am J Obstet Gynecol*. 2005, 193, 626-635.
22. Leitch H. Controversies in diagnosis of preterm labour. *BJOG*. 2005, 112, suppl 1, 48-50.
23. Thorsen P, Schendel DE, Deshpande A, [et al.]. Identification of biological/biochemical marker(s) for preterm delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2001, 15, suppl 2, 90-103.
24. Amory J, Hitti J, Lawler R, [et al.]. Increased tumor necrosis factor-alpha production after lipopolysaccharide stimulation of whole blood in patients with previous preterm delivery complicated by intra-amniotic infection or inflammation. *Am J Obstet Gynecol*. 2001, 185, 1064-1067.
25. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, [et al.]. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1998, 179, 194-202.
26. Hagberg H, Wennerholm U, Savman K. Sequelae of chorioamnionitis. *Curr Opin Infect Dis*. 2002, 15, 301-306.
27. Erdei G, Toth P, Vasarhelyi B. Uj klinikai entitas a perinatologiaban: a magzati gyulladasos valaszreakcio szindroma. *Orv Hetil*. 2003, 144, 1515-1519.
28. Hillier S, Witkin S, Krohn M, [et al.] The relationship of amniotic fluid cytokines and preterm delivery, amniotic fluid infection, histologic chorioamnionitis, and chorioamnion infection. *Obstet Gynecol*. 1993, 81, 941-948.
29. Romero R, Mazor M, Sepulveda W, [et al.]. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1992, 166, 1576-1587.
30. Holst R, Mattsby-Baltzer I, Wennerholm U, [et al.]. Interleukin-6 and interleukin-8 in cervical fluid in a population of Swedish women in preterm labor: relationship to microbial invasion of the amniotic fluid, intra-amniotic inflammation, and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005, 84, 551-557.
31. Wilson A, Symons J, McDowell T, [et al.]. Effects of a polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci*. 1997, 94, 3195-3199.

Znaczenie czynników genetycznych w etiologii porodu przedwczesnego.

32. Roberts A, Monzon-Bordonaba F, Van Deerlin P, [et al.]. Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1999, 180, 1297-1302.
33. Macones G, Parry S, Elkousy M, [et al.]. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004, 190, 1504-1508.
34. Dizon-Townson D, Major H, Varner M, [et al.]. 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, 810-813.
35. Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K. Znaczenie polimorfizmu restrykcyjnego A1w genu kodującego tumor necrosis factor (TNF- α) w zakażeniu wewnątrzowodniowym. *Klin. Perinatol. Ginekol.* 2003, 39, 50-53.
36. Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K, Łowicki Z, [et al.]. Intra-amniotic infection: influence of TNF- α gene polymorphisms. *Arch Perinat Med.* 2001, 7, 23-24.
37. Drews K, Malewski Z, Seremak-Mrozikiewicz A, [et al.]. Preterm premature rupture of the membranes (pprm) prediction of the labor. *International Proceedings Division, Monduzzi Editore.* 1999, 223-225.
38. Drews K, Seremak-Mrozikiewicz A, Brzezińska E. Diagnostyka i leczenie zakażeń wewnątrz-owodniowych. *Przew Lek Ginekol.* 2000, 4, 24-28.
39. Annells M, Hart P, Mullighan C, [et al.]. Interleukins-1, -4, -6, -10, tumor necrosis factor, transforming growth factor-beta, FAS, and mannose-binding protein C gene polymorphisms in Australian women: Risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004, 191, 2056-2067.
40. Jenny N, Tracy R, Ogg M, [et al.]. In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G/C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002, 22, 2066-2071.
41. Simhan H, Krohn M, Roberts J, [et al.]. Interleukin-6 promoter -174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 189, 915-918.
42. Harding D, Dhamrait S, Whitelaw A, [et al.]. Does interleukin-6 genotype influence cerebral injury or developmental progress after preterm birth? *Pediatrics.* 2004, 114, 941-947.
43. Hartel C, Finas D, Ahrens P, [et al.]. Polymorphisms of genes involved in innate immunity: association with preterm delivery. *Mol Hum Reprod.* 2004, 10, 911-915.
44. Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K, Kopyra P, [et al.]. Interleukin-6 promoter -174G/C polymorphism and intra-amniotic infection. *Arch Perinat Med.* 2004, 10, 21-23.
45. Genc M, Gerber S, Nesin M, [et al.]. Polymorphism in the interleukin-1 gene complex and spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2002, 187, 157-163.
46. Hao K, Wang X, Niu T, [et al.]. A candidate gene association study on preterm delivery: application of high-throughput genotyping technology and advanced statistical methods. *Hum Mol Genet.* 2004, 13, 683-691.
47. Lorenz E, Hallman M, Marttila R, [et al.]. Association between the Asp299Gly polymorphisms in the Toll-like receptor 4 and premature births in the Finnish population. *Pediatr Res.* 2002, 52, 373-376.
48. Kalish R, Nguyen D, Vardhana S, [et al.]. 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, 208-212.
49. 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, 6296-6302.
50. Erhardt E, Stankovics J, Molnar J, [et al.]. High prevalence of factor V Leiden mutation in mothers of premature neonates. *Biol Neonate.* 2000, 78, 145-146.
51. Valdez L, Quintero A, Garcia E, [et al.]. Thrombophilic polymorphisms in preterm delivery. *Blood Cells Mol Dis.* 2004, 33, 51-56.
52. Resch B, Gallistl S, Kutschera J, [et al.]. Thrombophilic polymorphisms – factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations – and preterm birth. *Wien Klin Wochenschr.* 2004, 116, 622-626.
53. Wang X, Zuckerman B, Kaufman G, [et al.]. Molecular epidemiology of preterm delivery: methodology and challenges. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2001, 15, suppl 2, 63-77.
54. Martin A, Athanasiadis G, Greshock J, [et al.]. Population frequencies of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in immuno-modulatory genes. *Hum Hered.* 2003, 55, 171-178.
55. Moore S, Ide M, Randhawa M, [et al.]. An investigation into the association among preterm birth, cytokine gene polymorphisms and periodontal disease. *BJOG.* 2004, 111, 125-132.
56. Wang X, Zuckerman B, Pearson C, [et al.]. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA.* 2002, 287, 195-202.
57. Wang X, Chen D, Niu T, [et al.]. Genetic susceptibility to benzene and shortened gestation: evidence of gene-environmental interaction. *Am J Epidemiol.* 2000, 152, 693-700.
58. Rogers M, D'Amato R. The effect of genetic diversity on angiogenesis. *Exp Cell Res.* 2006, 312, 561-574.
59. Imseis H, Greig P, Livengood C, [et al.]. Characterization of the inflammatory cytokines in the vagina during pregnancy and labor and with bacterial vaginosis. *J Soc Gynecol Investig.* 1997, 4, 90-94.
60. Iams J. Prevention of preterm birth. *N Eng J Med.* 1998, 338, 54-56.