

TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLAN HASTALARDA İNTERLÖKİN-1 β GEN POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Emre Tepeli, Dr. Ahmet Uludağ, Tayfun Şengel, Özden Kutlay, Doç. Dr. M. Hamza Müslümanoğlu
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Meşelik, ESKİŞEHİR

ÖZET

• **Amaç:** Yapılan çalışmalarda tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınların immünolojik ve inflamatuvar proseslerindeki problemlerin gebelik kaybı üzerinde etkili olduğu öne sürülmüştür. Yine yapılan çalışmalarda, idiopatik tekrarlayan düşüklerin patogeneğinde proinflamatuvar sitokinlerin yer aldığı gösterilmiştir. İnterlökin-1 β (IL-1 β), monositler, makrofajlar ve epitelial hücreler tarafından üretilen önemli bir proinflamatuvar sitokindir. Bu çalışmada IL-1 β geninin 5.ekzonunun polimorfizminin tekrarlayan gebelik kayıplarıyla ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

• **Materyal ve Metod:** Bu çalışmaya, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD'ye karyotip analizi ve genetik danışma için başvuran 20.gestasyonel haftadan önce, 3 veya daha fazla spontan düşük yapmış 98 hasta dahil edildi. Kontrol grubu ise en az 2 canlı doğumu olan, abortus öyküsü bulunmayan, postmenopozal dönemdeki 90 kadından oluşturuldu. Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen DNA örnekleri IL-1 β geninin 5.ekzonuna spesifik primerlerle çoğaltılarak, TaqI restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve %3'lük

agaroz jel elektroforezinde bant uzunlukları değerlendirilmiştir.

• **Bulgular:** 65 hastada homozigot yabancı tip genotip (%66,3), 28 hastada heterozigot genotip (%28,6), 5 hastada homozigot mutant tip genotip (%5,1) saptanmıştır. 35 sağlıklı kontrolde yabancı tip genotip (%38,9), 50 sağlıklı kontrolde heterozigot tip genotip (%55,6), 5 sağlıklı kontrolde homozigot mutant tip genotip (%5,5) saptanmıştır.

• **Sonuç:** Çalışmamızın sonuçlarına göre hasta ve kontrol grupları IL-1 β gen polimorfizminin alel ve genotip frekansları açısından değerlendirildiğinde kontrol grubunda saptanan heterozigot ve mutant alel oranı hasta grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0,001$) yüksek bulunmuştur. Elde ettiğimiz verilere göre tekrarlayan gebelik kaybı etyolojisinde, IL-1 β mutant allelinin gebelik kaybı üzerine koruyucu bir etkisinin olabileceğini düşünmekteyiz.

• **Anahtar Kelimeler:** Spontan abortus, genetik polimorfizm, interlökin-1 beta Nobel Med 2010; 6(1): 34-38

EVALUATION OF IL-1 β GENE POLYMORPHISM IN THE PATIENTS WITH RECURRENT PREGNANCY LOSS

ABSTRACT

• **Objective:** In the recent studies it is suggested that problems in immunologic and inflammatory processes have an affect on pregnancy losses in women suffering from recurrent abortions. Pro-inflammatory cytokines were also reported to play roles in the pathogenesis of the idiopathic recurrent abortions. Interleukin 1 beta (IL-1 β) which is generated by monocytes, macrophages and epithelial cells, is an important pro-inflammatory cytokine. In this study whether the polymorphisms of exon 5 of IL-1 β gene were related to recurrent pregnancy losses was examined.

• **Material and Method:** Ninety-eight patients who experienced 3 or more abortions before the 20th gestational weeks and applied to the Medical Genetics Department of Eskişehir Osmangazi University and were included in the study. The control group was consisted of 90 women, in post-menopausal period, who had at least two live births and no

abortions. DNA samples, obtained from the patients and the control groups, were digested with TaqI restriction enzyme and amplified with specific primers for the fifth exon of IL-1 β gene. Polymerase Chain Reaction (PCR) products were evaluated in 3% agarose gel electrophoresis according to their lengths.

• **Results:** Sixty-five patients (66.3%) were homozygous wild type, while 5 patients (5.1%) were homozygous mutant. Twenty-eight patients (28.6%) were heterozygous for the mutation. Wild type genotype was detected in 35 (38.9%) of the healthy control while heterozygous genotype was detected in 50 (55.6%). Five (5.5%) healthy controls were homozygous mutant in the control group.

• **Conclusion:** According to our results, the heterozygous and homozygous mutant allele frequencies of IL-1 β gene in the control group were significantly higher than the study group ($p < 0.001$). Our data suggests that IL-1 β mutant allele may have a protective effect on the pregnancy loss.

• **Key Words:** Spontaneous abortion, genetic polymorphism, interleukin-1 beta. *Nobel Med 2010; 6(1): 34-38*

GİRİŞ

Tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK), ardışık olarak üç veya daha fazla gebeliğin, 20. gestasyonel haftadan önce düşük ile sonlanması olarak tanımlanabilir.¹⁻⁴ Fertil çiftlerin ~%5'i bu durumdan etkilenir.³ TGK etyolojisini açıklamak için birçok neden öne sürülmüştür. Bunlar; genetik, anatomik, endokrinolojik faktörler, plasental anomaliler, enfeksiyon, sigara ve alkol tüketimi, değişik çevresel faktörler (iyonize radyasyon, kimyasal ajan maruziyeti) ve stres olarak sıralanabilir.⁶⁻¹² Bu gruba ilaveten immünolojik faktörler de, özellikle otoimmün ve alloimmün faktörler, TGK içerisinde önemli bir rol oynarlar.^{13, 14} Ancak TGK olgularının %50'sinde altta yatan gerçek patofizyolojik neden hala açıklanamamıştır.¹

Bu faktörlere ek olarak, TGK'da değişik kalıtsal faktörler önerilmiş ve bunların bazılarını tanımlamak için değişik polimorfizm çalışmaları yapılmıştır. Bunların başlıcaları, trombofilik polimorfizmlerdir (Faktör V Leiden, protrombin ve MTHFR polimorfizmleri).¹⁵ Yine yapılan birçok çalışmada gebelik kaybı olan kadınlarda immünolojik ve inflamatuvar proseslerindeki problemlerin de gebelik kaybı üzerinde etkili olduğu öne sürülmüştür.^{13, 15-17}

Anne ve fetus arasındaki ilişki, bir yandan fetal antijen sunulması ve diğer yandan maternal immün sistem tarafından bu antijenlerin tanınması ve reaksiyon

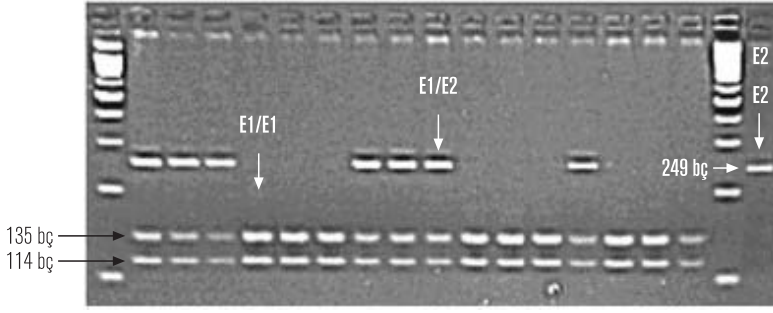
gösterilmesi ile belirlenen iki yönlü bir etkileşimdir.¹⁸

Hamileliğin immünolojik olarak tanınması, gestasyonun sürdürülmesi için önemlidir. Fetal antijenlerin yetersiz tanınması ya da insan lökosit antijenlerinin (HLA) baba ile artmış paylaşımı anti-HLA antikörlerinin üretimini engelleyebilir.¹⁸

Birçok araştırmacı antipaternal sitotoksik antikörlerin (APCA), antiidiopatik antikörlerin (Ab2) ve karma lenfosit reaksiyon bloklayıcı antikörlerin (MLR-Bf) azalmış ekspresyonunun TGK'lı kadınlarda düşüğe sebep olabileceğini bildirmiştir.^{16, 17} Ek olarak HLA-6 moleküllerinin ekspresyonu, sitotoksinlerin yardımcı paterni T-1 (Th-1) ve naturel killer (NK) hücrelerinin sitotoksisitesinde TGK'lı kadınlarda abortusu indükleyebilir.¹⁹

Sağlıklı kadınlarda görülen, T helper hücrelerindeki, Th-1/Th-2 balans kaymasıyla proinflamatuvar sitokinlerin indirgenmesi, TGK'lı kadınlarda görülmez.²⁰ Bunun nedeninin TGK'lı kadınlarda IL-1 β , IL-12, TNF- α ve interferon- γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin artmış serum düzeyi olduğu gösterilmiştir.^{21, 27, 28} IL-1 β , monositler, makrofajlar ve epiteliyal hücreler tarafından üretilen önemli bir proinflamatuvar sitokindir. IL-1 β sekresyonu, TNF- α , IFN- γ , IL-2 ve IL-12'nin üretimini içeren proinflamatuvar kaskada yol açmaktadır. IL-1 β aktivitesi direk olarak kronik otoimmün hastalıkların şiddetini etkiler (örn:→

TEKRARLAYAN GEBELİK
KAYBI OLAN HASTALARDA
İNERLÖKİN-1 β GEN
POLİMORFİZMİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ



Şekil 1: IL-1β ekzon 5 polimorfizminin jel görüntüsü

inflamatuvar kemik hastalığı, multipl skleroz).^{22, 23} IL-1≤' yı kodlayan gen, kromozom 2q14.2'de 40 kb'lık bir bölgede yer almaktadır.²⁴ Bu genin polimorfizminin invitro olarak, artmış IL-1β proteini ile ilişkili olduğu bulunmuştur.^{25, 26}

Bizim çalışmamızın amacı, TGK'lı hastalarda IL-1β geninin 5. ekzonun polimorfizm oranının sağlıklı kontrol grubu bireylerine göre karşılaştırılması ve istatistiki açıdan aradaki farkın anlamlı olup olmadığının incelenmesiydi. IL-1β geni, bu polimorfizmi neticesinde, inflamatuvar ve immunolojik prosesleri etkileyip, gebeliğin devamında önemli rol oynayan faktörlerden biri haline gelmektedir.

MATERYAL ve METOD

Çalışmaya, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD'ye karyotip analizi ve genetik danışma için başvuran 20. gestasyonel haftadan önce, 3 veya daha fazla spontan düşük yapmış 98 hasta, gönüllü rıza formu açıklanarak doldurulduktan sonra dahil edildi. Rutin olarak bu hastalara eşleriyle beraber kromozom analizi yapıldı. Kromozom anomalisi tespit edilen hastalar çalışmaya alınmadı. Ayrıca diğer abortus etyolojileri de incelenerek, bu etyolojik faktörlere sahip olmayan hastalar gruba dahil edildi. Kontrol grubu ise en az 2 canlı doğumu olan, abortus öyküsü bulunmayan, postmenopozal dönemdeki 90 kadından oluşturuldu.

Moleküler çalışma

Hasta ve kontrollere ait genomik DNA'lar periferik kandan QIAmp DNA Blood Mini Kit kullanılarak izole edildi. IL-1β geninin 5. ekzonu üzerindeki gen bölgesini çoğaltmak üzere, 5 µl 10X PCR Buffer (Sigma P-2192), her bir nükleotitten 0,2mM içeren 5 µl dNTP karışımı (Promega), F: 5'- GTT GTC ATC AGA CTT TGA CC-3' ve R: 5'- TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA -3' primerlerinden 4'er pmol ile 0,3 µl Taq polimeraz (Sigma D- 6677) enzimi içeren karışıma 5 µl DNA eklendi ve ddH₂O ile 50 µl'ye tamamlandı. Amplifikasyon için bu reaksiyon karışımı 95°C'de 15 dk ilk

denatürasyonun ardından, 94°C'de 1 dk, 59,5°C'de 1dk, 72°C'de 1 dk'dan oluşan 35 döngü sonrasında 72°C'de 10 dk son uzamaya tabi tutuldu. Elde edilen 249 bç'lik PCR ürünlerinin 15'er µl'si, 7 µl bidistile su, 0,5 µl Taq I enzimi (Q-BIO gene, Cat. ERTAQ100) ve 2,5 µl Digestion Buffer'dan oluşan reaksiyon karışımına eklenerek 16 saat 37°C'de kesime bırakıldı. Kesim sonrası oluşan fragmentlerin ayrımı için %2'lik ultra pure agoroz jel hazırlandı. 25 µl'lik PCR ürünleri, 1,5 saat jel elektroforezine tabi tutuldu. Elektroforez sonrası, 135 ve 114 bç'lik fragment elde edilen örneklerin E1 allelini (yabancıl allel), 249 bç'lik fragment elde edilenlerin E2 allelini (mutant allel) ve 135, 114, 249 bç'lik fragment elde edilenlerin E1/E2 allelini taşıdıkları belirlendi (Şekil 1).

İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 11,0 paket programı kullanıldı. Genotip dağılımlarının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması için Pearson χ^2 değerlerinden yararlanıldı.

BULGULAR

Tekrarlayan gebelik kaybı olan 98 hastada IL-1β polimorfizmi için çalışıldı. Ayrıca 90 sağlıklı kontrol de aynı polimorfizm için çalışmaya dahil edildi (Tablo 1).

Tekrarlayan gebelik kayıplı hasta grubu ile kontrol grubundan elde edilen genotip oranları ve allel frekansları Tablo 1'de gösterilmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında E2 (mutant) alleli için, allel frekansı sırayla %19,4 ve %33,3, E1 (yabancıl tip) alleli için allel frekansı sırasıyla %80,6 ve %66,7 olarak saptandı. İki grup arasında allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. (p=0,002, p<0,01) (Tablo 1)

Hasta ve kontrol grubu arasında E2/E2 genotipi için, genotip frekanslarını sırayla %5,1 ve %5,5, E1/E1 için %66,3 ve %38,9, E1/E2 için %28,6 ve %55,5 olarak saptandı (Tablo 1). Yine iki grup arasından genotip frekansları açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p=0,00, p<0,001).

TARTIŞMA

Gebelik sırasında maternal immün sistem paternal kökenli fetal ve plasental antijenlere karşı bir savunma direnci gösterir. Ancak fetusun kaybını önlemek amacıyla fizyolojik olarak maternal immün cevap baskılanır. Th-2 tip immünitinin başarılı bir gebelik esnasında etkili olduğuna inanılırken, trofoblastlara karşı gelişen Th-1 tip immünite TGK ile ilişkilendirilmiştir.^{13, 27, 28} Murine çalışmalar göstermiştir ki, Th-1 tip immüniteyle ilişkili sitokinler olan IL-1, IL-2, TNF-α ve IFN-γ'nin →

artmış aktivitesi başarılı bir gebelikle bağdaşmaz. Bu deneysel çalışmalarda IL-1 β ' yi da içeren artmış sitokin düzeyleri ile TGK olgularının doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir.^{13, 28}

TGK'nın genetik alt yapısı incelenirken, etnik varyasyon ve toplumdaki genetik heterojenite de göz önüne alınmalıdır. Bu nedenle kozmopolit merkezlerde yapılan çalışmaların bir çoğunda çalışmanın güvenilirliği için bu konuya dikkat edilmiştir.

Tartışılan konulardan biri de sağlıklı kontrol grubunun belirlenmesidir. Bazı çalışmalarda, TGK olan kadınlar, yaş uyumlu kontrol gruplarıyla karşılaştırılırken, bu yöntemin gelecekte yaşanabilecek düşükleri dışlayamaması nedeniyle bizim çalışmamız ve daha birçok çalışmada menopoza girmiş, düşüğü olmayan sağlıklı kadınlardan kontrol grubu oluşturulmuştur. Gözden kaçırılmaması gereken önemli bir konu da TGK'nın tanımıdır. Geçmişteki birçok çalışmada bizim çalışmamızda yaptığımız gibi TGK, 20 haftadan önce 3 veya daha fazla düşük olarak tanımlanırken, bazı çalışmalarda farklı olarak tanımlanmıştır. Erken gebelik kayıplarının etyolojilerinin ikinci trimesterde görülen gebelik kayıplarından farklı olabileceği de göz önünde tutulması gereken bir diğer önemli durumdur. Çalışmaların sonunda, IL-1 β geninin 5. ekzonun polimorfizminin, inflamatuvar ve immunolojik prosesleri etkileyip, gebeliğin devamında önemli rol oynayan faktörlerden biri olduğu öne sürülmüştür. Bununla ilgili çalışmalarda özellikle TGK'li bayanların IL-1 β reseptör antagonist geninin polimorfik allelini, sağlıklı, hiç düşüğü olmayan bayanlara göre daha yüksek sıklıkla taşıdığı gösterilmiştir.²⁹ Yine yapılan bir çalışmada von Wolff ve arkadaşları, TGK'li kadınlarda, orta sekretuvar faz süresince endometriyumda IL-1 β ve IL-6 geni mRNA'sının anormal ekspresyonunu göstermişlerdir.³⁰ Bu konuda yapılan bir diğer çalışmada da Reid ve arkadaşları IL-1 β geninin promotör bölgesindeki bir polimorfizmi araştırmışlar ve mutant alleli taşıyan hastalarla sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptayamamışlardır.^{1, 2}

SONUÇ

Biz çalışmamızda, TGK'li 98 hastada ve 90 sağlıklı kontrolde, IL-1 β geninin 5. ekzonun polimorfizm oranını inceleyerek, iki grup arasında istatistiki açıdan

Tablo 1: Hasta ve kontrol grubu arasındaki IL-1 β ekzon 5 polimorfizminin genotip ve allel frekansları

Genotip	Hasta (n=98)	Kontrol (n=90)	p değeri	χ^2 değeri	OR (%95 GA)
E1/E1	65 (%66,3)	35 (%38,9)	0,00	14,19	3,09 (1,7-5,6)
E1/E2	28 (%28,6)	50 (%55,5)			
E2/E2	5 (%5,1)	5 (%5,5)			
Allel	Hasta (n=196)	Kontrol (n=180)	p değeri	χ^2 değeri	OR (%95 GA)
E1	158 (%80,6)	120 (%66,7)	0,002	9,469	2,08 (1,3-3,3)
E2	38 (%19,4)	60 (%33,3)			

aradaki farkın anlamlı olup olmadığını değerlendirdik. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre IL-1 β gen polimorfizminin allel ve genotip frekansları açısından, hasta ve kontrol grubu arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur. Ama bu farkın kontrol grubu bireylerinde polimorfik allel sıklığının (%33,3), tekrarlayan gebelik kaybı olan hasta grubumuza göre (%19,4) anlamlı yüksekliği şeklindedir. Bu sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalardan farklılık göstermektedir. Bu allel frekansları arasındaki farkın, çalışmaların farklı ırklar arasında yapılmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bizim Türk popülasyonundan seçtiğimiz kontrol grubumuzun polimorfik allel frekansının yine aynı popülasyondan seçilmiş hasta grubumuza göre yüksek gelmesi, polimorfizmin gebelik kaybına karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini düşündürmüştür.

Bu etkinin daha iyi anlaşılabilmesi için özellikle etnik benzerlik gösteren çalışma ve kontrol gruplarıyla planlanacak geniş kapsamlı çalışmalar planlanmalıdır. Planlanacak bu çalışmaların aydınlatıcı olması açısından, kontrol gruplarının seçiminin ve TGK kriterlerinin standardizasyonu da büyük önem taşımaktadır. Literatürden farklı olarak elde ettiğimiz sonuçlara göre IL-1 β polimorfizminin bu koruyucu etkisinin, immüniteyle ilişkisini daha ayrıntılı çözümlenebilmek için özellikle doku spesifik ekspresyon çalışmalarının planlanmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak IL-1 β polimorfizminin koruyucu etkisini tek bir çalışma ile değerlendirmek mümkün değildir. Bu konuyla ilgili çok merkezli, multidisipliner ve yüksek sayılı hasta serileriyle organize çalışmaların planlanması gerekliliğine inanıyoruz.



i İLETİŞİM İÇİN: Doç. Dr. M. Hamza Müslümanoğlu Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Meşelik/ESKİŞEHİR mhm@ogu.edu.tr
✓ GÖNDERİLDİĞİ TARİH: 06 / 01 / 2009 • KABUL TARİHİ: 04 / 05 / 2009

KAYNAKLAR

1 Lukas A.H, Clemens B.T, Michael T.B, et al. Polymorphisms of the

angiotensinogen gene, the endothelial nitric oxide synthase gene, and the interleukin-1 β gene promoter in women with idiopathic recurrent miscarriage. Mol Hum Reprod 2002; 8: 95-100.

**TEKRARLAYAN GEBELİK
KAYBI OLAN HASTALARDA
İNTERLÖKİN-1 β GEN
POLİMORFİZMİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

- 2 Reid J.G, Simpson N.A, Walker R.G, et al. The carriage of pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 45, 35-40.
- 3 American Collage of Obstetricians and Gynecologists. Early pregnancy loss. ACOG Thecnical Bulletin No. 212. Washington D.C: American Collage of Obstetricians and Gynecologists, 1995.
- 4 Orgad S, Lowenthal R, Gazit E, et al. The prognostic value of anti-paternal antibodies and leukocyte immunization on the proportion of live births in couples with consecutive recurrent miscarriages. *Hum Reprod* 1999; 14: 2974-2979.
- 5 Hefler L, Tempfer C, Unfried G, et al. A polymorphism of the IL-1 beta gene and idiopathic recurrent miscarriage. *Fertility and Sterility* 2001; 76: 377-379.
- 6 Tho PT, Byrd JR, McDonough PG. Etiologies and subsequent reproductive performance of 100 couples with recurrent abortion. *Fertil Steril* 1979; 32: 389-395.
- 7 Daya S. Efficacy of progesterone support for pregnancy in women with recurrent miscarriage. A meta-analysis of controlled trials. *Br J Obstet Gynaecol* 1989; 96: 275-280.
- 8 Kutteh WH. Recurrent pregnancy loss: an update. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; 11: 435-439.
- 9 Okon MA, Laird SM, Tuckerman EM, Li TC. Serum androgen levels in women who have recurrent miscarriages and their correlation with markers of endometrial function. *Fertil Steril* 1998; 69: 682-690.
- 10 Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 1993; 60: 820-825.
- 11 Witkin SS, Ledger WJ. Antibodies to Chlamydia trachomatis in sera of women with recurrent spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 135-139.
- 12 Simpson JL, Elias S, Meyers CM, Ober C, Martin AO. Translocations are infrequent among couples having repeated spontaneous abortions but no other abnormal pregnancies. *Fertil Steril* 1989; 51: 811-814.
- 13 Jenkins C, Roberts J, Wilson R, et al. Evidence of a TH1 type response associated with recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2000; 6: 1206-1208.
- 14 Coulam CB, Clark DA, Collins J, Scott JR, Schlesselman JJ. A worldwide collaborative observational study and metaanalysis on allogenic leukocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 1994; 23: 55-72.
- 15 Kutteh WH, Park VM, Deitcher SR. Hypercoagulable state mutation analysis in white patients with early first-trimester recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 1999; 71: 1048-1053.
- 16 Sugi T, Katsunuma J, Izumi S, McIntyre JA, Makino T. Prevalence and heterogeneity of antiphosphatidylethanolamine antibodies in patients with recurrent early pregnancy losses. *Fertil Steril* 1999; 71: 1060-1065.
- 17 Wilson R, Ling H, MacLean MA, et al. Thyroid antibody titer and avidity in patients with recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 1999; 71: 558-561.
- 18 Beer AE. Immunopathologic factors contributing to recurrent spontaneous abortions in humans. *Am J Reprod Immunol* 1983; 4: 182-184.
- 19 Wang Z, Hill J, Yunis E, Xiao L, Anderson J. Maternal CD46H*2 and IL1B-511*1 homozygosity in T helper 1-type immunity to trophoblast antigens in recurrent pregnancy loss. *Human Reproduction* 2006; 21: 818-822.
- 20 Eblen AC, Gercel-Taylor C, Shields LB, et al. Alterations in humoral immune responses associated with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2000; 2: 305-313.
- 21 Dinarello CA. Biology of interleukin-1. *FASEB J* 1998; 2: 108-115.
- 22 Dinarello CA. Inflammatory cytokines: interleukin-1 and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune diseases. *Curr Opin Immuno* 1991; 3: 941-948.
- 23 Schrijer HM, Crusius JB, Uitdehaag BM, et al. Association of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist genes with disease severity in MS. *Neurology* 1999; 52: 595-599.
- 24 Bioque G, Crusius JB, Koutroubakis I, et al. Allelic polymorphism in IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) genes in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 379-383.
- 25 Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 396-402.
- 26 Santtila S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand J Immunol* 1998; 47, 195-198.
- 27 Hill JA, Polgar K, Anderson DJ. T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion. *JAMA* 1995; 273: 1933-1936.
- 28 Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosman TR. Bidirectional cytokine interaction in maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993; 14: 353-356.
- 29 Unfried G, Tempfer C, Schneeberger C, et al. Interleukin 1 receptor antagonist polymorphism in women with idiopathic recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2001; 75: 683-687.
- 30 Von Wolff M, Thaler CJ, Strowitzki T, et al. Regulated expression of cytokines in human endometrium throughout the menstrual cycle: dysregulation in habitual abortion. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 627-634.