

İkinci Trimester Amniotik Sıvı İnterlökin-6, İnterlökin-8 ve Tümör Nekrozis Faktör-Alfa Seviyeleri ile Erken Doğumun ve Preeklampsinin İlişkisi

THE RELATIONSHIP BETWEEN SECOND TRIMESTER AMNIOTIC FLUID INTERLEUKIN-6, INTERLEUKIN-8 AND TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA LEVELS AND PRETERM LABOR-PREECLAMPSIA

Dr. Cemil KAYMAZ,^a Dr. Namık DEMİR,^a Dr. Dilek ÇIMRIN,^b
Dr. Sabahattin ALTUNYURT,^a Dr. Bahadır SAATLI,^a Dr. Özgür BİGE^a

^aKadın Hastalıkları ve Doğum ABD, ^bBiyokimya AD, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İZMİR

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı erken ikinci üçay amniotik sıvı interlökin-6, interlökin-8 ve tümör nekrozis faktör-alfa seviyelerinin erken doğumları ve preeklampsi gelişimini öngörmedeki etkinliğinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Haziran 2003 ve Haziran 2006 tarihleri arasında kromozomal analiz amacıyla yapılan erken ikinci üçay amniosentez sıvılarında İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyeleri kemiluminesant sequential immünometrik yöntem ile ölçüldü. Üç grup belirlendi; erken doğum grubu (gestasyonel yaş < 37 hafta) (grup 1) (n= 24), preeklampsi grubu (grup 2) (n= 10) ve termde doğum yapmış komplikasyonsuz gebeler, kontrol grubu (n= 30). Fetal anöploidiler, fetal anomaliler ve çoğul gebelikler, servikal yetmezlik ve uterin anomaliler saptanan gebelik olguları çalışma dışı bırakıldı.

Bulgular: Ortalama amniotik sıvı İL-6 ve İL-8 seviyeleri erken doğum ve preeklampsi gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p> 0.05). Ortalama amniotik sıvı TNF- α seviyeleri gruplar arasında farklılık göstermedi (p> 0.05).

Sonuç: Erken ikinci üçay amniotik sıvı İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyelerinin yüksekliği 37. gebelik haftasından önce olan doğumlar ve preeklampsinin öngörülmesinde faydalı bir belirteç olarak görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Erken doğum; preeklampsi; amniotik sıvı; interlökin-6; interlökin-8; tümör nekrozis faktör-alfa

Abstract

Objective: The aim of the study is to determine the significance of the levels of IL-6, IL-8 and TNF- α in amniotic fluid for to predict preterm labor and preeclampsia at early second trimester

Materials and Methods: Amniotic fluid IL-6, IL-8 and TNF- α levels were measured by chemiluminescent sequential immunometric assay obtained from women undergoing early second trimester genetic amniocentesis between 2003 June and 2006 June. Three groups were investigated; a preterm labor group (gestational age < 37 weeks) (group1) (n= 24), a preeclampsia group (group 2) (n= 10) and a control group from uncomplicated term deliveries (n= 30). Fetal aneuploidies, fetal anomalies and pregnancies with multiple gestations, preterm labor due to cervical insufficiency and uterine anomalies were excluded.

Results: Mean amniotic fluid IL-6 and IL-8 levels in preterm labor and preeclampsia group were higher than the control group, but the difference was not statistically significant (p> 0.05). Mean amniotic fluid TNF- α level was not different among groups (p> 0.05).

Conclusion: Mean early second trimester amniotic fluid IL-6 and IL-8 levels are not valuable markers in predicting preterm labor and preeclampsia.

Key Words: Premature birth; pre-eclampsia; amniotic fluid; interleukin-6; interleukin-8; tumor necrosis factor-alpha

Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2007, 17:292-297

Erken doğum (ED) pek çok potansiyel nedeni olan bir durumdur. Antenatal üst genital yol enfeksiyonunun ED ile ilişkisi

gösterilmiştir.¹⁻⁴ Enfeksiyon her zaman aşık olmadığı için erken doğum eylemi bu patolojik sürecin ilk bulgusu olabilir. Erken doğumda, enfeksiyona ikincil olarak anneye ait immünolojik yanıt ta rol oynayabilir. Erken doğumda patofizyolojik olaylar zinciri, vagina ve endoservikste mikrorganizmaların, servikal kanal yoluyla asendan olarak yayılması sonucu desidua parietalite ve fetal membranlarda kolonizasyonu ile başlar. Bunu ta-

Geliş Tarihi/Received: 30.01.2007 Kabul Tarihi/Accepted: 26.03.2007

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Cemil KAYMAZ
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, İZMİR
kaymazc@yahoo.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

kiben amniotik kaviteye mikrobial yayılma olur. Bunun sonucunda da ortaya çıkan bakterial endotoksinlerin ve ekzotoksinlerin organizmada enflamatuvar yanıt oluşturduğuna, buna ikincil olarak sitokinlerin salındığına ve ED sürecinin başladığına inanılmaktadır. Ortaya çıkan sitokinlerin uterotonik biyoaktif lipidlerin (prostaglandin E₂, prostaglandin F_{2α}, tromboksan A₂, lökotrien B₄ ve C₄, hidroperoksieikosatetraenoik asit [5-HETE]) üretimini uyardığı, bunun da uterus kasılmalarına neden olduğu ve buna bağlı olarak ta servikal dilatasyon ve silinme gerçekleştiği düşünülmektedir. Bununla beraber, salınan proinflamatuvar sitokinlere bağlı desidüadan proteazların üretimi artmakta, bu da servikal değişikliğe ve amnion zarının yırtılmasına neden olarak ED eylemini başlatmaktadır. Yapılmış çalışmalarda İL-6, İL-8 ve TNF-α gibi sitokinlerin seviyelerinin ED yapan kadınların amnion sıvılarında artmış olduğu ileri sürülmüştür.⁵⁻⁸ Ayrıca birçok çalışmada ED yapan kadınların ikinci üçayda, amnion sıvısı kültürüyle ispatlanmış bir subklinik intraamniotik enfeksiyon geçirdiği de gösterilmiştir.^{9,10} Bununla birlikte yapılan bir çalışmada da ED yapan kadınların 15-20. gebelik haftaları arasında bakılan amnion sıvısı İL-6 seviyesinin yüksek olduğu ve bunun da koryoamnion kolonizasyonu ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.¹¹

Sitokinlerin gebelikte önemli bir rol üstlendiği bilinmektedir.^{12,13} Plasenta, trofoblastlar, amnion ve desidüda çok sayıda sitokin üretilir. Plasental gelişim, fetusa ait trofoblast hücrelerinin spiral arterlerin duvarlarını invaze ettiği, myometriyumun derin tabakalarına doğru göçünü içeren karmaşık bir süreçtir. Preeklampsi anneye ve bebeğe ait mortalite-morbiditenin en önemli nedenlerinden biridir. Preeklampsi, anormal plasantasyon, azalmış plasental kan akımı, endotel hücre fonksiyon bozukluğu ve sistemik vazospazm ile birliktelik gösterir. Yetersiz trofoblast invazyonunun plasental hipoksi riskinde artışa yol açabilecek spiral arterlerde yetersiz yapılanmaya neden olduğu ve bunun da preeklampsi gelişimine sebep olduğu iddia edilmektedir.

Daha önce yapılmış bazı çalışmalarda, hem takiplerinde preeklampsi gelişen gebelerin ikinci üçaydaki amnion sıvılarında ve hem de preeklampsi

tanısı almış gebelerin plazma ve amnion sıvılarında sitokinler çalışılmıştır. Preeklampsi tanısı alan gebelerin plazma, amniotik sıvı ve plasenta TNF-α seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır,¹⁴⁻¹⁶ İL-6 düzeylerinin preeklampsi hastaların plazmalarında yükseldiği gösterilmiştir¹⁶ ve ayrıca ikinci üçaydaki amniotik sıvı İL-6 ve İL-8 seviyeleri yüksek olan gebelerin takiplerinde preeklampsi geliştiği izlenmiştir.¹⁷

Bu bulgular ışığında, bu çalışmada ED yapan kadınlarda koryoamnion enflamasyonunun ikinci üçayda saptanabilmesi, preeklampsi hastalarında ise anormal fetomaternal immün cevap hakkında bilgi edinilmesi ve amniotik sıvı sitokin düzeylerinin erken doğum ve preeklampsi öngörüsünde yararlı olup olamayacağının değerlendirilmesi amaçlandı. Bunun için de erken ikinci üçay amnion sıvısı örneklerinde İL-6, İL-8 ve TNF-α seviyelerine bakıldı.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışmamız için, kromozom analizi amacıyla 15-20. gebelik haftaları arası amniosentez yapılan gebelerin, amniotik sıvı örneklerinin dondurularak saklandığı amniotik sıvı bankamızı kullandık. Amniosentez sıvıları uzman bir perinatolog tarafından ultrason eşliğinde, 22 G spinal iğne kullanılarak elde edildi. Alınan amnion sıvılarının yaklaşık 2 ml'sinin klinik çalışmalarda kullanılabilmesi amacı ile saklanacağı konusunda hastalara bilgi verildi ve imzalı onam formları alındı. Daha sonra alınan bu sıvılar -80 °C'de dondurularak saklandı. Kan içeren amnion sıvıları çalışma sonuçlarını etkileyebileceği düşünülerek çıkarıldı. Bütün olgularda amniosentez sırasında amnion keseleri sağlamdı ve tüm gebelerin tansiyon arterial değerleri normal sınırlardaydı. Bununla beraber erken doğuma neden olabilecek fetal anöploidi, fetal anormallikler, çoğul gebelikler, servikal yetmezlik ve uterin anomalileri olan kadınlar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalar, kliniğimizde amniosentez yapılmış ve amnion sıvısı dondurularak saklanmış, bununla birlikte kliniğimizde gebelik sonuçlarına ait kayıtları olanlar arasından seçildi. Sonuçta gebeliğinin 15-20. haftalarında kliniğimiz-

de amniosentez yapılmış, 24-37. gebelik haftaları arası ED yapan kadınlardan (n= 24) birinci çalışma grubu, rutin gebelik takipleri sırasında preeklampsi tanısı almış kadınlardan (n= 10) ise ikinci çalışma grubu, bunlara karşılık 37. gebelik haftası sonrası komplikasyonsuz doğum yapan kadınlardan ise kontrol grubu (n= 30) oluşturuldu. Preeklampsi tanısı 20. gebelik haftasından sonra olan arteriyel kan basıncındaki yükseklik (TA \geq 140/90 mmHg) ve 24 saatlik idrarda artmış protein atılımı (proteinüri \geq 300 mg/24saat) göz önüne alınarak kondu.¹⁸

İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyeleri kemiluminesant sequential immünometrik yöntem ile ölçüldü (DPC Immulite 1000, ABD). Kullanılan ölçüm yönteminin İL-6 ve İL-8 için analitik duyarlılığı 2 pg/ml, TNF- α için ise 1.7 pg/ml idi. Bakılan sitokinlerin intraassay ve interassay CV'leri sırasıyla; İL-6 için %4.3 ve %7.3, İL-8 için %3.8 ve %5.2, TNF- α için %3.5 ve %5.8 idi. Yüksek seviyelerde İL-6 ve İL-8 gösteren örneklerde dilüsyon üretici tarafından önerilen solüsyon ile yapıldı.

Gruplardaki amniyotik sıvı İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyeleri Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. $p < 0.05$ istatistiki olarak anlamlı kabul edildi. Değerler pg/ml cinsinden \pm standart deviasyonları ile birlikte sunuldu.

Sonuçlar

Maternal demografik özellikler (maternal yaş, gravide, parite, amniosentez sırasındaki gebelik haftası, doğum sırasındaki gebelik haftası ve doğum kilosu) erken doğum-preeklampsi ve non-komplike term doğumlar için ayrı gruplandırıldı (Tablo 1). Ortalama maternal yaş, gravide, parite ve amniyo-

sentez sırasındaki gebelik haftası her üç grupta benzerdi ve her üç grup arasında bu değişkenler açısından istatistiki bir fark yoktu. Doğum sırasındaki gebelik haftası ve doğum kilosu açısından ise çalışma grupları ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptandı (Tablo 1).

Erken doğum yapan kadınlarda yapılan amniosentezlerin %48'i ileri anne yaşı, %40'ı artmış ikili ve üçlü tarama testi riski ve %12'si diğer nedenlerden dolayı yapılmıştı. Preeklampsi grubunda olan kadınlarda yapılan amniosentezlerin %46'sı ileri anne yaşı, %46'sı artmış ikili ve üçlü tarama testi riski ve %8'i diğer nedenlerden dolayı ve kontrol grubunda yer alan kadınlarda yapılan amniosentezlerin ise %50'si ileri anne yaşı, %47'si artmış ikili ve üçlü tarama testi riski ve %3'ü diğer nedenlerden dolayı yapılmıştı.

Amniyotik sıvı İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyeleri açısından erken doğum yapan grup ile term doğum yapan grup arasında istatistiki bir fark izlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 2).

İkinci çalışma grubu olan preeklampsi hastalarında ise amniyotik sıvı İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyeleri açısından preeklampsi ve komplikasyonsuz gebeler arasında istatistiki bir fark izlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 3).

Tartışma

Erken doğum maternal ve fetal faktörleri içine alan karmaşık bir durum olsa da kesin mekanizması halen bilinmemektedir. Üst genital yol enfeksiyonu ve bu enfeksiyonla ilişkili histolojik koryoamnionit, kültürle ispatlanmış amnion, koryon ve amniyotik sıvı enfeksiyonu erken doğum ile ilişkili bulunmuştur.¹⁻⁴

Tablo 1. Erken doğum, preeklampsi ve term doğum gruplarındaki maternal demografik özellikler.

	Grup 1 (Erken doğumlar) (n = 24)	Grup 2 (Preeklampsi) (n = 10)	Kontrol grubu (Term doğumlar) (n= 30)
Maternal yaş (yıl)	34.4 \pm 5	33.5 \pm 5.3	34.8 \pm 3.9
Gravide	2.6 \pm 1.8	2.1 \pm 1.2	2.6 \pm 1.2
Parite	0.9 \pm 1.1	0.6 \pm 0.8	0.8 \pm 0.5
Amniosentez haftası	16.5 \pm 1	16.7 \pm 0.7	16.5 \pm 1.2
Doğum haftası	34.3 \pm 1.6	34.1 \pm 5.4	38.5 \pm 0.6*
Doğum kilosu (g)	2567.6 \pm 429.1	2007.2 \pm 1120.9	3422 \pm 348.9*

Tüm veriler ortalama değer \pm standart deviasyon ile birlikte sunulmuştur. * $p < 0.001$.

Tablo 2. Erken doğum ve term doğum gruplarındaki erken ikinci üçay amniotik sıvı İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyeleri.

	Grup 1 (Erken doğumlar) (n = 24)	Kontrol grubu (Term doğumlar) (n = 30)	p değeri
İL-6 seviyeleri (pg/ml)	421.6 \pm 334.3	345.1 \pm 230.9	> 0.05
İL-8 seviyeleri (pg/ml)	519 \pm 350.5	426.1 \pm 233	> 0.05
TNF- α seviyeleri (pg/ml)	29.7 \pm 8.3	29.2 \pm 3.9	> 0.05

Tüm veriler ortalama değer \pm standart deviasyon ile birlikte sunulmuştur .

Tablo 3. Preeklampsi ve komplikasyonsuz gebelerin olduğu gruplardaki erken ikinci üçay amniotik sıvı İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyeleri.

	Grup 2 (Preeklampsi) (n = 10)	Grup 2 (Preeklampsi) (n = 10)	p değeri
İL-6 seviyeleri (pg/ml)	428.4 \pm 264.7	345.1 \pm 230.9	> 0.05
İL-8 seviyeleri (pg/ml)	496.5 \pm 411.2	426.1 \pm 233	> 0.05
TNF- α seviyeleri (pg/ml)	27.8 \pm 2.9	29.2 \pm 3.9	> 0.05

Tüm veriler ortalama değer \pm standart deviasyon ile birlikte sunulmuştur .

Bu çalışmada, erken ikinci üçay amniotik sıvı örneklerinde İL-6, İL-8 ve TNF- α düzeylerine bakıldı. Bu çalışmada erken doğum yapan kadınlarda koryoamnion eflamasyonunu ikinci üçayda saptamak, preeklampsi hastalarında ise anormal fetomaternal immün cevap hakkında bilgi edinmek ve amniotik sıvı sitokin düzeylerinin erken doğum ve preeklampsi öngörüsünde yararlı olup olamayacağı değerlendirilmesi amaçlandı. Amnion sıvısında baktığımız sitokinler açısından hem erken doğum yapan hastalar hem de preeklampsi grubu ile normal kontroller arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı. Buna karşılık amniotik sıvı İL-6 ve İL-8 seviyelerinin ortalama değerleri hem erken doğum grubunda hem de preeklampsi grubunda normal kontrollere göre daha yüksek bulundu.

TNF- α preeklampsi patogenezindeki önemli proinflatuar sitokinlerden biri olarak kabul edilmektedir.¹⁹ Çalışmada amniotik sıvı TNF- α seviyeleri açısından preeklampsi ve normal kontroller arasında anlamlı bir fark saptamadık. TNF- α ortalama değerlerini ise preeklampsi grubunda minimal düşük bulduk. Bu da büyük olasılıkla TNF- α 'nın preeklampsi semptomatik olduktan sonra yükseldiği ve hastalığın ilerlemesinin bir sonucu olduğu görüşünü desteklemektedir.

Günümüze kadar yapılmış birçok çalışmada hem ikinci üçay amnion sıvılarında ve hem de üçüncü üçay preeklampsi tanısı almış gebelerin amnion sıvılarında sitokin seviyelerinin yüksekliği gösterilmiştir. Bu durum anormal fetomaternal immün cevaba bağlanmıştır. İkinci üçayda amniotik sıvı İL-6 ve İL-8 yüksekliği ile preeklampsi gelişmesi arasındaki pozitif ilişki Nakabayashi ve ark.nın¹⁷ yapmış olduğu çalışmada yayınlanmıştır. Bu çalışmada preeklampsi patogenezinin henüz başladığı ancak hastalığın aşikar hale gelmediği ikinci üçayda amniotik sıvı sitokin düzeylerine bakılmıştır. Takiplerinde preeklampsi gelişen gebelerin ikinci üçayda bakılan amniotik sıvı İL-6 ve İL-8 seviyeleri anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur¹⁷ ve yine bu durum etyolojide öne sürülen anormal immün cevabı desteklemektedir. Yirmibir şiddetli preeklampsi hastasının değerlendirildiği bir diğer çalışmada ise, preeklampsi grubunda hem plazmada ve hem de amnion sıvısında TNF- α seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı daha yüksek saptanmıştır.¹⁵ TNF- α 'nın bu yüksekliği preeklampsinin patogenezinde rol oynayan anormal immün aktivasyona bağlanmıştır. Ancak bu çalışmanın sonuçları bu verileri desteklememektedir.

Hillier ve ark.,⁵ 34. gebelik haftası öncesi erken doğum eylemi gelişen gebelerde, doğum önce-

si 7 gün içerisinde amniotik sıvı İL-6, İL-1 α , İL-1 β ve TNF- α gibi sitokin düzeylerinin yükseldiğini, amniotik sıvı kültürü ve plasentanın histopatolojik incelemesi ile de amniyotik enfeksiyonu ve histolojik koryoamnionitisi göstermişlerdir. Kara ve ark.,²⁰ randomizasyonla seçilen, fetal zarların sağlam olduğu erken doğum eylemi tanısı almış toplam 74 hastanın amniosentez sıvılarında İL-6 düzeylerini ölçmüşlerdir. Amniotik sıvı İL-6 düzeyi yüksekliğinin pozitif amniotik sıvı kültürü ve histolojik koryoamnionitis ile uyumlu olduğunu ve diğer tetkiklere göre erken doğumun daha iyi öngörebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Amniotik sıvı sitokin düzeyleri ile erken doğum arasındaki ilişki bilinmesine rağmen koryoamnion ve amniotik kavitedeki enflamasyonun ne zaman başladığı ve ne kadar subklinik seyrettiği bilinmemektedir. Bu çalışma erken doğum etiolojisindeki enflamatuvar sürecin erken ikinci üçayda henüz başlamadığı ve buna bağlı olarak sitokin seviyelerinde anlamlı bir yükseklik olmadığı ve bu subklinik enflamasyonun orta ve geç ikinci üçayda bakılan amniotik sıvı sitokin yükseklikleri ile gösterilebileceği fikrini desteklemektedir.

Romero ve ark.nın,²¹ zarları sağlam ED eyleminde olan 120 hastada yaptıkları çalışmada, amniosentez-doğum arasındaki zaman diliminde, amniotik sıvı İL-6 seviyelerinin amniotik kavitedeki mikrobiyal invazyonu amniotik sıvı gram boyama, glukoz konsantrasyonu ve beyaz küre sayısına nazaran daha iyi gösterdiğini saptamışlardır. Üçüncü üçayda yapılan bir diğer çalışmada da, düzenli uterus kasılmalarına eşlik eden servikal değişikliklerin olduğu 37. gebelik haftası öncesi ED eylemi tanısı almış toplam 29 hastanın amniosentez sıvılarında ölçülen İL-6 seviyeleri, komplikasyonsuz gebelerin olduğu kontrol grubuna göre anlamlı daha yüksek bulunmuştur.²²

Apuzzio ve ark.,²³ 36. gebelik haftasından önce ED yapan 15 hastanın, 15-23. gebelik haftaları arası kromozom analizi amacıyla yapılan amniosentez sıvılarında İL-6 seviyelerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır ve erken ikinci üçayda yüksek amniotik sıvı İL-6 seviyelerinin erken doğumu öngörebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bu çalışmada, amniotik sıvıda bakılan sitokin düzeylerinde, hem ED yapan hasta grubunda ve hem de preeklampsisi grubunda kontrollere göre anlamlı bir fark saptanmadı. Bu durum bahsedilen literatür verilerini desteklememektedir.

Sonuç olarak, erken ikinci üçay amniotik sıvı İL-6, İL-8 ve TNF- α seviyelerinin yüksekliği 37. gebelik haftasından önce olan doğumlar ve preeklampsinin öngörülmesinde faydalı bir belirteç olarak görülmemektedir. Ancak bu konuda daha fazla sayıda olgu ile yapılacak ve daha fazla sitokinin inceleneceği çalışmalar ile bu bulguların desteklenmesi gerekmektedir. Amniotik sıvıdaki sitokin düzeylerine orta ve geç ikinci üçayda bakılması ile daha farklı bulgular elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Minkoff H. Prematurity: Infection as an etiologic factor. *Obstet Gynecol* 1983;62:137-44.
2. Hillier SL, Martius J, Krohn MA, Kiviat NB, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med* 1988;319:972-8.
3. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschenbach DA, Sweet RL. A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1515-28.
4. Andrews WW, Goldenberg RL, Hauth JC. Preterm labor: emerging role of genital tract infections. *Infect Agent Dis* 1995;4:196-211.
5. Hillier SL, Witkin SS, Krohn MA, Watts DH, Kiviat NB, Eschenbach DA. The relationship of amniotic fluid cytokines and preterm delivery, amniotic fluid infection, histologic chorioamnionitis, and chorioamnion infection. *Am J Obstet Gynecol* 1993;81:941-8.
6. Greig PC, Ernest JM, Teot L, Erikson M, Talley R. Amniotic fluid interleukin-6 levels correlate with histologic chorioamnionitis and amniotic fluid cultures in patients in premature labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1035-44.
7. Mitchell MD, Dudley DJ, Edwin SS, Schiller SL. Interleukin-6 stimulates prostaglandin production by human amnion and decidual cells. *Eur J Pharmacol* 1991;192: 189-91.
8. Cherouney PH, Pankuch GA, Romero R, Botti JJ, Kuhn DJ, Demers LM, Appelbaum PC. Neutrophil attractant/activating peptide-1/interleukin-8: association with histologic chorioamnionitis, preterm delivery, and bioactive amniotic fluid leukoattractants. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1299-303.
9. Goldstein I, Zimmer EX, Merzbach D, Peretz BA, Paldi E. Intraamniotic infection in the very early phase of the second trimester. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1261-3.
10. Gray DJ, Robinson HB, Malone J, Thomson RB Jr. Adverse outcome in pregnancy following amniotic fluid isolation of *Ureaplasma urealyticum*. *Prenat Diagn* 1992;12: 111-7.

11. Wenstrom KD, Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL, DuBard MB, Cliver SP. Elevated second-trimester amniotic fluid interleukin-6 levels predict preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:546-50.
12. Raghupathy R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunol Today* 1997;18:478-82.
13. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the materna-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993;14:353-6.
14. Wang Y, Walsh SW. TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas. *J Reprod Immunol* 1996;32:157-69.
15. Kupfermanc MJ, Peaceman AM, Wigton TR, Rehnberg KA, Socol ML. Tumor necrosis factor-alpha is elevated in plasma and amniotic fluid of patients with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1752-7.
16. Vince GS, Starkey PM, Austgulen R, Kwiatkowski D, Redman CW. Interleukin-6, tumor necrosis factor and soluble tumor necrosis factor receptors in women with pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:20-5.
17. Nakabayashi M, Sakura M, Takeda Y, Sato K. Elevated IL-6 in midtrimester amniotic fluid is involved with the onset of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1998;39:329-34.
18. National High Blood Pressure Education Program: Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:51.
19. Stark JM. Pre-eclampsia and cytokine induced oxidative stress. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:105-9.
20. Kara M, Ozden S, Arioglu P, Cetin A. The significance of amniotic fluid interleukin-6 levels in preterm labour. *Aust N Z J Obstet Gyneacol* 1998;38:403-6.
21. Romero R, Yoon BH, Mazor M, et al. The diagnostic and prognostic value of amniotic fluid white blood cell count, glucose, interleukin-6, and Gram stain in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:805-16.
22. Silver RM, Schwinzer B, McGregor JA. Interleukin-6 levels in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancies: preeclampsia, small-for-gestational-age fetus and premature labor. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1101-5.
23. Apuzzio J, Chan Y, Al-Khan A, Illsley N, Kim PL, Vonhaggen S. Second-trimester amniotic fluid interleukin-10 concentration predicts preterm delivery. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2004;15:313-7.