

Valentina Vošner<sup>1</sup>, Larisa Tratnjek<sup>2</sup>, Renata Košir Pogačnik<sup>3</sup>, Mateja Erdani Kreft<sup>4</sup>, Andreja Trojner Bregar<sup>5</sup>

## Prezgodnji predčasni razpok plodovih ovojev – možnosti zmanjšanja njegove incidence v prihodnosti

*Preterm Premature Rupture of Membranes – Potential Ways to Reduce the Incidence in the Future*

### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: plodovi ovoji, humana amnijska membrana, razpok plodovih ovojev, prezgodnji porod, preprečevanje prezgodnjega predčasnega razpoka plodovih ovojev, biološki označevalci

Plod v maternici obdajajo plodovi ovoji, ki mu nudijo mehansko in imunsko zaščito. V normalnih razmerah ostanejo celotno obdobje nosečnosti, tj. do 42 tednov, intaktni. Razpok plodovih ovojev se lahko zgodi pred začetkom popadkov oz. predčasno (predčasni razpok plodovih ovojev) ali med porodom, ki se je začel s popadki. V Sloveniji se približno 6 % porodov zgodi pred zaključenim 37. tednom nosečnosti in jih zato uvrščamo med prezgodnje porode. Prezgodnji porod je najpogostejši razlog za umrljivost in obolevnost novorojenčkov. Skoraj dve tretjini prezgodnjih porodov se začne spontano, polovica od teh se prične s popadki, polovica pa s spontanim razpokom plodovih ovojev. Prezgodnji predčasni razpok plodovih ovojev vodi v slabši kratkotrajni in dolgotrajni izid za novorojenčka. Poznavanje zgradbe in mehanizma razpoka plodovih ovojev je ključno za zgodnje prepoznavanje in preprečevanje morebitnega prezgodnjega predčasnega razpoka plodovih ovojev. Kljub znanim kliničnim in epidemiološkim dejavnikom tveganja ostajajo številni prezgodnji predčasni razpoki plodovih ovojev nepojasneni. Na podlagi podatkov iz literature vemo, da je razpok plodovih ovojev povezan z določenimi celično-biološkimi procesi. Pričujoči prispevek opisuje do sedaj znane mehanizme prezgodnjega predčasnega razpoka plodovih ovojev in predstavi nekatera novejša dognanja v povezavi s patofiziologijo in biološkimi označevalci, ki so povezani z njegovim prepoznavanjem.

<sup>1</sup> Valentina Vošner, dr. med., Oddelek za splošno in abdominalno kirurgijo, Splošna bolnišnica Slovenj Gradec, Gosposvetska cesta 3, 2380 Slovenj Gradec

<sup>2</sup> Znan. sod. dr. Larisa Tratnjek, univ. dipl. biol., Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

<sup>3</sup> Doc. dr. Renata Košir Pogačnik, dr. med., Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šljajmerjeva ulica 3, 1000 Ljubljana

<sup>4</sup> Prof. dr. Mateja Erdani Kreft, univ. dipl. biol., Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

<sup>5</sup> Doc. dr. Andreja Trojner Bregar, dr. med., Klinični oddelek za perinatologijo, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šljajmerjeva ulica 3, 1000 Ljubljana; Katedra za ginekologijo in porodništvo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Šljajmerjeva ulica 3, 1000 Ljubljana; andreja.trojnerbregar@mf.uni-lj.si

## ABSTRACT

KEY WORDS: fetal membranes, amnion membrane, rupture of membranes, preterm labour, prevention of preterm premature rupture of membranes, biomarkers

The fetus in the uterus is surrounded by fetal membranes, which provide mechanical and immune protection. Under normal conditions they remain intact for the entire period of pregnancy, i.e. up to 42 weeks. Rupture of fetal membranes can occur before the onset of contractions or prematurely (premature rupture of membranes), or during labor that began with contractions. In Slovenia, approximately 6% of births occur before the 37th week of pregnancy and are therefore classified as preterm births. Preterm labour is the most common cause of neonatal morbidity and mortality. Almost two thirds of spontaneous preterm labours begin spontaneously, about half of which are initiated with contractions while the other half begin with a spontaneous rupture of fetal membranes. Preterm premature rupture of membranes worsens short- and long-term outcomes for the newborn. Understanding the structure and mechanism of the rupture of membranes is crucial for the prediction and prevention of potential preterm premature rupture of membranes. Despite the recognized clinical and epidemiological factors for preterm premature rupture of membranes, many remain unexplained. Based on the data found in literature we know that certain cellular biological processes are associated with the rupture of membranes. This narrative review presents known mechanisms of preterm premature rupture of membranes and gathers new insights into the pathophysiology and various markers for predicting its pathology.

## UVOD

Plodovi ovoji med nosečnostjo odprejo maternično votlino. Sestavljeni so iz amnija ali humane amnijske membrane (hAM) in horija ali humane horijske membrane (angl. *human chorion membrane*, hCM), ki ju povezuje s kolagenom bogat zunajcelični matriks. hAM in hCM sta po izvoru plodovi tkivi, ki varujeta plod in imata pomembno vlogo v vzdrževanju nosečnosti. Plodovi ovoji so v nosečnosti izpostavljeni stalnim strukturnim, mehničnim in endokrinim spremembam (1). Predčasni razpok plodovih ovojev (angl. *premature rupture of membranes*, PROM) je opredeljen kot razpok, ki se zgodi pred začetkom popadkov in ob porodu ob roku normalno vodi v porod v naslednjih 12 do 24 urah (2). Večji izziv predstavlja prezgodnji predčasni razpok plodovih ovojev (angl. *preterm premature rupture of membranes*, pPROM), ki se zgodi pred 37. tednom nosečnosti in v Sloveniji

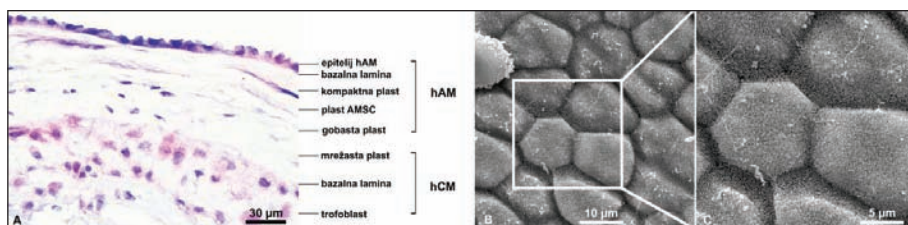
predstavlja približno 3% porodov ter ostaja v veliki meri idiopatski (1). pPROM poveča tveganje za izpad popkovnice, premajhno količino plodovnice (oligohidramnija), prezgodnjo ločitev pravilno ležeče posteljice, vnetje tankega in debelega črevesa z razjedami in nekrozami (nekrotizirajoči enterokolitis), sindrom dihalne stiske novorojenčka, smrt ploda in vnetje plodovih ovojnic zaradi bakterijske okužbe (horioamnionitis) (3, 4). Umrljivost novorojenčkov ob prezgodnjem porodu (PP) je v skupini pPROM večja kot v vseh drugih podskupinah PP, kot so med drugim preeklampsija, nosečnostna sladkorna bolezen ali iatrogeno sprožen PP (1). Nosečnice s pPROM imajo ob naslednji nosečnosti povečano tveganje za njegovo ponovitev (5). Zaradi povečanega tveganja za plod in mater zahteva skrbno bolnišnično obravnavo. Pomemben izziv v manjšanju incidence pPROM je prepoznavanje pomožnih

napovednih dejavnikov in razvoj presejalnih testov za njegovo predvidevanje.

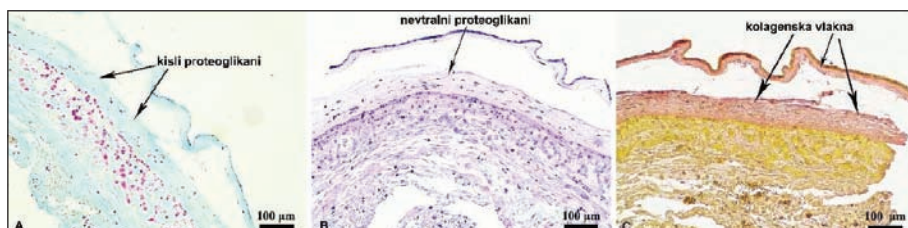
## ANATOMIJA IN HISTOLOGIJA PLODOVIH OVOJEV

hAM je k plodu obrnjen del posteljice, ki predstavlja plodove ovoje ter plodu nudi mehansko in imunsko zaščito (6). Ovoji posteljice izvirajo iz izvenembrionalnega tkiva, ki je sestavljeno iz plodovega dela (horijska plošča), ki pokriva plodovo stran, in iz materinega dela (decidua), ki pokriva materino stran. Plodov del gradita hAM in hCM, ki ločujeta plod od endometrija (7). Razvoj hAM in hCM kot enotne strukture se zaključi do 12. tedna nosečnosti (1). hAM sestavljajo trije deli: epitelij, debela bazalna lamina in avaskularna stroma iz kompaktne plasti, plasti amnijskih mezenhimskih stromalnih celic (AMSC) in zrelih mezenhimskih stromalnih fibroblastov ter

iz gobaste (intermediarne) plasti. hCM sestavljajo mrežasta (retikularna) plast in trofoblast (sliki 1 in 2) (7). Enoskladni epitelij hAM gradijo amnijske epitelijske celice (AEC), ki se med seboj povezujejo z dezmosomi in tesnimi stiki; tesni stiki se začnejo proti koncu nosečnosti rahljati, ko se med drugim zmanjša izražanje beljakovine okcludina (8). Plast AEC leži najbližje plodu ter zagotavlja izgradnjo različnih biološko aktivnih snovi in je s hemidezmosomi trdno pritrjena na bazalno lamino, slednja pa na spodaj ležečo kompaktno plast, ki jo sestavljajo kolageni tipa I, III, V in VI. hAM ne vsebuje žil ali živcev, temveč dobi hranilne snovi z neposredno difuzijo iz plodovnice oz. iz spodaj ležečega endometrija (7, 8). Bazalna lamina med nosečnostjo predstavlja oporo AEC in velja za eno najdebelejših bazalnih lamin v človeških tkivih (9). Tabela 1 prikazuje natančnejšo



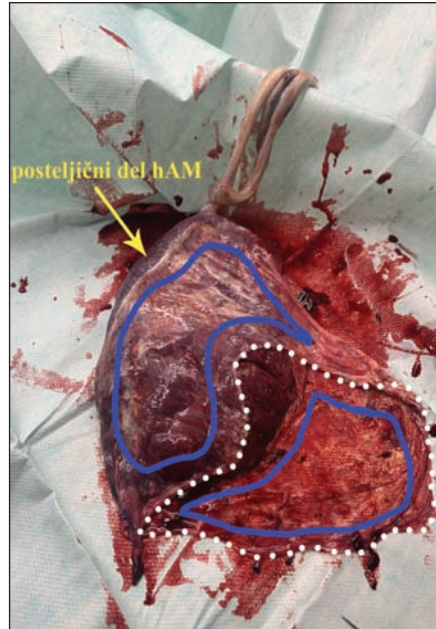
**Slika 1.** Histološka zgradba plodovih ovojev – humane amnijske membrane (hAM) in humane horijske membrane (angl. *human chorion membrane*, hCM), barvanje s hematoksilinom in eozinom (A). Amnijske epitelijske celice (AEC), posnete z vrščičnim elektronskim mikroskopom (B, C). AMSC – amnijske mezenhimske stromalne celice.



**Slika 2.** Parafinski vzorci plodovih ovojev, barvani z alcianskim modrilom, ki dokazuje prisotnost kislih proteoglikanov (svetlo modra barva) in z jednim rdečilom (angl. *nuclear fast red*), ki jedra celic obarva rožnato (A), reakcijo z uporabo perjodove kisline in Schiffovega reagenta (angl. *periodic acid Schiff reaction*, PAS), ki dokazuje prisotnost nevtrálnih proteoglikanov (rožnato-vijolična barva) (B) ter po van Giesonu, ki rdečkasto obarva kolagenska vlakna, in sočasno z Weigertovim hematoksilinom, ki jedra celic obarva vijolično (C).

zgradbo plodovih ovojev ter mesto matriksnih metaloproteinaz (MMP) in tkivnih zaviralcev matriksnih metaloproteinaz (angl. *tissue inhibitors of metalloproteinases*, TIMP). MMP, ki sodelujejo pri preoblikovanju in razgradnji zunajceličnega matriksa, izločajo nevtrofilci in makrofagi; zavirajo jih zaviralci MMP oz. TIMP v epiteliju hAM ter tako pospešujejo celjenje ran (10).

Čeprav hAM na prvi pogled daje vtis enotne strukture, se je izkazalo, da jo lahko po morfoloških, strukturnih in nekaterih biološko aktivnih dejavnikih v skladu z anatomsko lego delimo na posteljnični, reflektivni in popkovnični del (slika 3) (11). Ob vzorčenju hAM v namen proučevanja sposobnosti obnove in raznovrstnosti AEC na osrednjem, vmesnem, obrobem in reflektivnem delu glede na oddaljenost od popkovnice so bile opisane razlike v mestu jeder AEC in številu skladov AEC. Večskladni epitelij so opisali po celotni hAM, razen v gobasti (intermediarni) plasti (12).



**Slika 3.** Posteljica s plodovimi ovoji na sterilni kompresi. Z rumeno puščico je označen posteljnični del plodovih ovojev, z modro obrobo reflektivni del plodovih ovojev in z belo obrobo mesto razpoka plodovih ovojev. hAM – humana amnijska membrana.

**Tabela 1.** Zgradba in sestava plodovih ovojev. MMP – matriksne metaloproteinaze, TIMP – tkivni zaviralci matriksnih metaloproteinaz (angl. *tissue inhibitors of metalloproteinases*), hAM – humana amnijska membrana, AEC – amnijske epitelijske celice, AMSC – amnijske mezenhimske stromalne celice, hCM – humana horijska membrana (angl. *human chorion membrane*).

| Plasti plodovih ovojev |  | Oblike celic in sestavine zunajceličnega matriksa                                    | Prisotnost MMP in TIMP |
|------------------------|--|--|------------------------|
| hAM                    | AEC  | kubična oblika celic   | MMP-1, MMP-2, MMP-9    |
|                        | bazalna lamina   | kolagen tipa III, IV in V, fibronektin, laminin in nidogen                           | /                      |
|                        | kompaktna plast  | kolagen tipa I, III, V in VI, fibronektin  | /                      |
|                        | plast AMSC in zrelih mezenhimskih stromalnih fibroblastov                    | asimetrična oblika celic<br>kolagen tipa I, III in VI, fibronektin, laminin, nidogen | MMP-1, MMP-9, TIMP-1   |
|                        | gobasta (intermediarna) plast  | kolagen tipa I, III in IV, proteoglikani   | /                      |
| hCM                    | mrežasta (retikularna) plast s horijskimi mezenhimskimi stromalnimi celicami | asimetrična oblika celic<br>kolagen tipa I, III, IV, V in VI, proteoglikani          | /                      |
|                        | bazalna lamina   | kolagen tipa IV, fibronektin ali laminin   | /                      |
|                        | trofoblast s horijskimi trofoblastnimi celicami                              | okrogla do poligonalna oblika celic  | MMP-9                  |

## LASTNOSTI HUMANE AMNIJSKE MEMBRANE

hAM spodbuja epitelizacijo, preprečuje brazgotinjenje, ima nizko imunogenost in zavira razvoj mikrobov ter razvoj in tvorbo žil (angiogenezo) (7, 8, 13–15). hAM je vir matičnih celic, ki so podobno kot embrionalne matične celice pluripotentne, a nimajo sposobnosti zasevanja, so netumorogene (8). Zaradi mnogih zelenih lastnosti se hAM vedno pogosteje uporablja v klinične namene, predvsem pri rekonstrukciji očesne površine, ustne sluznice in kože (8, 16).

## RAZPOK PLODOVIH OVOJEV

Spontan razpok plodovih ovojev je v približno polovici primerov sestavni del normalno potekajočega poroda (17). Latenca pomeni čas med razpokom plodovih ovojev in porodom ter je obratno sorazmerna z gestacijsko starostjo (18). V Sloveniji je PP približno 6 % (19). Približno tretjina PP je induciranih, skoraj dve tretjini PP se začne spontano, polovica od teh se prične s popadki, polovica pa s spontanim razpokom plodovih ovojev (PROM) (19).

Področje plodovih ovojev nad materničnim vratom je pogosto mesto razpoka ovojev (20). Imenujemo ga tudi šibki predel, saj ima spremenjeno morfolgijo z debelejším vezivnim tkivom, ki kaže na otekanje tkiva, manjšo debelino celičnih slojev in manjšo natezno trdnost v primerjavi s plodovimi ovoji vstran od razpoka (10). Celično-molekularne značilnosti tega mesta so nižja vsebnost kolagena, povišana koncentracija MMP in vnetnih označevalcev, povečana apoptoza ter oksidativni stres (21).

## RAZPAD KOLAGENA V HUMANI AMNIJSKI MEMBRANI IN PREZGODNJI PREDČASNI RAZPOK PLODOVIH OVOJEV

PP predstavlja tveganje za slabše preživetje in zdravje nedonošenčka, zato so v trenutne raziskave vključeni številni načini ocenjevanja dejavnikov tveganja, ki vodijo

do PP. Eno izmed številnih področij raziskav je prav zgradba hAM. Glavni predmet raziskav predstavlja razpad intersticijskega kolagena, ki ga proizvajajo AMSC in zagotavlja glavno natezno trdnost ovojev. Podedovane mutacije, ki uravnavajo zgradbo kolagena, lahko tako predstavljajo dovzetnost za predispozicijo za PROM (22). To pomeni, da bi lahko genetsko testirali prisotnost morebitnih mutacij v genih za kolagen. Dodatni izziv predstavlja glikozilacija prokolagena, ki se dogaja v Golgijevem aparatu; če le-ta ni pravilna, lahko prav tako vodi v manj funkcionalna ali celo nefunkcionalna kolagenska vlakna. Družina MMP je vključena v obnavljanje in razgradnjo kolagena (22). Pri nosečnicah s pPROM so v plodovnici našli povišano koncentracijo MMP-2 in MMP-9, ki sta značilna za razgradnjo kolagena tipa IV (22, 23). Aktivnost MMP uravnavajo njihovi tkivni zaviralci, kot so TIMP-1, -2, -3 in -4 (22, 24). Številni TIMP se v primeru pPROM v plodovnici pojavljajo v znižani koncentraciji. Področje raziskovanj PP so tudi vnetni odzivi in snovi, ki uravnavajo njihov potek, saj oboji vodijo k slabši kakovosti plodovih ovojev (22).

Znano je, da imajo v primeru pPROM pomembno vlogo strukturne lastnosti plodovih membran (25). Drobne poškodbe (mikrofrakcije), ki nastanejo zaradi zmanjšane hidrofobnosti in trenja med hAM ter hCM, predstavljajo mesto prehoda plodovnice, vnetnih celic in mikrobov (26).

## EPITELIJSKO-MEZENHIMSKI IN MEZENHIMSKO-EPITELIJSKI PREHOD TER APOPTOZA V HUMANI AMNIJSKI MEMBRANI MED NOSEČNOSTJO IN PORODOM

Amnijske celice so sposobne proliferacije, migracije in procesa epitelijsko-mezenhimskega prehoda (angl. *epithelial-mesenchymal transition*, EMT) ter obratno – mezenhimsko-epitelijskega prehoda (angl. *mesenchymal-epithelial transition*, MET) (27). EMT je proces, v katerem celice izgubijo

svoje epitelijske značilnosti in pridobijo značilnosti mezenhimske celice, ki imajo manj tesne celične stike (28). EMT je še posebej dinamičen proces tik pred in med porodom, v katerem celice pridobijo ravno obratne značilnosti (27). Oksidativni stres s pospeševanjem celičnega staranja in vnetja prepreči preurejanje hAM (29, 30). Dva glavna dejavnika, ki verjetno vplivata na celični prehod med nosečnostjo, sta spreminjajoči rasti dejavnik  $\beta$  (angl. *transforming growth factor  $\beta$* , TGF- $\beta$ ) in progesteron 4 (P4) (27). TGF- $\beta$  spodbuja EMT (31). Zavira ga P4 kot hormon, ki vzdržuje nosečnost, delno tudi zaradi spodbujanja MET (28). Centurione in sodelavci so leta 2018 ugotovili, da sta procesa EMT in MET bistvena za vzdrževanje celovitosti hAM ob mehanskih poškodbah in oksidativnem stresu. Nepovratni proces EMT in kopičenje amnijskih mezenhimske celice sta značilna za hAM ob porodu (12).

Apoptoza oz. programirana celična smrt je povezana z značilnimi morfološki spremembami v strukturi celice in z od

encimov odvisnimi biokemičnimi procesi (32). Začetek apoptoze je odvisen od aktivacije proteaz oz. kaspaz (33). Poznamo dve vrsti kaspaz, t. i. začetne (iniciatorske) in izvajalske (eksekutorske) kaspaze (32). Ob proučevanju od aktivne kaspaze 3 odvisne celične smrti v hAM so ugotovili, da je prisotnost aktivne kaspaze 3 statistično značilno višja v skupini vzorcev pPROM kot v skupini porodov ob terminu (33).

## DEJAVNIKI TVEGANJA ZA PREZGODNJI PREDČASNI RAZPOK PLODOVIH OVOJEV

pPROM povzročajo številni klinični in epidemiološki dejavniki, ki jih povzema tabela 2 (19). Med najpomembnejšimi so okužbe rodil s horioamnionitisom ali brez, ki jih lahko povzročajo *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* in *Chlamydia trachomatis*. Ostaja nejasno, do kolikšne mere so okužbe vzrok ali posledica pPROM. Med dejavniki, ki vplivajo na pPROM, so tudi (22):

- poškodbe DNA zaradi oksidativnega stresa,

**Tabela 2.** Pregled dejavnikov tveganja za prezgodnji predčasni razpok plodovih ovojev (angl. *preterm premature rupture of membranes*, pPROM) (1, 2). ITM – indeks telesne mase.

|   |  |
|---|--|
| Maternalni dejavniki tveganja           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• predhodni pPROM</li> <li>• krvavitev iz nožnice</li> <li>• kronično zdravljenje s steroidi</li> <li>• nekatere sistemske bolezni (Ehlers-Danlosov sindrom, sistemski lupus eritematozus)</li> <li>• neposredna poškodba trebuha</li> <li>• kajenje</li> <li>• droge (kokain)</li> <li>• slabokrvnost</li> <li>• ITM &lt; 19,8</li> <li>• pomanjkanje bakra in vitamina C</li> <li>• nizek družbenoekonomski status</li> <li>• izvenzakonska skupnost</li> </ul> |
| Maternično-posteljni dejavniki tveganja | <ul style="list-style-type: none"> <li>• razvojne nepravilnosti maternice</li> <li>• prezgodnja ločitev pravilno ležeče posteljice</li> <li>• popuščanje materničnega vratu</li> <li>• predhodna operacija na materničnem vratu (konizacija)</li> <li>• povečana količina plodovnice</li> <li>• horioamnionitis</li> </ul>   |
| Plodovi dejavniki tveganja              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• večplodna nosečnost</li> </ul>  |



- prek beljakovine 38 (angl. *protein 38*, p38) in mitogeno aktivirane protein kinazne (MAPK) signalne poti in
- pospešeno celično staranje ob znižani aktivnosti telomeraze.

S pPROM sta povezani povečana apoptoza in nekroza membranskih celičnih razdelkov (kompartimentov) ter povečana raven značilnih proteaz (MMP-2 in MMP-9) v plodovih ovojev in plodovnici, ki razgrajujejo kolagen (22). Dodatne dejavnike tveganja predstavljajo še mnogoplodna nosečnost, povečana količina plodovnice (polihidramnij), krvavitev iz nožnice, popuščanje materničnega vratu in predhodni kirurški posegi na maternici. Ugotovili so, da lahko na pPROM vpliva nizek družbenoekonomski status nosečnice, nizek indeks telesne mase (ITM) nosečnice ( $< 19,8 \text{ kg/m}^2$ ), pomanjkanje hranil, stres, slabokrvnost in kajenje v nosečnosti (1).

Kajenje povzroča oksidativni stres oz. nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti (angl. *reactive oxygen species*, ROS). Posledično nastane neravnovesje med ROS (vodikov peroksid, superoksid in hidroksilni radikal) in antioksidanti (superoksid dismutaza (SOD) in predstopnja glutationa N-acetilcistein (NAC)). Fibrilarni kolagen, ki ga na molekule 4-hidroksiprolina cepi superoksid, se je v hAM izkazal kot glavna tarča ROS (1). SOD in NAC sicer znižujeta delovanje MMP-9, ki sodeluje pri preoblikovanju in razgradnji zunajceličnega matriksa, vendar se zaradi njune povečane porabe ob kajenju aktivnost MMP-9 zviša (1, 7). Opisane biokemične posledice zato lahko znižajo prag za razpok plodovih ovojev pri ženskah, ki v nosečnosti kadijo (1).

## DIAGNOSTIČNI PRISTOPI ZA PREPOZNAVANJE PREDČASNEGA IN PREZGODNJEGA PREDČASNEGA RAZPOKA PLODOVIH OVOJEV

Medtem ko lahko *post facto* postavimo diagnozo pPROM s številnimi testi, še ne

poznamo nobenega zanesljivega načina za napovedovanje pPROM (1). Postavitev diagnoze PROM in pPROM predstavlja poseben izziv ob počasnem in občasnem uhajanju plodovnice, ob prekomerni prisotnosti krvi v izločku materničnega vratu in nožnice ali ob odsotnosti nenadnega in nebolečega odtekanja plodovnice iz nožnice (34, 35). Prepoznavo razpoka plodovih ovojev z nabiranjem plodovnice v svodu nožnice omogoča sterilni pregled s spekulomom, ki je subjektiven in zato nezanesljiv (36). Ginekološki pregled se ob sumu na odtekanje plodovnice zaradi tveganja za okužbo odsvetuje, vendar se ob aktivnem porodu dopušča (37). Pri diagnozi lahko pomaga UZ s prepoznavo premajhne količine plodovnice (38).

Uveljavljena pristopa za ugotavljanje PROM oz. pPROM sta mikroskopski test kristalizacije (angl. *fern test*) in nitrazinski test s preverjanjem pH plodovnice, ki je bolj alkalna (7,1–7,3) od normalnega pH nožnice (4,5–6,0) (38). Prisotnost krvi, semenske tekočine, alkalnih antiseptikov ali bakterijsko vnetje nožnice lahko povzročijo lažno pozitiven rezultat nitrazinskega testa (3). Plodov fibronektin (angl. *fetal fibronectin*, fFN) je glikoprotein, ki ga izločajo plodovi ovoji in se kot biološko lepilo nahaja med hCM in deciduo. Zaznava fFN v izcedku iz nožnice pomeni povečano verjetnost PP; ima visoko občutljivost, a nizko specifičnost za določanje odtekanja plodovnice (39).

Novjši pristopi v prepoznavanju PROM in pPROM zadevajo biološke označevalce, kot sta npr. inzulinu podoben rastni dejavnik vezoča beljakovina 1 (angl. *insulin-like growth factor-binding protein 1*, IGFBP-1) – ActimPROM® in  $\alpha$ -makroglobulin 1 posteljice (angl. *placental  $\alpha$ -microglobulin-1*, PAMG-1) – AmniSure® (41). Zadnje raziskave na tem področju predlagajo imunološki test z mešanico monoklonalnih oz. poliklonalnih protiteles za zaznavanje določenih beljakovin v plodovnici (IGFBP-1, APMG-1,  $\alpha$ -fetoprotein, beljakovina posteljice

12 (angl. *placental protein 12*, PP12)) (36). Določitev interleukina (IL) 8 v zbrani plodovnici pomeni prisotnost vnetja znotraj hAM pri pPROM (41).

Odtekanje plodovnice pri približno eni petini do eni četrtini nosečnic ni prepričljivo in jasno vidno, zato bi bil razvoj najboljšega možnega diagnostičnega testa pomemben korak k hitrejšemu in učinkovitejšemu prepoznavanju PROM (40). Idealen test bi bil neinvaziven, hiter, natančen, poceni, praktičen in dostopen.

## **MOŽNI BIOLOŠKI OZNAČEVALCI ZA NAPOVEDOVANJE PREZGODNJEGA PREDČASNEGA RAZPOKA PLODOVIH OVOJEV**

Strategije za napovedovanje pPROM temeljijo na prepoznavanju dejavnikov tveganja in zaznavanju značilnih bioloških označevalcev, ki so trenutno vključeni v številne raziskave ter bi jih lahko v prihodnosti uvedli v klinično prakso (42). Med drugim so predmet proučevanja proteoglikana biglikan in dekorin skupaj s serumsko beljakovino spolne hormone vezoči globulin (angl. *sex hormone-binding globulin*, SHBG) pri asimptomatskih nosečnicah v drugem trimesečju, C-reaktivna beljakovina (angl. *C-reactive protein*, CRP) in oksidativni označevalci v povezavi s trajanjem latence, materin serumski amiloid A, razmerje med trombociti in limfociti, topna žilna celična adhezijska molekula 1 (angl. *soluble vascular cell adhesion molecule 1*, sVCAM-1), topna znotrajcelična adhezijska molekula 1 (angl. *soluble intercellular adhesion molecule-1*, sICAM-1) ter beljakovina posteljice 14 (angl. *placental protein 14*, PP14) (35, 43–47). PP14 se je v raziskavi, kjer so proučevali proteomski profil plodovnice in materine plazme, izkazal za najbolj točen možni biološki označevalac za diagnozo pPROM (35).

pPROM poveča tveganje za horioamnionitis (49). CRP in prokalcitonin v mate-

rinem serumu, IL-6 in dejavnik tumorske nekroze  $\alpha$  (angl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* , TNF- $\alpha$ ) v plodovnici ter koncentracija prepepsina v materini plazmi so diagnostični in prognostični označevalci za prepoznavanje subkliničnega horioamnionitisa pri porodnicah s potrjenim pPROM (49–51). Ugotovitve teh raziskav bi lahko zmanjšale incidenco PP, povezanih s pPROM.

## **ZAKLJUČEK**

Pravočasno prepoznavanje PROM oz. pPROM je ključno za ustrezno vodenje poroda in reševanje možnih zapletov. Pomembno je, da porodnico v oskrbo sprejmejo terciarni centri, ki imajo oddelek za intenzivno nego in terapijo nedonošenčkov z izkušenimi neonatologi. V prispevku smo opisali številne vidike pPROM, ki so v večini spontani, idiopatski in nepojasneni ter zaradi velikega deleža predstavljajo pomemben izziv v porodništvu in na področju preprečevanja obolenosti ter umrljivosti novorojenčkov. Nadaljnje raziskovanje zgradbe in delovanja plodovnih ovojev nam bo omogočilo zgodnje predvidevanje oz. napovedovanje tveganja za pPROM, s čimer bi razvili protokole za preprečevanje in obravnavo pPROM. Poleg uveljavljenih diagnostičnih pristopov se zaradi poglobljenega poznavanja patofizioloških poti vedno bolj uveljavljajo nekateri biološki označevalci in imunološki testi, ki bi lahko napovedovali pPROM.

## **IZJAVA O NAVZKRIŽJU INTERESOV**

Avtorji nimamo navzkrižja interesov.

## **ZAHVALA**

Avtorji se zahvaljujemo Porodnišnici Ljubljana Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani, vsem porodnicam, ki so darovale hAM v raziskovalne namene, in bobicam za pomoč ob raziskovalnem delu v porodnišnici.



## LITERATURA

1. Menon R, Richardson LS. Preterm prelabor rupture of the membranes: A disease of the fetal membranes. *Semin Perinatol.* 2017; 41 (7): 409–19.
2. Caughey AB, Robinson JN, Norwitz ER. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol.* 2008; 1 (1): 11–22.
3. Medina TM, Hill DA. Preterm premature rupture of membranes: Diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 2006; 73 (4): 659–64.
4. Bond DM, Middleton P, Levett KM, et al. Planned early birth versus expectant management for women with preterm prelabour rupture of membranes prior to 37 weeks' gestation for improving pregnancy outcome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 3 (3): CD004735.
5. van der Heyden JL, van Kuijk SMJ, van der Ham DP, et al. Subsequent pregnancy after preterm prelabor rupture of membranes before 27 weeks' gestation. *AJP Rep.* 2013; 3 (2): 113–8.
6. Gomes JAP, Romano A, Santos MS, et al. Amniotic membrane use in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol.* 2005; 16 (4): 233–40.
7. Gupta A, Kedige SD, Jain K. Amnion and chorion membranes: Potential stem cell reservoir with wide applications in periodontics. *Int J Biomater.* 2015; 2015: 274082.
8. Erdani Kreft M, Dragin Jerman U. Amnijska membrana v tkivnem inženirstvu in regenerativni medicini. *Zdrav Vestn.* 2010; 79 (10): 707–15.
9. Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M, et al. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cell Mater.* 2008; 15: 88–99.
10. Menon R, Richardson LS, Lappas M. Fetal membrane architecture, aging and inflammation in pregnancy and parturition. *Placenta.* 2019; 79: 40–5.
11. Weidinger A, Poželen L, Wolbank S, et al. Sub-regional differences of the human amniotic membrane and their potential impact on tissue regeneration application. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021; 8: 613804.
12. Centurione L, Passaretta F, Centurione MA, et al. Mapping of the human placenta: Experimental evidence of amniotic epithelial cell heterogeneity. *Cell Transplant.* 2018; 27 (1): 12–22.
13. Koizumi N, Inatomi T, Sotozono CJ, et al. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res.* 2000; 20 (3): 173–7.
14. Tseng SC, Li DQ, Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-receptor type ii, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol.* 1999; 179 (3): 325–35.
15. Talmi YP, Sigler L, Inge E, et al. Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta.* 1991; 12 (3): 285–8.
16. Toda A, Okabe M, Yoshida T, et al. The potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *J Pharmacol Sci.* 2007; 105 (3): 215–28.
17. Diguisto C. Term prelabor rupture of membranes: CNGOF Guidelines for Clinical Practice – Definition, epidemiology, complications and risk factors. *Gynecol Obstet Fertil Senol.* 2020; 48 (1): 19–23.
18. Frenette P, Dodds L, Armsen BA, et al. Preterm prelabour rupture of membranes: Effect of latency on neonatal and maternal outcomes. *J Obstet Gynaecol Can.* 2013; 35 (8): 710–7.
19. Lucovnik M, Trojner Bregar A, Steblovnik L, et al. Changes in incidence of iatrogenic and spontaneous preterm births over time: A population-based study. *J Perinat Med.* 2016; 44 (5): 505–9.
20. Malak TM, Bell SC. Structural characteristics of term human fetal membranes: A novel zone of extreme morphological alteration within the rupture site. *Br J Obstet Gynaecol.* 1994; 101 (5): 375–86.
21. Reti NG, Lappas M, Riley C, et al. Why do membranes rupture at term? Evidence of increased cellular apoptosis in the supracervical fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 196 (5): 484.e1–10.
22. Preterm birth. In: Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, et al., eds. *Williams Obstetrics*, 25e. New York: McGraw Hill; 2018. p. 855–80.
23. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. MMP/TIMP imbalance during PROM: An indirect support for endogenous pathway to membrane rupture. *J Perinat Med.* 1999; 27 (5): 362–8.
24. Parry S, Strauss J 3rd. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med.* 1998; 338 (10): 663–70.
25. Chua WK, Oyen ML. Do we know the strength of the chorioamnion? A critical review and analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009; 144 (Suppl 1): 128–33.
26. Verbruggen SW, Oyen ML, Phillips ATM, et al. Function and failure of the fetal membrane: Modelling the mechanics of the chorion and amnion. *PLoS One.* 2017; 12 (3): e0171588.

27. Richardson LS, Taylor RN, Menon R. Reversible EMT and MET mediate amnion remodeling during pregnancy and labor. *Sci Signal*. 2020; 13 (618): eaay1486.
28. Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis. *Trends Cell Biol*. 2019; 29 (3): 212–26.
29. Zhang LL, Jiang XM, Huang MY, et al. Nagilactone E suppresses TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion in non-small cell lung cancer cells. *Phytomedicine*. 2019; 52: 32–9.
30. Ooshima A, Park J, Kim SJ. Phosphorylation status at Smad3 linker region modulates transforming growth factor- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition and cancer progression. *Cancer Sci*. 2019; 110 (2): 481–8.
31. Canciello A, Russo V, Berardinelli P, et al. Progesterone prevents epithelial-mesenchymal transition of ovine amniotic epithelial cells and enhances their immunomodulatory properties. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 3761.
32. D'Arcy MS. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*. 2019; 43 (6): 582–92.
33. Saglam A, Ozgur C, Derwig I, et al. The role of apoptosis in preterm premature rupture of the human fetal membranes. *Arch Gynecol Obstet*. 2013; 288 (3): 501–5.
34. Workineh Y, Birhanu S, Kerie S, et al. Determinants of premature rupture of membrane in Southern Ethiopia, 2017: Case control study design. *BMC Res Notes*. 2018; 11 (1): 927.
35. Wang Y, Luo H, Che G, et al. Placental protein 14 as a potential biomarker for diagnosis of preterm premature rupture of membranes. *Mol Med Rep*. 2018; 18 (1): 113–22.
36. Rogers LC, Scott L, Block JE. Accurate point-of-care detection of ruptured fetal membranes: Improved diagnostic performance characteristics with a monoclonal/polyclonal immunoassay. *Clin Med Insights Reprod Health*. 2016; 10: 15–8.
37. Alexander JM, Mercer BM, Miodovnik M, et al. The impact of digital cervical examination on expectantly managed preterm rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2000; 183 (4): 1003–7.
38. Eskicioglu F, Gur EB. Diagnostic modalities in premature rupture of membranes. *Int J Women's Health Reprod Sci*. 2015; 3 (2): 89–92.
39. Chen J, Gong G, Zheng W, et al. Diagnostic accuracy of quantitative fetal fibronectin to predict spontaneous preterm birth: A meta-analysis. *Int J Gynaecol Obstet*. 2021; 153 (2): 220–7.
40. El-Messidi A, Cameron A. Diagnosis of premature rupture of membranes: Inspiration from the past and insights for the future. *J Obstet Gynaecol Can*. 2010; 32 (6): 561–9.
41. Oh KJ, Lee JH, Romero R, et al. A new rapid bedside test to diagnose and monitor intraamniotic inflammation in preterm PROM using transcervically collected fluid. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 223 (3): 423.e1–15.
42. Ghafoor S. Current and emerging strategies for prediction and diagnosis of prelabour rupture of the membranes: A narrative review. *Malays J Med Sci*. 2021; 28 (3): 5–17.
43. Underhill LA, Avalos N, Tucker R, et al. Serum decorin and biglycan as potential biomarkers to predict PPRM in early gestation. *Reprod Sci*. 2019; 1933719119831790.
44. Ryu HK, Moon JH, Heo HJ, et al. Maternal c-reactive protein and oxidative stress markers as predictors of delivery latency in patients experiencing preterm premature rupture of membranes. *Int J Gynaecol Obstet*. 2017; 136 (2): 145–50.
45. Köseoğlu SB, Guzel AI, Deveer R, et al. Maternal serum amyloid A levels in pregnancies complicated with preterm prelabour rupture of membranes. *Ginekol Pol*. 2014; 85 (7): 516–20.
46. Toprak E, Bozkurt M, Çakmak BD, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio: A new inflammatory marker for the diagnosis of preterm premature rupture of membranes. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2017; 18 (3): 122–6.
47. Sak S, Barut M, Incebiyik A, et al. Comparison of sVCAM-1 and sICAM-1 levels in maternal serum and vaginal secretion between pregnant women with preterm prelabour ruptures of membranes and healthy pregnant women. *J Matern Fetal Neonat Med*. 2019; 32 (6): 910–5.
48. Satar M, Turhan E, Yapicioglu H, et al. Cord blood cytokine levels in neonates born to mothers with prolonged premature rupture of membranes and its relationship with morbidity and mortality. *Eur Cytokine Netw*. 2008; 19 (1): 37–41.
49. Li K, Yu H, Wang X, et al. Predictive value of procalcitonin or c-reactive protein for subclinical intrauterine infection in patients with premature rupture of membranes (PROM). *J Prenat Med*. 2016; 10 (3–4): 23–8.
50. Kunze M, Klar M, Morfeld CA, et al. Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2016; 215 (1): 96.e1–8.
51. Çakar E, Çakar ŞE, Taşan HA, et al. Diagnostic and prognostic value of presepsin for subclinical chorioamnionitis in pregnancies between 23–28 week with preterm premature rupture of the membranes. *Balkan Med J*. 2016; 33 (6): 668–74.