

## ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО РАЗРЫВА ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК ПРИ НЕДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Кузнецова Н.Б.<sup>1</sup>, Буштырева И.О.<sup>2</sup>, Дыбова В.С.\*<sup>1</sup>,  
Барина В.В.<sup>1</sup>, Дмитриева М.П.<sup>1</sup>

DOI: 10.25881/BPNMSC.2020.32.74.012

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет г. Ростов-на-Дону

<sup>2</sup> ООО «Клиника профессора Буштыревой», Ростов-на-Дону

**Резюме.** Преждевременным разрывом плодных оболочек называется нарушение целостности оболочек плода и излитие околоплодных вод до начала родовой деятельности независимо от срока беременности. Частота данной патологии составляет около 2–3% среди всех беременностей, 30–50% среди преждевременных родов. В структуре преждевременных родов частота преждевременного разрыва плодных оболочек составляет 30–50%.

Беременность и роды раньше срока, осложненные преждевременным разрывом плодных оболочек, увеличивают частоту материнских (хориоамнионит, отслойка плаценты) и неонатальных осложнений (внутриутробная инфекция, некротизирующий энтероколит, внутрижелудочковое кровоизлияние) по сравнению с преждевременными родами в аналогичные сроки, но без преждевременного разрыва плодных оболочек. Это позволяет все чаще считаться с мнением, что преждевременные роды с преждевременным разрывом плодных оболочек и без преждевременного разрыва плодных оболочек следует рассматривать как отдельные клинические группы.

**Ключевые слова:** беременность, преждевременный разрыв плодных оболочек, преждевременные роды.

Беременность характеризуется ростом матки, плода и увеличением объема околоплодных вод. Развивающийся ребенок окружен околоплодными водами, заключенными в плодные оболочки (амнион и хорион), связанными с материнским организмом через плаценту и децидуальный слой. Это уникальное состояние гомеостаза сохраняется до достижения физиологической зрелости организма плода и готовности организма матери к родам. Начало родовой деятельности сопряжено с рядом процессов, включающих созревание шейки матки, истончение плодных оболочек, маточные сокращения. Обычно раскрытие шейки матки в сочетании с маточными сокращениями вызывает разрыв оболочек плода на пике одной из схваток. Но очевидно, что перед этим происходит сопутствующее размягчение плодных оболочек, так как часто мембраны разрываются до начала схваток.

Аваскулярный амнион, лежащий между амниотической жидкостью и хорионом, состоит из пяти слоев: амниотического эпителия, базальной мембраны, компактного слоя, слоя фибробластов и губчатого слоя [33]. Хорион же в свою очередь состоит из ретикулярного слоя и базальной мембраны на ложе из трофобластов, обращенных к децидуальной оболочке. Хотя хорион толще амниона, прочность оболочек плода в целом обусловлена именно амниотической мембраной. Сила амниона обеспечивается в основном компактным слоем, богатым коллагеном I и

### ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF PRETERM RUPTURE OF FETAL MEMBRANES IN PREMATURE LABOR

Kuznetsova N.B.<sup>1</sup>, Bushyreva I.O.<sup>2</sup>, Dybova V.S.\*<sup>1</sup>, Barinova V.V.<sup>1</sup>, Dmitrieva M.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Rostov State Medical University, Rostov-on-Don

<sup>2</sup> Private maternity hospital «Clinic of Professor Bushyreva» Ltd., Rostov-on-Don

**Abstract.** Preterm rupture of the membranes is a violation of the membranes of the fetus and effusion of amniotic fluid prior to the onset of labor, regardless of the gestational age. The frequency of this pathology is about 2–3% among all pregnancies and 30–50% among preterm births. In the structure of preterm labor, the frequency of preterm rupture of the membranes is 30–50%.

Pregnancy and premature labor, that are complicated by preterm rupture of membranes, increase the frequency of maternal (chorioamnionitis, placental abruption), and neonatal complications (intrauterine infection, necrotizing enterocolitis, intraventricular hemorrhage), compared with premature birth with equal gestational age, but without preterm rupture of membranes. This allows to be sure, that premature labor with preterm rupture of the membranes and without preterm rupture of the membranes should be considered as separate clinical groups.

**Keywords:** pregnancy, preterm rupture of membranes, premature labor.

III типов, при этом количество коллагена типов V, VI и VII значительно меньше [6]. Однако именно коллаген V, VI и VII типов важен для прочности мембраны, поскольку эти виды обеспечивают основу и опору для других внеклеточных компонентов [6]. Стоит отметить также, что уникальные свойства оболочек плода реализуются благодаря определенному пространственному расположению структурных компонентов, а также наличию в составе таких веществ как эластины, микрофибриллы, фибронектины.

Моделирование составных слоев плодных оболочек в различных физиологических условиях позволило оценить значимость толщины межоболочечного пространства между амнионом и хорионом. Было показано, что уменьшение толщины жидкостного пространства между хорионом и амнионом приводит к увеличению мембранного напряжения, что повышает риск преждевременного разрыва оболочек [44]. Ближе к доношенному сроку в плодных оболочках в нижнем сегменте матки появляется слабая, уязвимая зона в области, перекрывающей шейку матки, что обусловлено ремоделированием коллагена и других компонентов межклеточного матрикса, а также активизацией апоптоза. Наличие этой области играет важную роль в своевременном начале физиологических родов. При недоношенной беременности плодные оболочки также имеют уязвимую область, но в норме она обладает достаточной прочностью для обеспечения пролонгации беременности

\* e-mail: viola-kovaleva@mail.ru

[44; 22]. Формирование патологического воспалительного каскада любой этиологии индуцирует синтез медиаторов и, как следствие, массивную гибель клеток, отвечающих за поддержание целостности плодных оболочек [15].

Таким образом, учитывая сложный структурный состав и механизм функционирования плодных оболочек, а также длительный процесс ремоделирования мембран перед их разрывом, можно предположить, что этиологический компонент преждевременного истончения и разрыва плодных оболочек многогранен и существует множество точек приложения для его реализации.

### Патогенетические варианты преждевременного разрыва плодных оболочек

ПРПО наблюдается в 3–10% всех случаев беременности. Он определяется как нарушение целостности оболочек плода и излитие околоплодных вод до начала родовой деятельности независимо от срока беременности. С учетом гестационного срока ПРПО можно разделить на две категории: случившиеся при недоношенной беременности (до 37 недели беременности) и при доношенной беременности (после 37 недели беременности).

Значимая роль в патогенезе ПРПО при недоношенной беременности отводится механо-биологическим свойствам плодных оболочек. По мнению ряда исследователей, ведущим патоморфологическим проявлением разрыва мембран является ремоделирование нитей коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса плодных оболочек, которые по тем или иным причинам изменяют свои свойства, приводя к несвоевременному разрыву мембран [18; 46].

Имеются данные, позволяющие предположить, что преждевременный разрыв плодных оболочек происходит вследствие вторичного повреждения коллагена. Окислительный стресс, вызванный повышенным образованием активных форм кислорода и/или истощением антиоксидантов, может разрушать коллаген и вызывать преждевременный разрыв мембран [45]. По данным Dutta ЕН и соавт. у пациентов с ПРПО выявлено значимо большее количество клеток с поврежденной вследствие окислительного стресса ДНК, активированной стресс-киназой (p38 MAPK) и признаками старения [9].

Увеличение скорости деградации коллагена плодных оболочек можно объяснить ферментативным разрушением молекулы коллагена. В экспериментах *in vivo* было показано, что перерастяжение плодных оболочек способствует увеличению восприимчивости компонентов внеклеточного матрикса к ферментативному расщеплению. Если это явление по каким-либо причинам наблюдается в амнионе, то быстрое разрушение коллагеновых волокон может в конечном итоге привести к катастрофическому разрушению ткани в целом [19].

Долгое время считалось, что инфекционно-воспалительный фактор является основным в генезе ПРПО при недоношенной беременности. Именно инфекционно-воспалительный фактор является наиболее изученным компонентом патогенеза ПРПО. Косвенным доказательством значимой

роли инфекционно-воспалительного фактора является высокая частота развития хориоамнионита у беременных с ПРПО. Гистологический хориоамнионит наблюдается почти в половине всех случаев ПРПО, возникающих до 34 недель беременности, а частота клинического хориоамнионита даже при коротком латентном периоде (менее 7 дней в 75,7%) составляет 17,8% [49]. Если говорить о видовой структуре возбудителя, то по-прежнему вопрос диагностики актуален, и связано это не только с самим фактом верификации возбудителя, сколько с формированием штаммов, резистентным к антибактериальным препаратам. Работы последних лет показали, что культуральные исследования реже выявляют микроорганизмы (34%) по сравнению с методом полимеразной цепной реакции (45%) [8], а в случаях с микроорганизмами класса Микоплазмы, использование только бактериологического исследования может привести к ложноотрицательным результатам при исследовании амниотической жидкости в 91% случаев [32, 21]. Данный факт особенно важен, так как микоплазмы по данным Romero R. и соавт. являются одними из наиболее часто выявляемых микроорганизмов у женщин с ПРПО [37].

К предполагаемым этиологически важным микроорганизмам, обнаруживаемым при ПРПО относят также *Sneathia amnii* [37], коагулазо-негативный *Staphylococcus*, *Streptococcus viridans* [43]. Вирусная инвазия в амниотическую полость выявляется в редких случаях [16]. Кроме того, стоит отметить следующую закономерность: чем меньше гестационный возраст при ПРПО, тем выше вероятность микробного воспаления. После 33 недель беременности большинство случаев ПРПО уже не связаны с интраамниотическим воспалением [37].

Патогенез ПРПО при инфекционно-воспалительном факторе объясняют тем, что колонизация влажной поверхности патогенными микроорганизмами активирует местный (шейки матки и плодных оболочек) иммунный ответ, индуцируя воспалительный каскад, что приводит к ремоделированию мембран и преждевременному разрыву плодных оболочек [7; 5; 13].

В качестве еще одного патогенетического фактора ПРПО в настоящее время рассматривается децидуальное кровотечение. Вагинальное кровотечение с формированием гематомы в первом триместре является важным предиктором ряда осложнений беременности, в том числе и ПРПО [48]. Faramarzi S. и соавт. показали, что кровопролития с формированием гематомы на ранних сроках беременности наблюдались у 40% женщин с ПРПО и у 1% женщин, родивших в срок [10]. По данным Lykke J.A. и соавт. вагинальное кровотечение в первом триместре повышает риск преждевременного разрыва плодных оболочек в 1,18 раз [23], а рецидив кровотечения повышает риск ПРПО в 7 раз [17]. Механизм разрыва околоплодных оболочек связывают с действием тромбина. Однако предполагаемый патогенез не связан с рецепторами к тромбину, активируемыми протеазами (PARs-1, 2, 3, 4), так как они отсутствуют в ткани амниона или в амниотических клетках. Выявлено, что тромбин способствует превращению

проформы матричной металлопротеиназы-2, находящихся в межклеточном матриксе амниона, в множественные активные формы. Кроме того, показано, что тромбин способен «растворять» компоненты межклеточного матрикса амниона. Возможно, что при больших кровотечениях достаточное количество тромбина может проникнуть через хорион и непосредственно воздействовать на амнион, разрушая его [34]. Опосредованное воздействие децидуальных кровоизлияний также может быть связано с выбросом большого количества простагландинов, высокой утеротонической активностью тромбина и наличием питательной среды для роста бактериальной микрофлоры [1].

Все проанализированные этиологические факторы, будь то асептическое воспаление, отслойка или воздействие инфекционного фактора, так или иначе ведут к выработке медиаторов воспаления и запуску каскада воспалительных реакций [46].

Воспалительные медиаторы являются одним из важных звеньев в цепочке, ведущей к преждевременному разрыву плодных оболочек. Их биосинтез является частью физиологического защитного механизма организма матери в ответ на вторжение патогенных микроорганизмов. К таким веществам относятся простагландины, цитокины (интерлейкины (IL), фактор некроза опухоли (TNF)), протеиназы (матричные металлопротеиназы (ММР), эластазы, катепсины), они играют ведущую роль в процессе истончения плодных оболочек и апоптозе [15; 41].

Так, уровень IL-6, определяемый как критерий воспалительного ответа у беременных с ПРПО, был выявлен в амниотической жидкости [37], пуповинной крови [29], отделяемом из цервикального канала [28]. Также было обнаружено повышение уровня IL-8 [20]. Частично подтверждена и продолжает изучаться роль простагландина E2 [27]. Последние исследования говорят об участии в генезе ПРПО семейства NOD-подобных рецепторов (NLR), расположенных в клетке. Они представляют собой своего рода расположенный в клетке детектор распознавания вторгающихся микроорганизмов и запускают каскад ответных реакций, в том числе синтез медиаторов воспаления, врожденного иммунитета. Zhu J. и соавт., было обнаружено повышение экспрессии NOD-подобного рецептора-3 (NLRP3), а также активированной им каспазы-1 (IL-1) в оболочках, окружающих плода, и тканях плаценты беременных с ПРПО. По сравнению с группой женщин с физиологически протекающей беременностью, а также с группой беременных с дородовым излитием околоплодных вод в срок экспрессия NLRP3 и IL-1 в мембране плода и тканях плаценты была значительно увеличена, что указывает на то, что NLRP3 и IL-1 могут быть связаны с возникновением и развитием ПРПО [50]. Другими исследователями при изучении разрыва плодных оболочек в доношенном сроке было показано, что высокая экспрессия каспазы-3 (IL-3) и AIF и низкая экспрессия Bcl-2, отвечающих за апоптоз, также являются факторами риска ПРПО [31]. Каспаза-3 (IL-3) является одним из наиболее важных элементов, запускающих процесс апоптоза. Активируемая каспазой ДНКаза нарушает хромосомную ДНК внутри ядер

клеток, вызывая конденсацию хроматина. Это также запускает реорганизацию цитоскелета и далее дезинтегрирует клетки с образованием апоптотических тел. При запуске апоптоза путем активации митохондриальных проапоптотических белков (каспазонезависимый путь), важная роль отводится фактору, индуцирующему апоптоз (AIF). Данный белок высвобождается из митохондриальной мембраны и при входе в ядро рекрутирует или активирует эндонуклеазы для облегчения фрагментации ДНК и конденсации хроматина [10]. Достоверно значимое увеличение уровня IL-3 и AIF в оболочках свидетельствуют о том, что апоптоз через каспазонезависимый и каспазонезависимый путь участвует в регуляции процессов, происходящих в амниотических мембранах, а повышенная экспрессия каспазы-3 и AIF повышает риск возникновения ПРПО [31]. Белки семейства антиапоптоза Bcl-2 служат защитными агентами митохондриальной мембраны для предотвращения высвобождения AIF [10]. Было обнаружено, что низкая экспрессия Bcl-2 увеличивает риск ПРПО в 10,39 раза [31]. Несмотря на то что в данном исследовании были исключены преждевременные роды, отмечается что подобные механизмы актуальны и для недоношенной беременности, что подтверждается другими исследованиями [38]. Очевидное участие медиаторов воспаления в патогенезе ПРПО подтверждается и повышенной экспрессией С-реактивного белка, синтезируемого в ответ на действие провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF) [30].

Все больше внимания привлекает роль матричных металлопротеиназ (ММР), находящихся в децидуальном слое, плодных оболочках и околоплодных водах. Еще 20 лет назад Maumon E. и соавт. было проведено несколько исследований, подтверждающих причастность ММР к механизму преждевременного разрыва плодных оболочек [4; 24; 26].

Это семейство цинксодержащих эндопептидаз, катализирующих реакции деградации компонентов внеклеточного матрикса. Известно, что ММР 1 способна гидролизовать интерстициальные коллагены I, II, III, VII, VIII, X, XI типов, желатин, фибронектин, ламинин и другие неколлагеновые субстраты. ММР 2 гидролизует коллагены I–V, VII, X, XI типов, фибронектин, желатин, ламинин. ММР 8 гидролизует коллагены I, II, III, V, VII, VIII, X типов, фибронектин, ламинин. ММР 9 гидролизует эластин, фибронектин, желатин, коллагены IV, V, VII, X, XI, XIV типов [2]. Так как соединительная ткань плодных оболочек в основном представлена коллагеном I, III, IV типов с участием фибронектина и ламинина, как компонентов внеклеточного матрикса, а также включает ретикулярный слой с коллагеном типов V и VI, то повышение ферментативной активности указанных ММР может приводить к разрыву плодных оболочек и излитию околоплодных вод, как в срок [25; 47; 40], так и преждевременно [4; 12; 14; 24; 42]. Maumon E et al. описали, что преждевременный разрыв мембран (как при наличии, так и при отсутствии инфекции) связан с увеличением уровня ММР-1 и ММР-8 в амниотической жидкости [24]. Athayde et al. обнаружили, что у пациентов с ПРПО при преждевременных родах ре-

гистрировались более высокие концентрации ММР-9, чем у пациентов с преждевременными родами и целыми плодными оболочками [4]. Отмечены более высокие уровни ММР-3 в амниотической жидкости у пациенток с ПРПО по сравнению с женщинами, родившими в срок [14]. Точный триггер, секретируемый хориальными клетками для индукции экспрессии различных ММР неизвестен, но бактериальные продукты и/или провоспалительные цитокины, IL-1 $\beta$  и фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) могут действовать как паракринные или аутокринные сигналы для металлопротеаз во время беременности, осложненной интраамниотической инфекцией [42], что частично было показано на примере ММР-9 [4]. Также доказано, что липополисахарид, образующийся после внедрения инфекционного агента, стимулирует высвобождение ММР-3 из плодных оболочек [14]. Позднее было обнаружено, что ММР-3 и ММР-9 связаны: эндогенная ММР-3 играет главную роль в процессе активации ММР-9 [12], вероятно, они являются основными участниками запуска процессов деградации при участии инфекционного фактора.

Все рассматриваемые выше этиологические факторы ПРПО (окислительный стресс, механическое воздействие, инфекционно-воспалительный фактор, децидуальное кровотечение) имеют материнское происхождение, и долгое время действительно считалось, что воспалительный процесс, приводящий к преждевременным родам, всегда имеет материнскую этиологию. Однако ряд исследований доказывает роль воспалительной реакции плода в развитии преждевременных родов и ПРПО [39]. Заглатывание плодом инфицированной амниотической жидкости ведет к заселению кишечника различными микроорганизмами, что может вызывать воспалительный ответ и индуцировать преждевременные роды. Ardissonе, D.M. et al., были представлены результаты, подтверждающие эту гипотезу [3]. Ряд воспалительных каскадов, начинающихся в организме плода, ведет непосредственно к ПРПО. Было обнаружено, что в крови плодов с разрывом плодных оболочек при преждевременных родах имеются повышенные концентрации фермента ММР-9 и цитокина IL-6, участвующих в механизмах разрыва мембран, и более низкие концентрации IL-1 $\beta$ , растворимых рецепторов TNF (sTNF-R1 и sTNF-R2), чем у плодов с преждевременными родами и интактными оболочками [29, 35, 36]. Действительно, здесь уместно вспомнить о том, что воспалительный процесс любой этиологии индуцирует синтез воспалительных медиаторов, повреждающих плодные оболочки, приводя к их разрыву.

Плодные оболочки имеют сложную структуру, участвуют в обменных процессах, регулирующих состав амниотической жидкости и тем самым влияя на состояние плода. Целостность плодных оболочек обеспечивает гомеостаз плода. Преждевременный разрыв плодных оболочек приводит к досрочному завершению беременности, рождению незрелого плода, развитию внутриутробной инфекции. Основная патогенетически значимая роль в механизмах преждевременного разрыва плодных оболочек отводится факторам, индуцирующим апоптоз и ремоделирование

коллагена и компонентов межклеточного матрикса. Процессы, ведущие к запуску патологического каскада образования воспалительных медиаторов, вероятнее всего являются полиэтиологическими и, воздействуя перекрестно, способствуют истончению плодных оболочек, приводя к их преждевременному разрыву. Изучение этих процессов имеет важное значение для нашего понимания патологических механизмов, лежащих в основе преждевременного разрыва плодных оболочек и преждевременных родов, поскольку является первым шагом на пути к разработке патогенетически обоснованной профилактики данного осложнения.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).**

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Кузьмин В.Н. Перинатальные исходы при преждевременном разрыве плодных оболочек // Лечащий врач. — 2018. — №3. — С. 34–38. [Kuzmin VN. Perinatal'nye iskhody pri prezhdevremennom razryve plodnykh obolochek. Practitioner. 2018;(3):34–38. (In Russ).]
2. Шадрин А.С., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., и др. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матричных металлопротеиназ в норме и при патологии // Альманах клинической медицины. — 2017. — Т. 45. — №4. — С. 266–279. [Shadrina AS, Plieva YZ, Kushlinskiy DN, et al. Classification, regulation of activity, and genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in health and disease. Almanac of Clinical Medicine. 2017;45(4):266–279. (In Russ).] doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279.
3. Ardissonе AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. PLoS One. 2014; 9(3):e90784. doi: 10.1371/journal.pone.0090784.
4. Athayde N, Edwin SS, Romero R, et al. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes. Am J Obstet Gynecol. 1998;179(5): 1248–1253. doi: 10.1016/s0002-9378(98)70141-3.
5. Brown RG, Marchesi JR, Lee YS, et al. Vaginal dysbiosis increases risk of preterm fetal membrane rupture, neonatal sepsis and is exacerbated by erythromycin. BMC Med. 2018;16(1):9. doi: 10.1186/s12916-017-0999-x.
6. Bryant-Greenwood GD. The extracellular matrix of the human fetal membranes: structure and function. Placenta. 1998;19(1):1–11. doi: 10.1016/s0143-4004(98)90092-3.
7. Chandiramani M, Bennett PR, Brown R, et al. Vaginal microbiome-pregnant host interactions determine a significant proportion of preterm labour. Fetal Matern Med Rev. 2014;25(1):73–78. doi: 10.1017/s0965539514000059.
8. DiGiulio DB, Romero R, Kusanovic JP, et al. Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. Am J Reprod Immunol. 2010;64(1):38–57. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00830.x.
9. Dutta EH, Behnia F, Boldogh I, et al. Oxidative stress damage-associated molecular signaling pathways differentiate spontaneous preterm birth and preterm premature rupture of the membranes. Mol Hum Reprod. 2016;22(2):143–157. doi: 10.1093/molehr/gav074.
10. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol. 2007; 35(4):495–516. doi: 10.1080/01926230701320337.
11. Faramarzi S, Kayisli UA, Kayisli O, et al. Decidual cell expressed tissue factor promotes endometrial hemostasis while mediating abruption associated preterm birth. ARSci. 2013;1(3):44–50. doi: 10.4236/arsci.2013.13007.
12. Flores-Pliego A, Espejel-Nuñez A, Castillo-Castrejon M, et al. Matrix Metalloproteinase-3 (MMP-3) is an endogenous activator of the MMP-9 secreted by placental leukocytes: implication in human labor. PLoS One. 2015;10(12):e0145366. doi: 10.1371/journal.pone.0145366.
13. Fortner KB, Grotegut CA, Ransom CE, et al. Bacteria localization and chorion thinning among preterm premature rupture of membranes. PLoS One. 2014;9(1): e83338. doi: 10.1371/journal.pone.0083338.
14. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Stromelysins in placental membranes and amniotic fluid with premature rupture of membranes. Obstet Gynecol. 1999;94(3):435–440. doi: 10.1016/s0029-7844(99)00336-1.

15. George RB, Kalich J, Yonish B, Murtha AP. Apoptosis in the chorion of fetal membranes in preterm premature rupture of membranes. *Am J Perinatol.* 2008;25(1): 29–32. doi: 10.1055/s-2007-1004828.
16. Gervasi MT, Romero R, Bracalente G, et al. Viral invasion of the amniotic cavity (VIAC) in the midtrimester of pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(10): 2002–2013. doi: 10.3109/14767058.2012.683899.
17. Harger JH, Hsing AW, Tuomala RE, et al. Risk factors for preterm premature rupture of fetal membranes: a multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163(1 Pt 1):130–137. doi: 10.1016/s0002-9378(11)90686-3.
18. Hermanns-Lê T, Piérard GE. Collagen fibril arabesques in connective tissue disorders. *Am J Clin Dermatol.* 2006;7(5):323–326. doi: 10.2165/00128071-200607050-00006.
19. Joyce EM, Moore JJ, Sacks MS. Biomechanics of the fetal membrane prior to mechanical failure: review and implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009; 144 Suppl 1:S121–127. doi: 10.1016/j.ejogrb.2009.02.014.
20. Kacerovsky M, Musilova I, Jacobsson B, et al. Cervical fluid IL-6 and IL-8 levels in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(2):134–140. doi: 10.3109/14767058.2014.908179.
21. Kasper DC, Mechtler TP, Böhm J, et al. In utero exposure to *Ureaplasma* spp. is associated with increased rate of bronchopulmonary dysplasia and intraventricular hemorrhage in preterm infants. *J Perinat Med.* 2011;39(3):331–336. doi: 10.1515/JPM.2011.022.
22. Kumar D, Moore RM, Mercer BM, et al. The physiology of fetal membrane weakening and rupture: Insights gained from the determination of physical properties revisited. *Placenta.* 2016;42:59–73. doi: 10.1016/j.placenta.2016.03.015.
23. Lykke JA, Dideriksen KL, Lidegaard O, Langhoff-Roos J. First-trimester vaginal bleeding and complications later in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2010;115(5): 935–944. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181da8d38.
24. Maymon E, Romero R, Pacora P, et al. Evidence for the participation of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase 1) in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(4):914–920. doi: 10.1067/mob.2000.108879.
25. Maymon E, Romero R, Pacora P, et al. Matrilysin (matrix metalloproteinase 7) in parturition, premature rupture of membranes, and intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(6):1545–1553. doi: 10.1067/mob.2000.107652.
26. Maymon E, Romero R, Pacora P, et al. Evidence of in vivo differential bioavailability of the active forms of matrix metalloproteinases 9 and 2 in parturition, spontaneous rupture of membranes, and intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(4):887–894. doi: 10.1067/mob.2000.108878.
27. Musilova I, Andrys C, Drahosova M, et al. Amniotic fluid prostaglandin E2 in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of the membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(18):2915–2923. doi: 10.3109/14767058.2015.1112372.
28. Musilova I, Andrys C, Drahosova M, et al. Cervical fluid interleukin 6 and intra-amniotic complications of preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(7):827–836. doi: 10.1080/14767058.2017.1297792.
29. Musilova I, Andrys C, Drahosova M, et al. Intraamniotic inflammation and umbilical cord blood interleukin-6 concentrations in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(8):900–910. doi: 10.1080/14767058.2016.1197900.
30. Musilova I, Kacerovsky M, Stepan M, et al. Maternal serum C-reactive protein concentration and intra-amniotic inflammation in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One.* 2017;12(8):e0182731. doi: 10.1371/journal.pone.0182731.
31. Negara KS, Suwiyoga K, Pemayun TG, et al. The role of caspase-3, apoptosis-inducing factor, and B-cell lymphoma-2 expressions in term premature rupture of membrane. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2018;40(12):733–739. doi: 10.1055/s-0038-1675611.
32. Oh KJ, Lee SE, Jung H, et al. Detection of ureaplasmas by the polymerase chain reaction in the amniotic fluid of patients with cervical insufficiency. *J Perinat Med.* 2010;38(3):261–268. doi: 10.1515/JPM.2010.040.
33. Parry S, Strauss JF 3rd. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med.* 1998;338(10):663–670. doi: 10.1056/NEJM199803053381006.
34. Puthiyachirakkal M, Lemerand K, Kumar D, et al. Thrombin weakens the amnion extracellular matrix (ECM) directly rather than through protease activated receptors. *Placenta.* 2013;34(10):924–931. doi: 10.1016/j.placenta.2013.07.064.
35. Romero R, Chaiworapongsa T, Espinoza J, et al. Fetal plasma MMP-9 concentrations are elevated in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1125–1130. doi: 10.1067/mob.2002.127312.
36. Romero R, Maymon E, Pacora P, et al. Further observations on the fetal inflammatory response syndrome: a potential homeostatic role for the soluble receptors of tumor necrosis factor alpha. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(5):1070–1077. doi: 10.1067/mob.2000.108885.
37. Romero R, Miranda J, Chaemsaihong P, et al. Sterile and microbial-associated intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(12):1394–1409. doi: 10.3109/14767058.2014.958463.
38. 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):501–505. doi: 10.1007/s00404-013-2774-3.
39. Skogstrand K, Hougaard DM, Schendel DE, et al. Association of preterm birth with sustained postnatal inflammatory response. *Obstet Gynecol.* 2008;111(5): 1118–1128. doi: 10.1097/AOG.0b013e31817057fb.
40. Sukhikh GT, Kan NE, Tyutyunnik VL, et al. The role of extracellular inducer of matrix metalloproteinases in premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(4):656–659. doi: 10.3109/14767058.2015.1015416.
41. Tchirikov M, Schlöblich-Loutsevitch N, Maher J, et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J Perinat Med.* 2018;46(5):465–488. doi: 10.1515/jpm-2017-0027.
42. Vadillo-Ortega F, Estrada-Gutiérrez G. Role of matrix metalloproteinases in preterm labour. *BJOG.* 2005;112 Suppl 1:19–22. doi: 10.1111/j.1471-0528.2005.00579.x.
43. Velemínský M, Tosner J. Relationship of vaginal microflora to PROM, pPROM and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neuro Endocrinol Lett.* 2008;29(2): 205–221.
44. Verbruggen SW, Oyen ML, Phillips AT, Nowlan NC. Function and failure of the fetal membrane: modelling the mechanics of the chorion and amnion. *PLoS One.* 2017;12(3):e0171588. doi: 10.1371/journal.pone.0171588.
45. Wall PD, Pressman EK, Woods JR Jr. Preterm premature rupture of the membranes and antioxidants: the free radical connection. *J Perinat Med.* 2002;30(6): 447–457. doi: 10.1515/JPM.2002.071.
46. Wang XJ, Li L, Cui SH. [Role of collagen III, CTGF and TNF-alpha in premature rupture of human fetal membranes. (In Chinese).] *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2009;40(4):658–675.
47. Weiss A, Goldman S, Shalev E. The matrix metalloproteinases (MMPs) in the decidua and fetal membranes. *Front Biosci.* 2007;12:649–659. doi: 10.2741/2089.
48. Williams MA, Mittendorf R, Lieberman E, Monson RR. Adverse infant outcomes associated with first-trimester vaginal bleeding. *Obstet Gynecol.* 1991;78(1): 14–18.
49. Yu H, Wang X, Gao H, et al. Perinatal outcomes of pregnancies complicated by preterm premature rupture of the membranes before 34 weeks of gestation in a tertiary center in China: a retrospective review. *Biosci Trends.* 2015;9(1):35–41. doi: 10.5582/bst.2014.01058.
50. Zhu J, He M, Ma C, et al. Expression and clinical significance of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) and caspase-1 in fetal membrane and placental tissues of patients with premature rupture of membrane. *Med Sci Monit.* 2018;24:1560–1566. doi: 10.12659/msm.906157.