

Maria URSACHI (BOLOTA)

Emil ANTON

Sorana Caterina ANTON

„Gr. T. Popa” University of Medicine and Pharmacy Iasi, Discipline of Ostetrics and Gynecology,
„Cuza-Voda” Clinical Hospital Iasi

RESEARCH ON REDUCING PREMATURITY RUPTURE OF MEMBRANE

Empirical
studies

Keywords

Premature birth,
Chorioamniotitis,
Pras,
Amnios synthetic

Abstract

The membranes surrounding the amniotic cavity are composed from amnion and chorion, tightly adherent layers which are composed of several cell types, including epithelial cells, trophoblasts cells and mesenchyme cells, embedded in a collagenous matrix. They retain amniotic fluid, secrete substances into the amniotic fluid, as well as to the uterus and protect the fetus against upward infections from urogenital tract. Normally, the membranes it breaks during labor. Premature rupture of the amniotic sac (PRAS) is defined as rupture of membranes before the onset of labor. Premature rupture of the fetal membrane, which occurs before 37 weeks of gestation, usually, refers to preterm premature rupture of membranes. Despite advances in the care period, premature rupture of membranes and premature rupture of membranes preterm continue to be regarded as serious obstetric complications. On the term 8% - 10% of pregnant women have premature rupture of membranes; these women are at increased risk of intrauterine infections, where the interval between membrane rupture and expulsion is rolled-over. Premature rupture of membranes preterm occurs in approximately 1% of all pregnancies and is associated with 30% -40% of preterm births. Thus, it is important to identify the cause of pre-term birth (after less than 37 completed weeks of "gestation") and its complications, including respiratory distress syndrome, neonatal infection and intraventricular hemorrhage.

Objectives: the development of the protocol of the clinical trial on patients with impending preterm birth, study clinical and statistical on the socio-demographic characteristics of patients with imminent preterm birth; clinical condition of patients and selection of cases that could benefit from the application of interventional therapy; preclinical investigation (biological and imaging) of patients with imminent preterm birth; the modality therapy; clinical investigation of the effectiveness of short-term (3 days) and distance (2 years) interventional methods applied; clinical investigation of complications arising post intervention; studying behavior synthetic amnion.

Conclusions: The cause of PRAS is multifactorial. Traditionally, fetal membrane rupture has been attributed to increased physical stress, which weakens the membranes. At the molecular level PRAS is the result of reducing collagen synthesis, alteration of the structure of collagen to accelerate degradation. In addition, these biochemical changes can be amplified and biophysical stress today. The priorities of this research include elucidation of the normal biological process of fetal membranes, including extracellular matrix remodeling, apoptosis.

STRUCTURA MEMBRANELOR FETALE

INTRODUCERE

Membranele care înconjoară cavitatea amniotică sunt compuse din amnion și chorion, care sunt strâns aderente de straturi compuse din mai multe tipuri de celule, ce include celule epiteliale, celule mesenchymale și celule trofoblaste, încorporate într-o matrice colagenoasă. Ele rețin lichidul amniotic, secretă substanțe atât în lichidul amniotic, cât și spre uter și apără fătul împotriva infecțiilor ascendente din tractul urogenital. În mod normal, membranele se rup în timpul travaliului. Ruptura prematură a pungii amniotice (RPPA) este definită ca ruptură a membranelor înainte de debutul travaliului. Ruptura prematură a membranelor fetale, care are loc înainte de 37 săptămâni de gestație, de obicei, se referă la ruptura prematură pretermen de membrane. În ciuda avansărilor în perioada de îngrijire, ruptura prematură de membrane și ruptura prematură pretermen de membrane continua să fie considerate drept complicații grave în obstetrică. La termen, 8% - 10% din femeile gravide prezintă ruptură prematură de membrane; aceste femei sunt cu risc crescut de infecții intrauterine, în cazul în care intervalul dintre ruptura membranelor și expulzie este prolongat. Ruptura prematură pretermen de membrane apare la aproximativ 1% din toate sarcinile și este asociat cu 30% -40% din nașterile înainte de termen (ACOG, 2007), (Barabas, 1966). Astfel, este cel mai important de identificat cauza nașterii înainte de termen (după mai puțin de 37 săptămâni complete "de gestație) și complicațiile sale, inclusiv sindromul distress respirator, infecția neonatală, și hemoragia intraventriculară.

Tradițional, obstetricienii atribuie RPPA la stresul fizic, în special asociat cu travaliul. Cu toate acestea, mai multe dovezi recente sugerează că ruptura membranei este, de asemenea, legată de procesele biochimice, inclusiv de distrugerea fibrelor de colagen în matricea extracelulară a amnionului și chorionului și moartea programată a celulelor din membranele fetale. A fost emisă teoria că membranele fetale și membrana deciduală răspund la diferiți stimulenți, inclusiv la tensionarea membranei și infecția tractului reproductiv prin producerea unor astfel de mediatorii, cum ar fi prostaglandine, citokine, proteine și hormoni, care reglează activitatea enzimelor de distrugere a matricei. Aici am trecut în revistă legătura dintre distrugerea matricei extracelulare în membranele fetale și RPPA, în efortul de a înțelege mai bine patofiziologia acestor rupturi și de a identifica metodele eficiente de intervenție.

Amnionul uman este compus din cinci straturi distincte. El nu conține vase de sânge sau nervi; substanțele nutritive necesare sunt furnizate de lichidul amniotic. Cel mai adânc strat, apropiat de făt, constă din epitelium amniotic. Celulele epiteliale amniotice secretă colagen (tipurile III și IV) și glicoproteine (laminină, nidogen, și fibronectină), care formează membrana bazală, următorul strat al amnionului.

Stratul compact de țesut conjunctiv adiacent membranei bazale formează scheletul fibros principal al amnionului. Fibrele de colagen ale stratului compact sunt secretate de celule mesenchymale din stratul fibroblastic. Colagenul interstițial (tipurile I și III) predomină și formează pachete paralele, care mențin integritatea mecanică a amnionului (Casey, 1996). Colagenul tipurile V și VI formează conexiuni filamentoase între colagenul interstițial și membrana bazală interstițială (Malak, 1993), (Malak, 1994), (Vadillo-Ortega, 1990).

Chorionul este mai gros decât amnionul, dar amnionul are o rezistență mai mare de rupere la tracțiune. Chorionul seamănă cu o tipică membrană epitelială, cu polaritate îndreptată spre decidua maternă. Dacă sarcina progresează, trofoblastul regresează. Sub citotrofoblast se află membrana corionică și țesutul conjunctiv, care este bogat în colagen fibril.

ANAMNEZA SI MANAGEMENTUL – RPPA

După ruptura prematură de membrane la termen, la 70% din femei travaliul începe în primele 24 ore, iar la 95% - în timp de 72 ore. După RPPA, perioada de latență de la ruperea membranei până la debutul travaliului scade invers proporțional cu creșterea termenului de gestație. De exemplu, de la 20 la 26 săptămâni de gestație, perioada medie de latență este de 12 de zile; de la 32 la 34 săptămâni de gestație - este de doar 4 zile. Având în vedere anamneza relativ rapidă de progresare a travaliului după RPPA la termen, scopul conduitei este de a minimiza riscul de infecții intrauterine fără a crește incidența operațiilor cezariene.

MECANISMELE RPPA PRECEDENT ȘI ÎN TIMPUL TRAVALIULUI

Intrapartum RPPA a fost atribuită la slăbirea generalizată a membranelor cauzată de contracțiile uterine și tensionările repetate. Zona din apropierea rupturii a fost descrisă ca o "zonă restrânsă de modificări morfologice extreme", care se caracterizează prin umflarea și dezorganizarea

marcată a rețelei fibrelor de colagen în straturile compact, fibroblast, și spongios (Al-Zaid, 1980).

În ciuda divergențelor în caracteristicile RPPA și ruptura membranelor intrapartum, există puține dovezi care să sugereze faptul că mecanismele care predispun femeile la RPPA nu sunt identice cu cele care în mod normal preced travaliul. Aceasta a condus la ideea, că RPPA reprezintă o accelerare sau o intensificare a proceselor de rupere spontană a membranelor în timpul travaliului. În consecință, cercetătorii combină frecvent cazurile de RPPA pretermen, RPPA la termen, și ruptura de membrane în timpul travaliului, atunci când descriu mecanismele de rupere a membranei.

MODIFICĂRILE ÎN CONȚINUTUL, STRUCTURA ȘI CATABOLISMUL COLAGENULUI

Menținerea rezistenței la rupere a membranei fetale pare să implice un echilibru între sinteza și distrugerea elementelor matricei extracelulare. De aceea, cu RPPA se asociază conținutul scăzut de colagen, structura modificată a colagenului și creșterea activității colagenolitice (Rajabi, 1991), (Sato, 1991).

PATOLOGIA ȚESUTULUI CONJUNCTIV ȘI FACTORII EXOGENI CA FACTORI DE RISC

Deși se află în conflict de date cu privire la modificările în compoziția colagenului membranei fetale în asociere cu durata de gestație și ruptura membranei, un declin în conținutul de colagen în membrană sau o schimbare în structura de colagen, probabil, precede ruptura membranelor.

Cross-link-urile de colagen, care se formează într-o serie de reacții, inițiate de lizil oxidaza, crește rezistența fibrelor de colagen la tensionare. Lizil oxidaza este produsă de celulele mezenchimale amniotice, care se situează sub stratul colagenos compact al amnionului. Lizil oxidaza este o enzimă cupru-dependentă și femeile cu RPPA au o concentrație mai scăzută de Cu în serul matern și al cordonului ombilical, decât femeile la care membranele fetale s-au rupt în timpul travaliului. Similar, femeile cu un nivel scăzut de acid ascorbic în ser, care este necesar pentru formarea colagenului, au o rată crescută de RPPA în comparație cu femeile cu nivel normal de acid ascorbic în ser. Fumatul, care indiscutabil crește riscul de RPPA, este asociat cu micșorarea concentrației acidului ascorbic în ser. În plus, cadmiul din tutun duce la creșterea proteinei metalotioniina din trofoblaști, ceea ce poate duce la sechestrarea de cupru (Schectman, 1989). Aceste

date sugerează că scăderea disponibilității de cupru și acid ascorbic pot contribui la o structură anormală a colagenului membrano-fetal la fumători (Whitelaw, 2000).

CREȘTEREA DISTRUGERII COLAGENULUI

Distrugerea colagenului este mediată primar de metaloproteinazele matricei (MMP), care sunt blocate de inhibitorii tisulari specifici. MMP sunt o familie de enzime produse de diferite tipuri de celule, care hidrolizează cel puțin un component al matricei extracelulare. Din cauza că substratul MMP este diferit, catabolismul efectiv al moleculelor componente ale matricei extracelulare necesită o acțiune a mai multor enzime. Metaloproteinazele de matrice-1 (MMP-1) și MMP-8 separă triplul helix al colagenului fibrilar (tipurile I și III), care este, apoi, în continuare degradat de gelatinaza MMP-2 și MMP-9 (Rajabi, 1991). Aceste gelatinaze, de asemenea, separă colagenul tip IV, fibronectina, și proteoglycanii. Inhibitorii tisulari ai MMP (ITMP) formează 1:1 complexe cu MMP și inhibă activitatea lor proteolitică. ITMP-1 se leagă de MMP-1, MMP-8 și MMP-9 activate și ITMP-2 se leagă de formele active și latente ale MMP-2.

Integritatea membranelor fetale rămâne nealterată pe parcursul gestației, probabil, din cauza combinației activității scăzute de MMP și nivelului crescut al ITMP-1. Aproape de naștere balanța între MMP activate și ITMP se schimbă ceea ce duce la degradarea proteolitică a matricei extracelulare a membranei fetale. În amnionul și corionul uman, activitatea MMP-9 crește și concentrația ITMP-1 scade brusc cu travaliul. Analizele membranelor colectate de la femei, în momentul operației cezariene (cu și fără de travaliu) și, după travaliu spontan și expulzie, sugerează că activitatea MMP-1 crește înainte de travaliu, activitatea MMP-9 și MMP-3 crește în timpul travaliului și concentrația ITMP-1 crește după expulzie. Aceste schimbări pot reflecta o progresie coordonată a evenimentelor precedente și în timpul nașterii, rezultând o degradare controlată a colagenului din membranele fetale.

RPPA de asemenea poate fi cauzată de un dezechilibru dintre activitățile de MMP și ITMP, ceea ce duce la degradarea necorespunzătoare a membranelor. Activitatea collagenazei este crescută în RPPA la termen. Deși activitatea proteazei este crescută, în membranele femeilor cu RPPA pretermen predomină activitatea de MMP-9. Mai mult decât atât, activitatea gelatinolytică corespunzând formelor latente și active ale MMP-9 este crescută și concentrația de ITMP-1 este redusă în lichidul amniotic obținut de la femeile, a căror graviditate a fost complicată de RPPA pretermen

(Sato, 1991), (Tjugum, 1985), (Vadillo-Ortega, 1995), (Vettrano, 1996), (Vadillo-Ortega, 1996).

FACTORII CLINICI ASOCIAȚI CU DEGRADAREA COLAGENULUI ȘI RPPA

Infecția

Obstetricienii continuă să pună în dezbatere, dacă infecția intra-uterină este o cauză sau o consecință a RPPA. Identificarea microorganismelor patologice în flora vaginală imediat după ruptura membranei indică, că infecția bacteriană poate juca un rol în patogeniza RPPA. Conform studiului epidemiologic (Regan, 1981), s-a demonstrat o asociere între colonizarea tractului genital de grupul B-streptococi, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae și microorganismele care cauzează vaginoză bacteriană (anaerobi vaginali, Gardnerella vaginalis, Mobiluncus specii, și micoplasme genitale) și un risc crescut de RPPA (Alger, 1988), (Regan, 1981). Mai mult, în unele studii tratamentul femeilor infectate cu antibiotice micșorează rata RPPA pretermen (McGregor, 1995).

O serie de microorganisme, care sunt prezente în flora vaginală, incluzând grupul B- streptococi, Staphylococcus aureus, Trichomonas vaginalis, și microorganisme care cauzează vaginoză bacteriană, secreta proteaze care pot degrada colagenul și subțiază membranele fetale (Heddleston, 1993).

Reacția inflamatorie ca răspuns la infecție poate constitui un alt mecanism al RPPA. Răspunsul inflamator este mediat de neutrofilele polimorfonucleare și macrofagi care produc citochine, MMP și prostoglandine. Citochinele inflamatorii includ interleucina-1 și tumor necrosis factor, cresc nivelul MMP-1 și MMP-3 în celule (Katsura, 1989), (Draper, 1995). De asemenea și prostoglandinele eliminate în inflamație cresc riscul RPPA, cauzând iritabilitatea uterină și degradarea colagenului în membrană.

Anumite tipuri de bacterii vaginale produc fosfolipaza A2, care eliberează acidul arachidonic precursor al prostaglandinei din membranele de fosfolipide în amnion. În plus, răspunsul imun la infecția bacteriană include producerea cytokinelor prin activarea monocitelor, are cresc producerea de celule chorionice a prostaglandinei E2 (So, 1992), cu producerea ulterioară de cyclooxygenază II, enzimă care convertește acidul arachidonic în prostaglandine (Slater, 1995).

Alt component al răspunsului gazdei la infecție este producerea glucocorticoizilor. În majoritatea țesuturilor acțiunea antiinflamatorie a glucocorticoizilor mediază suprimarea producției de prostaglandine. Cu toate acestea, în anumite țesuturi, inclusiv amnionul, paradoxal glucocorticoizii induc producția de prostaglandine.

În plus, dexametazona reduce sinteza fibronectinei și colagenului tip III, în celulele epiteliale amniotice (Guller, 1995) ceea ce favorizează apariția RPPA.

Hormonii

Progesteronul și estradiolul micșorează concentrația MMP1 și MMP2 și măresc concentrația ITMP în fibroblastii cervicali (Sato, 1991). Relaxin, un hormon proteic, care reglează remodelarea țesutului conjunctiv, este produs local în decidua și placenta și reversează efectul inhibitor al estradiolului și progesteronului prin creșterea activității MMP-3 și MMP-9 în membranele fetale (Qin, 1991), (Rajabi, 1991). Deși este important să se ia în considerare rolul jucat de estrogen, progesteron și relaxin în procesele de reproducere, implicarea acestora în procesul RPPA urmează a fi definit.

Apoptoza

Moartea programată a celulelor, sau apoptoză, a fost implicată în remodelarea diferitelor țesuturi reproductive, inclusiv al uterului și colului uterin. Apoptoza este caracterizată prin fragmentarea ADN-ului nuclear și catabolismul subunității ARN 28S ribosomal, care sunt necesare pentru sinteza proteinelor.

Într-un studiu (Leppert, 1996) a fost constatată o cantitate sporită de celule apoptotice în aria adiacentă rupturii și o cantitate mult mai mică de celule în restul membranei (Lei, 1996).

Tensionarea membranei și RPPA

Supraextinderea uterului, datorită atât polyhydramniosului, cât și gestației multifetale, induce tensionarea membranei și crește riscul RPPA.. Tensionarea mecanică a membranei fetale induce producerea prostoglandinei E2, interleukinei 8 și creșterea activității MMP1 în membrane (Maradny, 1996). Interleukina-8 este produsă de celulele amniotice și corionice, este chemotactică pentru neutrofile și stimulează activitatea colagenazei. Deci, nivelul crescut al IL-8 în serul sangvin, secreția cervico-vaginală și lichidul amniotic sugerează riscul crescut, la femeile cu nașteri premature și RPPA.

Morbiditatea și mortalitatea

Deci, conform datelor Van Dongen (40%) în cazul RPPA până la 34 săptămâni mortalitatea prenatală ajunge la 29%.

După datele Blott și Greenough, în 30 % cazuri RPPA în decursul trimestrului doi de gestație 36% au decedat și 27% au născut cu deformații ale membrilor.

Thibeault și autorii au demonstrat că prelungirea gravidității după RPPA timp de 5 zile - la 28% cazuri au apărut deformații ale membrilor inferioare.

CONCLUZII

Cauza RPPA este multifactorială. Tradițional, ruptura membranei fetale a fost atribuită stresului fizic sporit, care slăbește membranele. La nivel molecular, RPPA apare ca rezultat al diminuării sintezei de colagen, al alterării structurii colagenului în vederea accelerării degradării lui. În plus, aceste schimbări biochimice pot fi amplificate și de stresul biofizic prezent. Prioritățile prezentei cercetări includ elucidarea procesului biologic normal al membranelor fetale, incluzând remodelarea matricei extracelulare, apoptoza. Este necesar să elucidăm și să înțelegem mecanismele de inducere a RPPA de către factorii de risc exogen, incluzând deficiența de nutriție, fumatul și infecția. O studiere mai aprofundată a degradării matricei extracelulare în amnion și chorion ne permit să reducem incidența nașterii premature ca rezultat al RPPA, posibil cu preparate ce ar diminua distrugerea matricei.

REFERINȚE

- [1] ACOG Practice Bulletin No. 80: *prematurerupture of membranes. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Obstet Gynecol.* Apr 2007;109(4):1007-19.
- [2] Al-Zaid NS, Bou-Resli MN, Goldspink G. *Bursting pressure and collagen content of fetal membranes and their relation to premature rupture of the membranes. Br J Obstet Gynaecol* 1980;87:227-229.
- [3] Alger LS, Lovchik JC, Hebel JR, Blackmon LR, Crenshaw MC. *The association of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, and group B streptococci with preterm rupture of the membranes and pregnancy outcome. Am J Obstet Gynecol* 1988;159:397-404.
- [4] Barabas AP. *Ehlers-Danlos syndrome: associated with prematurity and premature rupture of foetal membranes; possible increase in incidence. BMJ* 1966;5515:682-684.
- [5] Casey ML, MacDonald PC. *Interstitial collagen synthesis and processing in human amnion: a property of the mesenchymal cells. Biol Reprod* 1996;55:1253-1260.
- [6] Draper D, Jones W, Heine RP, Beutz M, French JI, McGregor JA. *Trichomonas vaginalis weakens human amniochorion in an in vitro model of premature membrane rupture. Infect Dis Obstet Gynecol* 1995;2:267-274.
- [7] Guller S, Kong L, Wozniak R, Lockwood CJ. *Reduction of extracellular matrix protein expression in human amnion epithelial cells by glucocorticoids: a potential role in preterm rupture of the fetal membranes. J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2244-2250.
- [8] Heddleston L, McDuffie RS Jr, Gibbs RS. *A rabbit model for ascending infection in pregnancy: intervention with indomethacin and delayed ampicillin-sulbactam therapy. Am J Obstet Gynecol* 1993;169:708-712.
- [9] Katsura M, Ito A, Hirakawa S, Mori Y. *Human recombinant interleukin-1 increases biosynthesis of collagenase and hyaluronic acid in cultured human chorionic cells. FEBS Lett* 1989;244:315-318.
- [10] Lei H, Furth EE, Kalluri R, et al. *A program of cell death and extracellular matrix degradation is activated in the amnion before the onset of labor. J Clin Invest* 1996;98:1971-1978.
- [11] Leppert PC, Takamoto N, Yu SY. *Apoptosis in fetal membranes may predispose them to rupture. J Soc Gynecol Investig* 1996;3:128a-128a.abstract.
- [12] Maradny EE, Kanayama N, Halim A, Maehara K, Terao T. *Stretching of fetal membranes increases the concentration of interleukin-8 and collagenase activity. Am J Obstet Gynecol* 1996;174:843-849.
- [13] Malak TM, Ockleford CD, Bell SC, Dalgleish R, Bright N, Macvicar J. *Confocal immunofluorescence localization of collagen types I, III, IV, V and VI and their ultrastructural organization in term human fetal membranes. Placenta* 1993;14:385-406.
- [14] 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;101:375-386.
- [15] McGregor JA, French JI, Parker R, et al. *Prevention of premature birth by screening and treatment for common genital tract infections: results of a prospective controlled evaluation. Am J Obstet Gynecol* 1995;173:157-167.
- [16] Qin X, Chua PK, Ohira RH, Bryant-Greenwood GD. *An autocrine/paracrine role of human decidua relaxin. II. Stromelysin-1 (MMP-3) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1). Biol Reprod* 1997;56:812-820.
- [17] Rajabi M, Solomon S, Poole AR. *Hormonal regulation of interstitial collagenase in the uterine cervix of the pregnant guinea pig. Endocrinology* 1991;128:863-871.
- [18] Regan JA, Chao S, James LS. *Premature rupture of membranes, preterm delivery, and group B streptococcal colonization of*

- mothers. *Am J Obstet Gynecol* 1981;141:184-186.
- [19] Sato T, Ito A, Mori Y, Yamashita K, Hayakawa T, Nagase H. *Hormonal regulation of collagenolysis in uterine cervical fibroblasts: modulation of synthesis of procollagenase, prostromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) by progesterone and oestradiol-17 beta.* *Biochem J* 1991;275:645-650.
- [20] Schectman G, Byrd JC, Gruchow HW. *The influence of smoking on vitamin C status in adults.* *Am J Public Health* 1989;79:158-162.
- [21] Sato T, Ito A, Mori Y, Yamashita K, Hayakawa T, Nagase H. *Hormonal regulation of collagenolysis in uterine cervical fibroblasts: modulation of synthesis of procollagenase, prostromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) by progesterone and oestradiol-17 beta.* *Biochem J* 1991;275:645-650.
- [22] So T, Ito A, Sato T, Mori Y, Hirakawa S. *Tumor necrosis factor- stimulates the biosynthesis of matrix metalloproteinases and plasminogen activator in cultured human chorionic cells.* *Biol Reprod* 1992;46:772-778.
- [23] Slater DM, Berger LC, Newton R, Moore GE, Bennett PR. *Expression of cyclooxygenase types 1 and 2 in human fetal membranes at term.* *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:77-82.
- [24] Tjugum J, Norstrom A. *The influence of prostaglandin E2 and oxytocin on the incorporation of [³H]proline and [³H]glucosamine in the human amnion.* *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1985;19:137-143.
- [25] Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Karchmer S, Cruz NM, Ayala-Ruiz A, Lama MS. *Collagen metabolism in premature rupture of amniotic membranes.* *Obstet Gynecol* 1990;75:84-88.
- [26] Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Furth EE, et al. *92-kd Type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor.* *Am J Pathol* 1995;146:148-156.
- [27] Vettraino IM, Roby J, Tolley T, Parks WC. *Collagenase-I, stromelysin-I, and matrilysin are expressed within the placenta during multiple stages of human pregnancy.* *Placenta* 1996;17:557-563.
- [28] Vadillo-Ortega F, Hernandez A, Gonzalez-Avila G, Bermejo L, Iwata K, Strauss JF III. *Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes.* *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1371-1376.
- [29] Whitelaw A, Thoresen M. *Antenatal steroids and the developing brain.* *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* Sep 2000;83(2):F154-7.