

Ο ρόλος της λοίμωξης και της φλεγμονώδους απόκρισης της μητέρας στην πρόωρη ρήξη των εμβρυϊκών υμένων: παθολογικά δεδομένα

Ευαγγελινάκης Νικόλαος, Πολύζου Ηλέκτρα, Κασσάνος Δημήτριος

Γ' Μαιευτική – Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Π.Γ.Ν. «Αττικόν».

Αλληλογραφία: Ευαγγελινάκης Νικόλαος, Επιστημονικός συνεργάτης

Γ' Μαιευτικής & Γυναικολογικής κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο «Αττικόν».

Ρίμνι 1, TK 12464 Αθήνα, Τηλ.: 210-5832244, 6947008415, Fax: 210-5326447

E-mail: evangelinakisnikos@yahoo.gr

Περίληψη

Ο πρόωρος τοκετός είτε λόγω πρόωρης έναρξης των συσπάσεων (πριν από τις 37 εβδομάδες κύησης) είτε λόγω πρόωρης ρήξης των υμένων (ΠΡΥ) είναι υπεύθυνος περίπου για το 80% των πρόωρων νεογνών. Σε ΠΡΥ οφείλεται το 30-40% των πρόωρων τοκετών, ενώ αυτό που είναι ανησυχητικό είναι το γεγονός ότι η επίπτωση της ΠΡΥ βαίνει αυξανόμενη την τελευταία δεκαετία. Ένα βασικό ερώτημα που θα καταβληθεί προσπάθεια να απαντηθεί είναι ο λόγος για τον οποίο από τις γυναίκες που γεννούν πρόωρα σε ορισμένες μόνο επισυμβαίνει ΠΡΥ, παρά το γεγονός ότι οι αιτιολογικοί παράγοντες για τον πρόωρο τοκετό με ΠΡΥ και χωρίς ΠΡΥ είναι πρακτικά οι ίδιοι. Μέχρι σήμερα πολλές είναι οι ερευνητικές προσπάθειες που μελετούν βιοχημικούς δείκτες που αυξάνονται στον πρόωρο τοκετό ανεξάρτητα από το αν υπάρχει ή όχι ρήξη των εμβρυϊκών υμένων. Η καλύτερη κατανόηση των ομοιοτήτων και των διαφορών στα μοριακά μονοπάτια αυτών των δύο καταστάσεων ενδεχόμενα θα ανοίξει νέους ορίζοντες για έρευνα και θεραπευτική παρέμβαση. Στην παρούσα ανασκόπηση δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στο πιθανόν διαφορετικό ρόλο των μεσολαβητών της φλεγμονής (κυτταροκίνες και μεταλλινοπρωτεάσες) και του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση) στον πρόωρο τοκετό με ΠΡΥ και στον πρόωρο τοκετό χωρίς ΠΡΥ.

Λέξεις κλειδιά: Πρόωρη ρήξη υμένων, φλεγμονή, μεταλλινοπρωτεάσες, απόπτωση, γονιδιακοί πολυμορφισμοί

Εισαγωγή

Η πρόωρη ρήξη υμένων (ΠΡΥ) αποτελεί μία από τις κυριότερες προωρότητας. Υπολογίζεται ότι το 30-40% του συνόλου των πρόωρων τοκετών οφείλεται στην ΠΡΥ¹. Η προωρότητα αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα υγείας σε διεθνές επίπεδο, δεδομένου ότι ευθύνεται για το 80% των νεογνικών θανάτων και το 60% των ανιάτων αναπηριών νευρολογικής αιτιολογίας. Στο ίδιο πλαίσιο είναι σημαντικό κοινωνικό ζήτημα αφού η επίδραση της προωρότητας στη νευροφυσιολογική ανάπτυξη των νεογνών συχνά οδηγεί σε διαταραχές μάθησης ή συμπεριφοράς και προφανώς αυτές ακολουθούν τα άτομα αυτά και τον κοινωνικό τους περίγυρο εφ' όρου ζωής.

Η ρήξη των εμβρυϊκών υμένων στο τέλος της κύησης είναι μία φυσιολογική εξέλιξη στα πλαίσια της διαδικασίας του τοκετού που ακολουθεί τις συσπάσεις της μήτρας. Όταν, ωστόσο, επισυμβαίνει νωρίτερα και καταλήγει σε πρόωρο

τοκετό αποτελεί έναν από τους βασικότερους παράγοντες νεογνικής θνητότητας και θνησιμότητας. Η επίπτωση της ΠΡΥ και του επακόλουθου πρόωρου τοκετού παραμένει σε υψηλά επίπεδα, εν μέρει λόγω της μη κατανόησης των αιτιών και του υποκείμενου παθολογικού μηχανισμού. Για το λόγο αυτό δεν έχει καταστεί δυνατόν μέχρι στιγμής να αναπτυχθεί ένα ειδικό και αξιόπιστο διαγνωστικό τεστ που θα προβλέπει την πιθανότητα της ΠΡΥ^{2,3}. Χωρίς την ύπαρξη ενός προγνωστικού βιολογικού δείκτη για την ΠΡΥ είναι λογικό ότι δε μπορεί να καταστρωθεί καμία κοινή προληπτική στρατηγική.

Πολλοί σημαντικοί αιτιολογικοί παράγοντες έχουν κατά καιρούς συνδεθεί με την ΠΡΥ. Η εξασθένιση του εξωκυττάρου στρώματος του αμνιοchorίου (ΕΚΣ) που οφείλεται στην αποδόμηση του κολλαγόνου αποτελεί ένα από τα βασικότερα γεγονότα που επισυμβαίνουν και καταλήγουν στην ΠΡΥ. Τόσο ενδογενείς όσο και εξωγενείς παράγοντες μπορούν να προκαλέσουν την αποδόμηση του κολλαγόνου. Οι ενδογενείς παράγοντες περιλαμβάνουν μία τοπική παραλλαγή στο πάχος των μεμβρανών και στο περιε-

χόμενο σε αυτές κολλαγόνο (ελαττωμένο). Οι εξωγενείς παράγοντες περιλαμβάνουν προϊόντα μεταβολισμού βακτηρίων καθώς και τη φλεγμονώδη ανοσολογική αντίδραση είτε του εμβρύου είτε της μητέρας. Παρά το γεγονός ότι έχουν ανιχνευθεί βακτηριακές κολλαγονάσες στο αμνιακό υγρό γυναικών με ΠΡΥ, ούτε προέβλεπαν με ειδικό τρόπο ούτε παράγονταν σε ικανές ποσότητες ώστε να προκαλέσουν αποδόμηση του κολλαγόνου των υμένων. Πρόσφατα, υπάρχουν αρκετά ερευνητικά δεδομένα που να συσχετίζουν τις μεταλλοπρωτεϊνάσες του στρώματος (MMP) – ενεργοποιούνται από τη φλεγμονώδη διεργασία – με την ελάττωση της συγκέντρωσης του κολλαγόνου και την εξασθένιση των υμένων. Η υπόθεση ότι η ΠΡΥ αποτελεί «σύνδρομο φλεγμονώδους αντίδρασης του ξενιστή» δικαιολογείται από το γεγονός ότι οι φλεγμονώδεις δείκτες είναι είτε ενεργοποιημένοι είτε αυξημένοι στους περιεχόμενους στη μήτρα ιοτούς ανεξάρτητα από την αιτιολογία της ΠΡΥ. Στην παρούσα ανασκόπηση μελετούμε το ρόλο των δεικτών της φλεγμονής στην ΠΡΥ με έμφαση στη γενετική προδιάθεση και το ρόλο των γονιδίων που εμπλέκονται στη φλεγμονώδη απόκριση.

Η δομή και λειτουργίες των ανθρώπινων εμβρυϊκών υμένων

Οι άνθρωποι εμβρυϊκοί υμένες αποτελούνται από το άμνιο και το χόριο που συνδέονται από το εξωκυττάριο στρώμα (ΕΚΣ)⁴. Οι υμένες οι οποίοι είναι αποκλειστικά εμβρυϊκής προέλευσης περιβάλλουν την ενδομητρική κοιλότητα και αποτελούν το σάκο μέσα στον οποίο αναπτύσσεται το έμβρυο. Οι εμβρυϊκοί υμένες αυξάνονται σε διαστάσεις ανταποκρινόμενοι στον αυξανόμενο όγκο του εμβρύου και του αμνιακού υγρού. Η εσωτερική τους επιφάνεια καλύπτεται από επιθήλιο το οποίο και είναι σε άμεση συνάφεια με το αμνιακό υγρό. Το άμνιο φέρει τόσο επιθηλιακά όσο και μεσεγγυματικά στοιχεία. Η αμνιακή κοιλότητα οριοθετείται από μία στοιβη επιθηλιακών κυττάρων (είτε πλακώδες είτε κυλινδρικό επιθήλιο). Το χόριο σχηματίζεται από την εμφυτευμένη βλαστοκύστη από τον πόλο προς την ενδομητρική κοιλότητα, και καλύπτεται από το λαχνωτό χόριο και το έσω φθαγρό. Η παροχή αίματος σ' αυτή την περιοχή περιορίζεται σταδιακά και οι λάχνες εκφυλίζονται, σχηματίζοντας το ανάγγειο χόριο. Το άμνιο στη συνέχεια συνδέεται με το μεσόδερμα από το χόριο, ώστε να σχηματιστεί τελικά το χοριοάμνιο. Τα κατάλοιπα του έσω φθαγρού που προσκολλώνται στο χόριο έρχονται σε συνάφεια με το τοιχωματικό φθαγρό από την πλευρά της μητέρας και από τη στιγμή αυτή και μετά η μήτρα είναι αυτή που υποστηρίζει τις εμβρυϊκές μεμβράνες.

Το ΕΚΣ αποτελείται ένα δίκτυο ινώδων πρωτεϊνών εμβυθισμένο σε ένα τζελ πολυσακχαριτών και είναι αυτό που σχηματίζει το αοχιτεκτονικό πλαίσιο του αμνιοχόριου³. Η ελαστικότητα των υμένων εξαρτάται από τον τύπο του κολλαγόνου που αποτελεί το ΕΚΣ και αυτές ινώδεις πρωτεΐνες είναι κατά βάση τύποι κολλαγόνου^{5,6}. Η αντοχή στον εφελκυσμό παρέχεται κατά βάση από τις διάμεσες ίνες κολλαγόνου τύπου I και III μαζί, όμως, με μικρές ποσότητες τύπου V, VI και VII. Το κολλαγόνο τύπου IV της βασικής μεμβράνης (το άμνιο και το χόριο συνδέονται με το ΕΚΣ μέσω μίας βασικής μεμβράνης) παρέχει το ικρίωμα για τη συγκρότηση άλλων δομικών πρωτεϊνών, όπως η λαμινίνη, η εντασίνη, η ελαστίνη, η φμπρονεκτίνη, η ντε-

κορίνη, οι ιντεγκρίνες και πρωτεογλυκάνες. Το κολλαγόνο αυτό διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην ανάπτυξη όσο και στη διατήρηση του ΕΚΣ⁵. Οι ίνες κολλαγόνου τύπου V και VII είναι ελάχιστες σημασίας, αλλά παρέχουν επιπρόσθετα σημεία πρόσδεσης στη βασική μεμβράνη. Οι ίνες κολλαγόνου του ΕΚΣ υπόκεινται σε διαρκή ανανέωση και αναδιάρθρωση κατά τη διάρκεια της κύησης ώστε να προσαρμοστούν στον αυξανόμενο όγκο και τάση καθώς εξελίσσεται η κύηση⁷. Στη διάρκεια των τελευταίων 8 εβδομάδων της κύησης, αυτή διεργασία συνεχούς αναδιάρθρωσης λαμβάνει τη μορφή της ελάττωσης σε κολλαγόνο του άμνιου⁷.

Η πρόωγη ρήξη των υμένων

Η ΠΡΥ επισυμβαίνει μετά την ενεργοποίηση ενός πολύπλευρου και με πολλά βήματα μονοπατιού^{5,6}. Πολλοί επιδημιολογικοί και κλινικοί παράγοντες θεωρούνται υποκινητές της ΠΡΥ. Μεταξύ αυτών κυρίαρχη θέση κατέχουν οι λοιμώξεις του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος (κολπίτιδα, λοιμώξεις από τριχομονάδα, γονόκοκκο, χλαμύδια και υποκλινική χοριοαμνιονίτιδα), μαιευτικοί παράγοντες (πολύδυμη κύηση, πολυάμνιο, ανεπάρκεια τραχήλου, προηγούμενο χειρουργείο στον τράχηλο, κολπική αιμόρροια), συμπεριφορολογικοί παράγοντες (κάπνισμα, κατάχρηση ουσιών, διατροφική κατάσταση και στυλασία) και πιθανόν περιβαλλοντολογικές μεταβολές (μεταβολή βαρομετρικής πίεσης). Επιπρόσθετα, βιοχημικά σήματα από το έμβρυο (αποπτωτικά και ενδοκρινικά σήματα) έχουν συσχετισθεί με την έναρξη της ΠΡΥ⁷.

Η χοριοαμνιονίτιδα είναι η πιο συχνή επιπλοκή που συνδέεται με ΠΡΥ. Επιδημιολογικά, κλινικά, ιστολογικά, μικροβιολογικά και εργαστηριακά (μοριακή βιολογία) δεδομένα υποδεικνύουν ότι η φλεγμονή τοπικά ή και συστηματικά διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της ΠΡΥ⁶⁻⁸. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι όσο πιο νωρίς συμβαίνει η ΠΡΥ τόσο πιθανότερο να ευθύνεται κλινική ή υποκλινική χοριοαμνιονίτιδα. Ιστολογικές μελέτες υποδεικνύουν ότι πολύ συχνά προϋπάρχει της ΠΡΥ λοίμωξη και φλεγμονή στην ενδοαμνιακή κοιλότητα και τους εμβρυϊκούς υμένες. Χαρακτηριστικά, ιδιαίτερα συχνά αναδεικνύονται ιστολογικές αλλοιώσεις φλεγμονώδους τύπου σε σημεία παρακείμενα από εκεί που έγινε η ρήξη των υμένων⁹.

Από παλαιότερα έχει τεθεί η υποψία ότι τοξίνες και ένζυμα που αποδομούν το στρώμα και παράγονται από βακτήρια ενέχονται στην ΠΡΥ. Για το λόγο αυτό βακτηριακά στελέχη που απομονώνονται συχνά από το κατώτερο αναπαραγωγικό σύστημα γυναικών με ΠΡΥ ή πρόωρο τοκετό έχουν δοκιμαστεί ως προς την επίδρασή τους σε εμβρυϊκούς υμένες. Έκθεση εμβρυϊκών υμένων in vitro σε βακτηριακές κολλαγονάσες ελάττωσε σημαντικά την αντοχή στην εφέλκωση και την ελαστικότητα του υμένα¹⁰. Μάλιστα, όσο μεγαλύτερη ήταν η ποσότητα των κολλαγονάσων τόσο μεγαλύτερη ήταν η πιθανότητα να επισυμβεί η ρήξη των υμένων, ενώ η έκθεση των υμένων σε άλλα μικροβιακά στελέχη που δεν παρήγαγαν κολλαγονάσες δεν επέδρασε καθόλου στους υμένες¹⁰.

Παρά το γεγονός ότι μεγάλος αριθμός βακτηριακών τοξινών εμπλέκεται στην ΠΡΥ, οι ποσότητες που απαιτούνται ώστε να επιδράσουν στη δομή των υμένων in vitro σπάνια επιτυγχάνονται στο αμνιακό υγρό. Επιπρόσθετα, φαίνε-

Πίνακας 1: Δεδομένα για την εμπλοκή των μεταλλοπρωτεϊνών (MMP) στην ΠΡΥ

Ευρήματα	Μέθοδος	Είδος	Βιβλ.Αναφορά
Αυξημένη κολλαγονολυτικής δραστηριότητας στους εμβρυικούς υμένες μετά ΠΡΥ	Zymogram	Άνθρωπος	15
Η δραστηριότητα της 92-kD τύπου 4 κολλαγονάσης (MMP-9) αυξάνεται στο αμνιοχόριο στον τοκετό	Zymogram	Άνθρωπος	16
Οι κυτταροκίνες IL-1 και TNFα αυξάνουν τη MMP και ελαττώνουν τη TIMP σε κύτταρα χορίου in vitro	Western blot	Άνθρωπος	17
Η MMP 9 επάγεται στο άμνιο αρουραίων προ του τοκετού	Zymogram	Αρουραίος	18
Στο αμνιακό υγρό γυναικών με ΠΡΥ υπάρχει αυξημένη δραστηριότητα των MMP και μειωμένη των TIMP	Western blot, Zymogram	Άνθρωπος	19
Επαγωγή της MMP9 και αυξημένη έκφραση της MMP2 επιμολυσμένους εμβρυικούς υμένες	RT-PCR, ISH, IHC, Zymogram	Άνθρωπος	20
Οι εμβρυικοί υμένες εκφράζουν και τους 4 τύπους των TIMP	RT-PCR, ISH, IHC	Άνθρωπος	21
Οι εμβρυικοί υμένες αποτελούν πηγή στρωματολυσινών	RT-PCR, ISH, IHC	Άνθρωπος	22
Η λοίμωξη δημιουργεί ανισορροπία στην αναλογία μορίων MMP/TIMP με αποτέλεσμα αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα των MMP στην αμνιακή κοιλότητα	PCR, ELISA	Άνθρωπος	23
Το αμνιοχόριο in vitro παρουσιάζει ανισορροπία στα επίπεδα MMP και TIMP όταν εκτίθεται σε βακτηριακές τοξίνες ανάλογες με αυτές που παρατηρούνται in vivo στην ΠΡΥ	PCR, ELISA	Άνθρωπος	24
Αυξημένη συγκέντρωση ενεργού MMP9 στο αμνιακό υγρό γυναικών με ΠΡΥ	ELISA	Άνθρωπος	25
Μικρότερη αύξηση της ενεργού MMP9 σε τοκετό (πρόωρο ή μη) χωρίς ΠΡΥ	ELISA	Άνθρωπος	25
Ειδική και «τοπική» επαγωγή της προ-MP9 των εμβρυικών υμένων γύρω από την περιοχή του τραχήλου προ του τοκετού ίσως παίζει κάποιο ρόλο στον «προγραμματισμό» για ρήξη στο σημείο αυτό λόγω λοίμωξης ή τοκετού	ELISA, Zymogram	Άνθρωπος	26
Αυξημένη αναλογία MMP9 προς TIMP I σχετίζεται με ελαττωμένη ελαστικότητα και εφελκυσιμότητα των εμβρυικών υμένων σε ανεπίπλεκτο τοκετό	ELISA	Άνθρωπος	27

IL-1: Ιντερλευκίνη-1, TNF: Παράγοντας νέκρωσης όγκων, TIMP: ιστικός αναστολέας μεταλλοπρωτεϊνών, RT-PCR: αλυσιδωτή αντίδραση πολυμερισμού με ανάστροφη μεταγραφάση, ISH: in situ υβριδισμός, IHC: ανοσοϊστοχημεία, ELISA: ανοσοενζυμική μέθοδος

ται ότι η ανοσολογική απάντηση του ξενιστή και η αντιβιοτική θεραπεία μπορούν να περιορίσουν τη βλαβερή δράση αυτών των τοξινών στο σώμα. Στο ίδιο πλαίσιο, έχει παρατηρηθεί ΠΡΥ σε γυναίκες στις οποίες ο μικροοργανισμός που απομονώνεται στο αμνιακό υγρό δεν παράγει κάποια κολλαγόνωση ή άλλη πρωτεάση, ενώ υπάρ-

χει και μελέτη που δείχνει ότι επιθετική αντιβιοτική αγωγή δε μειώνει τον κίνδυνο της ΠΡΥ¹⁰.

Πολλοί είναι οι μελετητές πλέον που υποστηρίζουν ότι η βακτηριακή λοίμωξη μπορεί μεν να είναι ο υποκινητής, αλλά η ανοσολογική απάντηση της μητέρας είναι ο πραγματικός αιτιολογικός παράγοντας για την ΠΡΥ^{9,10}. Ειδικότερα, υπάρ-

Πίνακας 2: Δείκτες φλεγμονής και πρόωρη ρήξη εμβρυϊκών υμένων

Ευρήματα	Μέθοδος	Μέθοδος	Βιβλ.Αναφορά
Διαλυτό διακτυττάριο μόριο προσκόλλησης I (ICAM I) αυξάνεται με στην ΠΡΥ	Ορός μητέρας	Elisa	36
IL-6 και TNF α αυξάνουν σε χοριοαμνιονίτιδα και ΠΡΥ	Ορός μητέρας και αμνιακό υγρό	Elisa	37
IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN γ , EGF αυξάνουν στην ΠΡΥ	Ορός μητέρας και αμνιακό υγρό	RIA και Elisa	38
Αυξημένη IL-6 στο αμνιακό υγρό σε χοριοαμνιονίτιδα και ΠΡΥ	Αμνιακό υγρό	Elisa	39
Αυξημένα λευκά αιμοσφαίρια όταν υπήρχε θετική καλλιέργεια αμνιακού υγρού, ιστολογικά τεκμηριωμένη και κλινική χοριοαμνιονίτιδα σε γυναίκες με ΠΡΥ	Αμνιακό υγρό	Μέτρηση WBC	40
CRP ως δείκτης υποκλινικής χοριοαμνιονίτιδας	Ορός μητέρας	Μέθοδος για CRP	41
IL-6 του τραχηλικού υγρού αυξάνει σε ΠΡΥ με χοριοαμνιονίτιδα	Τραχηλικό υγρό	Elisa	42
Αυξημένα επίπεδα IL-2, IFN γ και IL-12 στον πλακούντα σε ΠΡΥ	Πλακούντας	Elisa	43
Αυξημένα επίπεδα IL-18 στο αμνιακό υγρό σε ΠΡΥ	Αμνιακό υγρό	Elisa	44
Αυξημένα επίπεδα TNF α στο αμνιακό υγρό σε χοριοαμνιονίτιδα με ΠΡΥ	Αμνιακό υγρό	Elisa	45,46

ELISA: ανοσοενζυμική μέθοδος, IL-1 β /IL-6: Ιντερλευκίνη-1 β /6, TNF α : Παράγοντας νέκρωσης όγκων- α , IFN γ : ιντερφερόνη- γ , EGF: επιδερμικός παράγοντας ανάπτυξης, RIA: ανοσοραδιολογική μέθοδος, CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

χουν δεδομένα ότι η ΠΡΥ είναι μία ενδογενής «αυτοάνοση» κατάσταση κατά την οποία η φλεγμονώδης απόκριση του ξενιστή ενεργοποιεί τις MMP που οδηγούν στην αποδόμηση του ΕΚΣ, και προδιαθέτουν στη ρήξη των υμένων¹¹.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες του στρώματος (Matrix Metalloproteinases – MMPs) και οι αναστολείς τους (TIMPs) στην ΠΡΥ

Οι εμβρυϊκοί υμένες υφίστανται κατά τη διάρκεια της κύησης μία προγραμματισμένη διεργασία κολλαγονολυτικής αναδιάταξης (=remodeling) του ΕΚΣ, ώστε να προσαρμοστούν στο διαρκώς αυξανόμενο όγκο και πίεση^{12,13}. Αυτή η ελεγχόμενη διεργασία κολλαγονόλυσης διαμεσολαβείται από τους MMP, καθένas από τους οποίους αποδομεί συγκεκριμένο υπόστρωμα. Υπάρχουν αρκετοί ρυθμιστικοί μηχανισμοί οι οποίοι επηρεάζουν την επίδραση των MMP στην αποδόμηση του ΕΚΣ. Γενικά, η δράση των MMP ελέγχεται στενά όχι μόνο από τον έλεγχο της μεταγραφής και της μετάφρασής τους, αλλά και σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο (ενεργοποίηση των ζυμογόνων μορφών των MMP) και σε επίπεδο ιστού (με ειδικούς ρυθμιστές, γνωστοί ως ιστικοί αναστολείς των MMP, TIMP). Έχει τεκμηριωθεί η ισορροπημένη δράση των MMP και των TIMP σε πολλά συστήματα κατά την αναδιάρθρωση ιστών¹⁴. Στον άνθρωπο έχουν αναγνωριστεί 24 μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών των MMP και 4 της οικογένειας των TIMP. Ο ρόλος των MMP στον ανθρώπινο τοκετό και την ΠΡΥ έχει μελετηθεί αρκετά την τελευταία δεκαετία. Στην ΠΡΥ έχει τεκμηριωθεί αυξημένη κολλαγονόλυση καθώς και ελάττωση στο περιεχόμενο

σε κολλαγόνο των μεμβρανών¹⁵, όπως και ο σημαντικός ρόλος των MMP τόσο με μοριακές όσο και με βιοχημικές μεθόδους (πίνακας 1).

Η απόπτωση στην ΠΡΥ

Η διεργασία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου ή απόπτωση έχει διαπιστωθεί ότι διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην ΠΡΥ. Σε ζωικά πειραματικά πρότυπα τεκμηριώθηκε ότι αμνιακά επιθηλιακά κύτταρα εισέρχονται στη φάση της απόπτωσης στα πλαίσια μίας καλά ενορχηστρωμένης διαδικασίας αποδόμησης του ΕΚΣ, πριν από την επίσημη έναρξη του τοκετού²⁸. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η ΠΡΥ πιθανότατα δεν είναι αποτέλεσμα μόνο μηχανικών δυνάμεων, αλλά κυρίως βιοχημικών αλλαγών. Υπάρχουν δύο κύρια μονοπάτια απόπτωσης που και τα δύο μπορεί να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην ΠΡΥ και ενεργοποιούνται από λοίμωξη, γονοτοξικούς παράγοντες ή άλλους άγνωστους παράγοντες.

i) Μονοπάτι μεσολαβούμενο από τον υποδοχέα του TNF (TNFR1) και τον Fas

Αυτοί οι δύο υποδοχείς συνδέονται με τα υποκατάστατά τους, τον TNF και τον FasL αντίστοιχα, μέσω δύο πρωτεϊνών αγκίστρωσης των TRADD (TNFR-associated Death Domain) και FADD (Fas-associated Death Domain). Αυτές οι πρωτεΐνες ενεργοποιούν μία ομάδα πρωτεασών, γνωστές ως κασπάσες. Η ενεργοποίηση, λοιπόν, του καταρράκτη των κασπασών οδηγεί στην πρωτεόλυση 3 βασικών ομάδων υποστρωμάτων:

- πρωτεϊνών που συμμετέχουν σε ομοιοστατικές αντιδρά-

Πίνακας 3: Μελέτες γονιδίων στον πρόωρο τοκετό και την πρόωξη ρήξη υμένων (ΠΡΥ)

Γονίδιο	SNP	Πληθυσμός	Αποτέλεσμα	Βιβλ. Αναφ.
CD14	-159	Μητέρα-δίδυμα και μητέρα-τρίδυμα	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	50
Fas	-670	Νεογνά	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	51
TNFα	-308	Πρώτο νεογνό σε πολύδυμες κηήσεις	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	52
HSP70	+1267	Πρώτο νεογνό σε πολύδυμες κηήσεις	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	52
MMP8	-799C, -381, +17	Νεογνά Αφροαμερικανών	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	53
Fas	-670	Μητέρα-νεογνό	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	54
TNFα	-308	Μητέρες	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	55
TNFα	-308	Μητέρες	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ και την ύπαρξη βακτηριακής κολπίτιδας	56
MMP9	-1562	Νεογνά Αφροαμερικανών	Καμία συσχέτιση με ΠΡΥ σε Αφροαμερικανούς	57
MMP9	14 CA	Νεογνά Αφροαμερικανών	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ σε Αφροαμερικανούς	57
MMP1	-1607	Νεογνά	Θετική συσχέτιση με ΠΡΥ	58
TLR4	896	Αφροαμερικανές μητέρες	Καμία συσχέτιση με ΠΡΥ	59
CARD15	2936	Αφροαμερικανές μητέρες	Καμία συσχέτιση με ΠΡΥ	59

σεις σε στρεσογόνα ερεθίσματα, με κυριότερες τις PARP (πολυμεράση της ADP-ριβόζης, ένζυμο επιδιορθωσης του DNA), και την DNA εξαρτώμενη πρωτεϊνική κινάση.

- δομικών πρωτεϊνών που διατηρούν την ακεραιότητα του κυτταροσκελετού ή του πυρηνικού στρώματος (β-ακτίνη, λαμινίνη), και

- πολλές πρωτεΐνες με άγνωστη δράση²⁹.

Οι κασπάσες φυσιολογικά βρίσκονται μέσα στο κύτταρο με τη μορφή του ανενεργού προενζύμου τους και ενεργοποιούνται με πρωτεολυτική διάσπαση στα ασπαρτικά παράγωγά τους Βασικά, οι κασπάσες ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες: τους εκκινήτες (initiators) και τους τελεστές (effectors) της απόπτωσης. Οι εκκινήτες είναι μία ομάδα κασπασών που άμεσα ενεργοποιούν τον καταρράκτη της πρωτεόλυσης, ενώ οι τελεστές είναι μία ομάδα πρωτεϊνών των οποίων η δράση εν τέλει καταλήγει στην έναρξη της απόπτωσης³⁰. Οι TRADD και FADD που προαναφέρθηκαν ενεργοποιούν ανεξάρτητα την προκασπάση 8 στην ενεργό μορφή της³¹.

ii) Μονοπάτι του p53

Το δεύτερο μονοπάτι εκκινείται από το p53 –μία πρωτεΐνη ενεργοποιητής. Αύξηση των επιπέδων του p53 στο κύτταρο επάγει την έκφραση του bax (προαποπτωτικός παράγοντας) το οποίο με τη σειρά του προκαλεί βλάβες στη μιτοχονδριακή μεμβράνη με αποτέλεσμα να απελευθερώνεται κυτόχρωμα C. Το κυτόχρωμα C με τη σειρά του ενεργοποιεί τον Araf (Apoptosis Protease Activating Factor – παράγοντας ενεργοποίησης αποπτωτικών πρωτεασών) που μετατρέπει την προκασπάση 9 στην ενεργό μορφή της. Το p53, επίσης, καταστέλλει το Bcl-2 (ένας αντιαποπτωτικός παράγοντας) του οποίου η βασική λειτουργία είναι η προστασία της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Τόσο η κασπάση 8 όσο και η 9 από τη στιγμή που ενεργοποιούνται, με όποιο από τα δύο μονοπάτια, μπορούν να εκκινήσουν τον καταρράκτη των κασπασών. Οι κασπάσες 3, 7 και 6 ενεργοποιούνται διαδοχικά με αποτέλεσμα τελικά την αποδόμηση δομικών πρωτεϊνών, πρωτεϊ-

νών που μετέχουν στην ομοίωση, αλλά και άλλων που συνολικά εμπλέκονται στον προγραμματισμένο θάνατο του κυττάρου. Αυτά τα μονοπάτια διασυνδέονται σε αρκετά σημεία. Το p53 για παράδειγμα μπορεί να ενεργοποιήσει τον Fas σε κάποιους ιστούς. Ακόμη, η κασπάση 8 είναι γνωστό ότι καταστέλλει το Bcl-2 και ενεργοποιεί το “bid”, το οποίο επίσης προκαλεί απελευθέρωση κυτοχρώματος. Η κασπάση 8, τέλος, μπορεί από μόνης της να ενεργοποιήσει την κασπάση 9 απουσία του Araf από το σύστημα³².

Η έκφραση του γονιδίου του Fas στους εμβρυϊκούς υμένες έχει τεκμηριωθεί³³. Επιπρόσθετα, η in vitro λοίμωξη των υμένων επάγει πολλά από τα γονίδια που εμπλέκονται στα αποπτωτικά μονοπάτια³⁴. Ο Fas, η κασπάση 8 και οι υπόλοιπες εκκινήτες (2 και 9) και τελεστές κασπάσες (6, 7 και 10) επάγονται στους εμβρυϊκούς υμένες ως απάντηση σε in vitro λοίμωξη (διέγερση από λιποπλυσακχαρίτη-LPS), υποδεικνύοντας ότι η απόπτωση σαφώς διαδραματίζει κάποιο ρόλο σε οποιαδήποτε λοίμωξη του άμνιου.

Ο ρόλος των φλεγμονωδών κυτταροκινών στην ΠΡΥ

Οι Υοση και συν. αναφέρουν ποσοστό 42% χοριοαμνιονίτιδας σε γυναίκες με ΠΡΥ³⁵. Ως χοριοαμνιονίτιδα θεωρήσαν, ωστόσο, αυξημένα επίπεδα MMP8 και λευκών αιμοσφαιρίων στο αμνιακό υγρό, θέτοντας τη βάση για την υπόθεση ότι ακόμη και υποκλινική λοίμωξη του άμνιου μπορεί να πυροδοτεί την ΠΡΥ, χωρίς να απαιτούνται κλινικά σημεία λοίμωξης. Πλέον, η ενεργοποίηση της φλεγμονώδους απόκρισης της μητέρας (παραγωγή κυτταροκινών), η ενεργοποίηση των MMP και της απόπτωσης έχει τεκμηριωθεί επαρκώς στην ΠΡΥ. Ο τρόπος που μεταβάλλονται τα επίπεδα αρκετών δεικτών φλεγμονής συνοψίζονται στον πίνακα 2.

Ύπαρξη ξεχωριστών μοριακών μονοπατιών στον πρόωρο τοκετό ανάλογα με τη συνύπαρξη ή όχι ΠΡΥ

Οι αιτιολογικοί παράγοντες στον πρόωρο τοκετό με ή χω-

ρίς ΠΡΥ είναι παρόμοιοι: και στις δύο περιπτώσεις στο 50% των περιστατικών η αιτία είναι η λοίμωξη. Ωστόσο, δεν έχει ακόμη ξεκαθαριστεί για ποιο λόγο σε ορισμένες γυναίκες γίνεται ΠΡΥ και σε άλλες όχι, αφού φαίνεται το σημείο εκκίνησης να είναι το ίδιο. Αυτό που είναι σύγυρο είναι ότι υπάρχουν συγκεκριμένοι μοριακοί παράγοντες οι οποίοι είτε απουσιάζουν εντελώς ή εκφράζονται σε πολύ μικρότερο επίπεδο στις γυναίκες με πρόωρο τοκετό χωρίς ΠΡΥ⁴⁷. Στον πρόωρο τοκετό ανεξάρτητα από το γεγονός εάν συνυπάρχει ή όχι ΠΡΥ κεντρικό ρόλο κατέχει ο καταρράκτης των κυτταροκινών, η ενεργοποίηση του οποίου και η έντασή του εξαρτάται από τη φύση και την εστία της λοίμωξης. Όταν, ωστόσο, μελετήθηκαν οι κυριότερες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1β, IL-6 και TNF-α) στον πρόωρο τοκετό με ΠΡΥ και χωρίς ΠΡΥ, διαπιστώθηκε ότι ο TNF-α διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην ΠΡΥ επάγοντας τους μηχανισμούς της απόπτωσης, την ενεργοποίηση των MMP και των κασπασών και τέλος την αποδόμηση του ΕΚΣ στους εμβρυϊκούς υμένες⁴⁸. Η IL-1β συμμετέχει στην ίδια διαδικασία, αλλά σε μικρότερο βαθμό, ενώ η IL-6 κατ' ελάχιστο μόνο συμβάλλει στην ενεργοποίηση των MMP ή την απόπτωση στους εμβρυϊκούς υμένες⁴⁹. Τα μέχρι στιγμής ευρήματα δεικνύουν, λοιπόν, ότι μία ή περισσότερες κυτταροκίνες λειτουργούν ως διακόπτης μεταξύ των δύο μονοπατιών που οδηγούν στην ΠΡΥ σε ορισμένες γυναίκες, ενώ σε άλλες γυναίκες επισυμβαίνει πρόωρος τοκετός χωρίς ΠΡΥ.

Γενετική Προδιάθεση στην ΠΡΥ

Την τελευταία δεκαετία, λοιπόν, αρκετά νέα δεδομένα έχουν προκύψει όσον αφορά τους μοριακούς και παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην ΠΡΥ, ενώ έχουν αναγνωριστεί και κάποιοι βιοχημικοί δείκτες που εμπλέκονται και μπορούν να μετρηθούν. Ωστόσο, κανένα από αυτά τα καινούργια δεδομένα δεν οδήγησε στην επιθυμητή ελάττωση της επίπτωσης του πρόωρου τοκετού. Μία εναλλακτική στον προσδιορισμό βιοχημικών δεικτών στρατηγική θα ήταν ο προσδιορισμός γενετικών πολυμορφισμών που εμπλέκονται σε αυξημένο κίνδυνο για ΠΡΥ και βέβαια να προσδιοριστεί ο αυξημένος αυτός κίνδυνος. Ήδη ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει πραγματοποιηθεί πάνω σε μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (single-nucleotide polymorphisms, SNPs) γονιδίων που διαπιστωμένα εμπλέκονται στα μονοπάτια που έχουν προαναφερθεί. Αναφορά στις κυριότερες από αυτές γίνεται στον πίνακα 3. Οι περισσότερες από αυτές τις ερευνητικές προσπάθειες εστίασαν σε πολυμορφισμούς ενός μόνο τόπου (single-locus) και τη συσχέτισή τους με την ΠΡΥ. Η ΠΡΥ, ωστόσο, είναι μία σύνθετη νόσος στην οποία εμπλέκονται πολλαπλά παθοφυσιολογικά μονοπάτια. Ήταν, συνεπώς, δύσκολο να βρεθεί ούτως ή άλλως συσχέτιση πολυμορφισμού ενός μόνο τόπου και της ΠΡΥ. Χαρακτηριστικά μία μετα-ανάλυση από τον Menon και συν. απέδειξε ότι δεν υπάρχει καμία συσχέτιση ή συμβολή ανάμεσα σε ένα συγκεκριμένο SNP του υποκινητή του γονιδίου του TNF-α στη θέση -308 και την ΠΡΥ, παρά το γεγονός ότι σε άλλες μεμονωμένες μελέτες είχε τεθεί η σοβαρή υποψία ότι ίσχυε κάτι τέτοιο⁶⁰. Αξίζει, βέβαια, να σημειωθεί ότι ο ρόλος και η δράση ενός SNP μπορεί να επηρεαστεί και να μεταβληθεί από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως είναι για παράδειγμα η βακτηριακή κοιλίτιδα⁵⁶.

Συμπεράσματα

Η ΠΡΥ είναι μία κατάσταση στην παθογένεια της οποίας είναι ξεκάθαρο ότι οι λοίμωξεις διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο. Παλιότερα υπερίσχυε η υπόθεση ότι η απευθείας δράση των βακτηρίων πάνω στους εμβρυϊκούς υμένες ήταν αυτή προκαλούσε τη ρήξη των υμένων. Οι έρευνες της τελευταίας δεκαετίας, ωστόσο, κατέδειξαν ότι η ΠΡΥ είναι μία σύνθετη διεργασία στην οποία το βασικό ρόλο κατέχει η ανοσιακή απάντηση της μητέρας απέναντι σε οποιοδήποτε στρεσογόνο ερέθισμα. Αυτή η αντίδραση περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του καταρράκτη των κυτταροκινών, των κασπασών και την επαγωγή τελικά της δράσης των MMP στους εμβρυϊκούς υμένες. Οι γονιδιακοί πολυμορφισμοί των γονιδίων που εμπλέκονται στα μονοπάτια της ΠΡΥ μαζί με την επίδραση περιβαλλοντικών και συμπεριφορολογικών παραγόντων αναδεικνύουν την πολυπλοκότητα του φαινομένου της ΠΡΥ και τα πολλαπλά επίπεδα στα οποία πρέπει να κινηθεί η επιστημονική έρευνα προκειμένου να διαλευκανθεί.

The role of infection and inflammatory response of the mother in preterm premature rupture of membranes: pathophysiologic data

Evangelinakis N., Polyzou E., Kassanos D.

3rd Department of Obstetrics & Gynecology, Medical School of Athens, General University Hospital "Attikon"

Correspondence: Evangelinakis Nikolaos,

3rd Department of Obstetrics & Gynecology, Medical School of Athens, General University Hospital "Attikon"

Rimini 1, Zip Code 12464, Athens

Tel.: 210-5832244, 6947008415,

Fax: 210-5326447

E-mail: evangelinakisnikos@yahoo.gr

Summary

Preterm birth, caused either by preterm onset of contractions (before 37 weeks' gestation) or by preterm premature rupture of membranes (pPROM), accounts for ~80% of preterm deliveries. pPROM is associated with 30-40% of preterm deliveries and what is interesting is that the incidence of pPROM has increased in the past decade. A fundamental question that has to be addressed is why some women experience preterm pPROM and others experience preterm labor without rupture of membranes when causative factors are the same for both these pathologic conditions. To date, studies have evaluated biological markers that are commonly elevated in preterm delivery regardless of rupture of membranes. A better understanding of the similarities and differences between the biomolecular pathways leading to each of these conditions may broaden our horizons in research and therapeutic in-

tervention. In this review we emphasize on the possibly different roles of inflammatory mediators (cytokines and matrix metalloproteinases) and programmed cell death (apoptosis) in preterm labor with and without pPROM.

Key words: Preterm premature rupture of membranes, inflammation, matrix metalloproteinases, apoptosis, genetic variations

Βιβλιογραφία

1. Parry S & Strauss 3rd JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med* 1998; 338: 663–670.
2. Savitz DA, Blackmore CA & Thorp JM. Epidemiologic characteristics of preterm delivery: etiologic heterogeneity. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 467–471.
3. Mossman HW. Vertebrate fetal membranes. New jersey: Rutgers University Press, 1987.
4. Hay ED. Extracellular matrix. *J Cell Biol* 1981; 9: 205s–223s.
5. Bryant-Greenwood GD. The extracellular matrix of the human fetal membranes: structure and function. *Placenta* 1998; 19: 1–11.
6. French JI & McGregor JA. The pathobiology of premature rupture of membranes. *Semin Perinatol* 1996; 20: 344–368.
7. Parry S & Strauss 3rd JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med* 1998; 338: 663–670.
8. Mercer BM & Lewis R. Preterm labor and preterm premature rupture of the membranes. Diagnosis and management. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 1: 177–201.
9. Waters TP, Mercer B. Preterm PROM: prediction, prevention, principles. *Clin Obstet Gynecol*. 2011;54(2):307-12.
10. Keelan JA, Nitsos I, Saito M, et al. Maternal-amniotic-fetal distribution of macrolide antibiotics following intravenous, intramuscular and intramniotic administration in late pregnant sheep. *Am J Obstet Gynecol* 2011;204(6):546 e.10-7
11. Menon R & Fortunato SJ. Preterm Premature Rupture of the Membranes: A network of MMPs and Apoptosis. *J Soc Gynecol Investig* 2004; 11: 427–437.
12. Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Karchmer S et al. Collagen metabolism in premature rupture of amniotic membranes. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 84–88.
13. Bryant-Greenwood GD & Yamamoto SY. Control of peripartal collagenolysis in the human choriondecidua. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 63–70.
14. Stephenson CD, Lockwood CJ, Ma Y, Guller S. Thrombin-dependent regulation of matrix metalloproteinase (MMP)-9 levels in human fetal membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005;18(1):17-22.
15. Drapper D, Mc Gregor J, Hall J et al. Elevated protease activities in human amnion and chorion correlate with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1506–1512.
16. So T. The role of matrix metalloproteinases for premature rupture of the membranes. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1993; 45: 227–233.
17. Lei H, Vadillo-Ortega F, Paavola LG & Strauss 3rd JF. 92-kDa gelatinase (matrix metalloproteinase-9) is induced in rat amnion immediately prior to parturition. *Biol Reprod* 1995; 53: 339–344.
18. Vadillo-Ortega F, Hernandez A, Gonzalez-Avila G et al. 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.
19. Fortunato SJ, Menon R & Lombardi SJ. Collagenolytic enzymes (gelatinases) and their inhibitors in human amniochorionic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 77: 731–741.
20. Fortunato SJ, Menon R & Lombardi SJ. Presence of four tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP 1, 2, 3 and 4) in human fetal membranes. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40: 395–400.
21. Fortunato SJ, Menon R & Lombardi SJ. Stromelysins in placental membranes and amniotic fluid with premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1999; 94: 435–440.
22. Fortunato SJ, Menon R & Lombardi SJ. MMP/TIMP imbalance in amniotic fluid during PROM: an indirect support for endogenous pathway to membrane rupture. *J Perinat Med* 1999; 27: 362–368.
23. Fortunato SJ, Menon R & Lombardi SJ. Amniochorion gelatinase-gelatinase inhibitor imbalance in vitro: a possible infectious pathway to rupture. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 240–244.
24. 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: 1248–1253.
25. Athayde N, Romero R, Gomez R et al. Matrix metalloproteinases-9 in preterm and term human parturition. *J Matern Fetal Med* 1999; 8: 213–219.
26. McLaren J, Taylor DJ & Bell SC. Increased concentration of pro-matrix metalloproteinase 9 in term fetal membranes overlying the cervix before labor: implications for membrane remodeling and rupture. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 409–416.
27. Uchida K, Ueno H, Inoue M et al. Matrix metalloproteinase-9 and tensile strength of fetal membranes in uncomplicated labor. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 851–855.
28. Lappas M, Lim R, Riley C, Menon R, Permezel M. Expression and localization of FoxO3 and FoxO4 in human placenta and fetal membranes. *Placenta* 2010;31(12):1043-50
29. Cryns VL & Yuan J. The cutting edge: caspases in apoptosis and disease. In Lockshin RA, zakeri Z & Tilly JL (eds). *When cells die*. New York, NY: Wiley-Liss, 1998, pp. 177–210.
30. Keelan JA, Khan S, Yosaatmadja F, Mitchell MD. Prevention of inflammatory activation of human gestational membranes in an ex vivo model using a pharmacological NF-kappa B inhibitor. *Immunol* 2009;183(8):5270-8.
31. Duan H & Dixit VM. RAIDD is a new ‘death’ adaptor molecule. *Nature* 1997; 385: 86–89.
32. Pan G, O’Rourke K & Dixit VM. Caspase-9, Bcl-XL, and Apaf-1 form a ternary complex. *J Biol Chem* 1998; 273: 5841–5845.
33. Runic R, Lockwood CJ, LaChapelle L et al. Apoptosis and Fas expression in human fetal membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 660–666.
34. Fortunato SJ, Menon R & Lombardi SJ. Support for an infection-induced apoptotic pathway in human fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184: 1392–1397.
35. Shim SS, Romero R, Hong JS et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 1339–1345.
36. Zou L, Zhang H, Zhu J & Zhu J. The value of the soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in maternal serum for determination of occult chorioamnionitis in premature rupture of membranes. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2004; 24: 154–157.
37. Weiyan Z & Li W. Study of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in maternal serum and amniotic fluid of patients with premature rupture of membranes. *J Perinat Med* 1998; 26: 491–494.
38. Shobokshi A & Shaarawy M. Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; 79: 209–215.
39. Athayde N, Romero R, Maymon E et al. Interleukin 16 in pregnancy, parturition, rupture of fetal membranes, and microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 135–141.
40. Yoon BH, Jun JK, Park KH et al. Serum C-reactive protein, white blood cell count, and amniotic fluid white blood cell count in women with preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1996; 88:1034–1040.
41. Saini S, Goel N, Sharma M et al. C-reactive proteins as an indicator of sub-clinical infection in cases of premature rupture of membranes. *Indian J Pathol Microbiol* 2003; 46: 515–516.
42. Rizzo G, Capponi A, Vlachopoulou A et al. Interleukin-6 concentrations in cervical secretions in the prediction of intrauterine infection in preterm premature rupture of the membranes. *Gynecol Obstet Invest* 1998; 46: 91–95.
43. El-Shazly S, Makhseed M, Azizieh F & Raghupathy R. Increased expression of pro-inflammatory cytokines in placentas of women un-

- dergoing spontaneous preterm delivery or premature rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol* 2004; 52: 45–52.
44. Menon R, Lombardi SJ & Fortunato SJ. Interleukin-18, a product of chorionic decidua cells increases during premature rupture of membranes but fails to turn on FAS-FAS ligand mediated apoptosis pathway. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 276–284.
45. Romero R, Mazor M, Sepulveda W et al. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1576–1587.
46. Romero R, Manogue KR, Mitchell MD et al. Infection and labor. IV. Cachectin-tumor necrosis factor in the amniotic fluid of women with intraamniotic infection and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 336–341.
47. Fortunato SJ & Menon R. Distinct molecular events suggest different pathways for preterm labor and PROM. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 1399–1406.
48. Fortunato SJ, Menon R & Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor-alpha in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1159–1162.
49. Menon R & Fortunato SJ. IL-1b is a better inducer of apoptosis in human fetal membranes than IL-6. *Placenta* 2003; 24: 922–928.
50. Kalish RB, Vardhana S, Normand NJ et al. Association of a maternal CD14-159 gene polymorphism with preterm premature rupture of membranes and spontaneous preterm birth in multi-fetal pregnancies. *J Reprod Immunol* 2006; 70: 109–117.
51. Fuks A, Parton LA, Polavarapu S et al. Polymorphism of Fas and Fas ligand in preterm premature rupture of membranes in singleton pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005 Sep; 193: 1132–1136.
52. Kalish RB, Vardhana S, Gupta M et al. Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene at position 308 and the inducible 70 kd heat shock protein gene at position 1267 in multifetal pregnancies and preterm premature rupture of fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 1368–1374.
53. Wang H, Parry S, Macones G et al. Functionally significant SNP MMP8 promoter haplotypes and preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Hum Mol Genet* 2004; 1(13): 2659–2669.
54. Kalish RB, Nguyen DP, Vardhana S et al. A single nucleotide A >G polymorphism at position 670 in the Fas gene promoter: relationship to preterm premature rupture of fetal membranes in multifetal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 208–212.
55. Roberts AK, Monzon-Bordonaba F, Van Deerlin PG et al. Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1297–1302.
56. Macones GA, Parry S, Elkousy M et al. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 1504–1508.
57. Ferrand PE, Parry S, Sammel M et al. A polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with increased risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 494–501.
58. Fujimoto T, Parry S, Urbanek M et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) promoter influences amnion cell MMP-1 expression and risk for preterm premature rupture of the fetal membranes. *J Biol Chem.* 2002; 277: 6296–6302.
59. Ferrand PE, Fujimoto T, Chennathukuzhi V et al. The CARD15 2936insC mutation and TLR4 896 A >G polymorphism in African Americans and risk of preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 1031–1034.
60. Menon R, Merialdi M, Betran AP et al. Lack of association between tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism (-308), TNF concentration, and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195: 1240–1248.

ΚΑΤΑΤΕΘΗΚΕ 27/1/20112 ΕΓΙΝΕ ΑΠΟΔΕΚΤΗ 12/07/2012