

Téma: Aktívna liečba previabilného odtoku plodovej vody – amniopatch ako liečebná alternatíva zlepšujúca perinatálne výsledky

Autor: MUDr. Martin Alföldi ^[1]

Tel. č.: +421948 220 428

E mail: matalfoldi@gmail.com

Spoluautori: MUDr. Ivana Kunočová ^[1]

Školiteľ: Doc. MUDr. Vladimír Ferianec PhD. ^[1]

[1]: II. gynekologicko-pôrodná klinika LFUK a UNB

Abstrakt

Spontánny, previabilný, predčasný, predtermínový odtok plodovej vody (previable sPPROM) predstavuje z prognostického hľadiska veľmi závažný stav zaťažený vysokou mierou perinatálnej morbidity a mortality. Terapeutické možnosti sú na väčšine pracovísk obmedzené na podanie antibiotickej profylaxie s eventuálnou kortikoidnou prípravou pľúc plodu. Daný postup prináša zmiešané výsledky pričom miera krátkodobej úspešnosti je posudzovaná podľa dĺžky obdobia od odtoku plodovej vody do pôrodu plodu resp. abortu, tzv. latency period interval PPRM – pôrod (LP PPRM - pôrod) a ukazateľmi perinatálnej morbidity a mortality. Alternatívu v prípade takto komplikovaných tehotností prináša ich aktívny manažment vo forme transabdominálneho, intra-amniálneho podávania kryoprepicátu a trombocytov – amniopatch (AP). Cieľom našej práce bolo vyhodnotiť terapeutickú úspešnosť AP s poukázaním na jeho možný pozitívny vplyv v prípade nasledujúcich veličín: Latency period previable sPPROM – pôrod/potrat (LP), Survival rate after discharge (SR after discharge), Mortality rate after delivery (MR after delivery). Výsledky nášho súboru pacientiek po AP sme porovnali s obdobnými prácami z dostupnej svetovej literatúry a rozsiahlou publikovanou meta-analýzou pacientiek s previable sPPROM manažovaných expektačne. Na základe zistených výsledkov sme preukázali bezpečnosť metódy, skutočnosť, že AP štatisticky signifikantne predlžuje LP, SR after discharge a proporcionálne znižuje MR after delivery a postulovali tézu o jeho možnom anti-infekčnom pôsobení.

Kľúčové slová

Previabilný, predčasný, predtermínový, spontánny odtok plodovej vody (previable sPPROM), Amniopatch (AP), Latency period previable sPPROM – pôrod (LP), Survival rate after discharge (SR after discharge), Mortality rate after delivery (MR after delivery)

Úvod

PPROM (predčasný, predtermínový odtok plodovej vody) je definovaný ako odtok plodovej vody bez kontrakčnej činnosti pred ukončeným 37 týždňom tehotnosti. Samostatnú kapitolu tvorí previabilný PPRM (PPROM pred dosiahnutím viability plodu – v našich podmienkach do 24 gestačného týždňa), ktorý komplikuje <1% tehotností. Previabilný PPRM predstavuje napriek svojej zriedkavosti jeden z najzávažnejších problémov modernej perinatológie a pôrodnictva nakoľko je asociovaný s krátkym intervalom medzi PPRM a pôrodom/potratom a vyplývajúcou vysokou mierou perinatálnej morbidity a mortality spojenej s extrémnou prematuritou a rizikom infekčných komplikácií (1).

Z patofyziologického hľadiska rozoznávame 2 formy previabilného PPRM: 1. spontánny, PPRM (sPPROM) a 2. iatrogénny, PPRM (iPPROM). sPPROM je vyvolaný prítomnosťou intra-amniálneho zápalu najčastejšie na podklade mikrobiálnej invázie s následnou eleváciou hladín cytokínov a matrixových metaloproteináz (MMP) v plodovej vode, ktoré vedú k progresívnemu oslabovaniu plodových obalov s ich následnou ruptúrou (2). Defekt plodových obalov je obvykle lokalizovaný v oblasti dolného pólu plodového vajca a javí minimálnu tendenciu k spontánnej úprave. iPPROM je následkom intrauterinných výkonov (amniocentéza, biopsia chóriových klkov) s narušením integrity plodových obalov. Defekt plodových obalov je zhodný s miestom zavedenia inštrumentária pri výkone a javí určitú tendenciu k spontánnemu uzavretiu na podklade chorio-myometrálného jazvenia. Táto forma má lepšiu prognózu ako sPPROM (3). Progresívny odtok plodovej vody vedie k zníženiu intrauterinného poolu plodovej vody s rizikom rozvoja intrauterinnej infekcie charakteru chorioamnionitídy, poruchy vývoja pľúc s následnou pľúcnou hypopláziou a kompresívnych končatinových defektov (pedes equinovari). Z pohľadu akútneho ohrozenia je najvýznamnejšie zvýšené riziko pupočníkových komplikácií (kompresia) a abrupcie placenty (4). Diagnostika PPRM je možná na základe anamnestických údajov, klinického vyšetrenia v spekulách, kolorimetrických testov (Temešváryho test), enzymo-imunologickými metódami (AmniSure, Actim PROM Test) a ultrazvukového vyšetrenia. Jednotlivé metódy sa líšia svojou senzitivitou aj špecificitou a obvykle je nutná ich kombinácia za účelom diagnostickej exaktnosti (5). Terapeutické možnosti liečby PPRM sú obmedzené s dôrazom na skutočnosť, že kauzálna liečba PPRM formou kompletného uzatvorenia defektu v plodových obaloch s obnovou normálneho poolu plodovej vody nie je možná. Existujú 2 odlišné terapeutické prístupy expektačný a aktívny (6). Princípom expektačného manažmentu je aplikácia antibiotík a v závislosti od ukončeného gestačného týždňa eventuálne kortikosteroidov za účelom

redukcie rizika infekčných komplikácií a zlepšenia možností postnatálnej adaptácie plodu s následnou observáciou tehotnej v ústavných alebo ambulantných podmienkach. Tento terapeutický postup nemá za cieľ ovplyvňovať dĺžku LP ale redukovať riziká vyplývajúce zo samotného PPRM (infekcia, prematurita) (7). Aktívny manažment vo forme AP má za cieľ čiastočné, prechodné zvýšenie množstva plodovej vody za účelom predĺženia trvania gravidity, prolongácie LP PPRM – pôrod. Princípom AP je odber a separácia materských trombocytov a plazmy v forme kryoprecipitátu s ich následnou transabdominálnou, intraamniálnou aplikáciou (8). AP ako rešpektovaná terapeutická modalita je v súčasnosti aktívne využívaný najmä v liečbe iPPROM, jeho využitie v prípadoch sPPROM však stále nie je podporené veľkými randomizovanými štúdiami nakoľko sa spochybňuje jej efekt vzhľadom na odlišnú patogenézu sPPROM. Predpokladaný efekt AP podporujúci udržanie určitého množstva plodovej vody je vysvetľovaný solidifikáciou kryoprecipitátu v oblasti defektu plodových obalov s jeho dočasným uzatvorením. Jeho pozitívny vplyv na živorodenosť, perinatálnu morbiditu, mortalitu a výskyt infekčných komplikácií u matky a plodu je možné vysvetliť hypotetickým anti-infekčným a imunomodulačným pôsobením zložiek kryoprecipitátu. Úloha AP v terapii PPRM je však napriek vyššie uvedenému do súčasnosti málo preskúmaná a je nevyhnutná realizácia ďalších štúdií na overenie jeho celkového terapeutického potenciálu (9). V našej práci predstavujeme súbor 53 pacientok s previabilným sPPROM, u ktorých bol realizovaný AP na II. gynekologicko-pôrodnickej klinike LFUK a UNB. Ide zatiaľ o najväčší súbor takto liečených pacientok po sPPROM evidovaný v odbornej literatúre.

Materiál a metódy

Medzi rokmi 2008 – 2019 podstúpilo AP, ako experimentálnu liečebnú metódu na II gynekologicko-pôrodnickej klinike LFUK a UNB v Bratislave celkovo 56 žien s diagnózou previable sPPROM.

Do nášho súboru sme z vyššie uvedených pacientiek vybrali 53 na základe nasledovných, kritérií: **1. jednoplodové tehotnosti, 2. previabilný sPPROM (do 24 gestačného týždňa), 3. absencia aktívneho vaginálneho krvácania, 4. odstup medzi odtokom plodovej vody a pôrodom resp. abortom >10 dní, 5. prítomný ultrazvukovo verifikovaný anhydramnion, 6. bez pozitivity zápalových parametrov matky (bez klinicky alebo laboratórne manifestného zápalového syndrómu matky), 7. normálne cervikometrické parametre**

matky (>25 mm, bez funnelingu), 8. absencia závažných vývojových väd alebo chromozómových aberácií u plodu, 9. realizácia AP nie viac ako 1x.

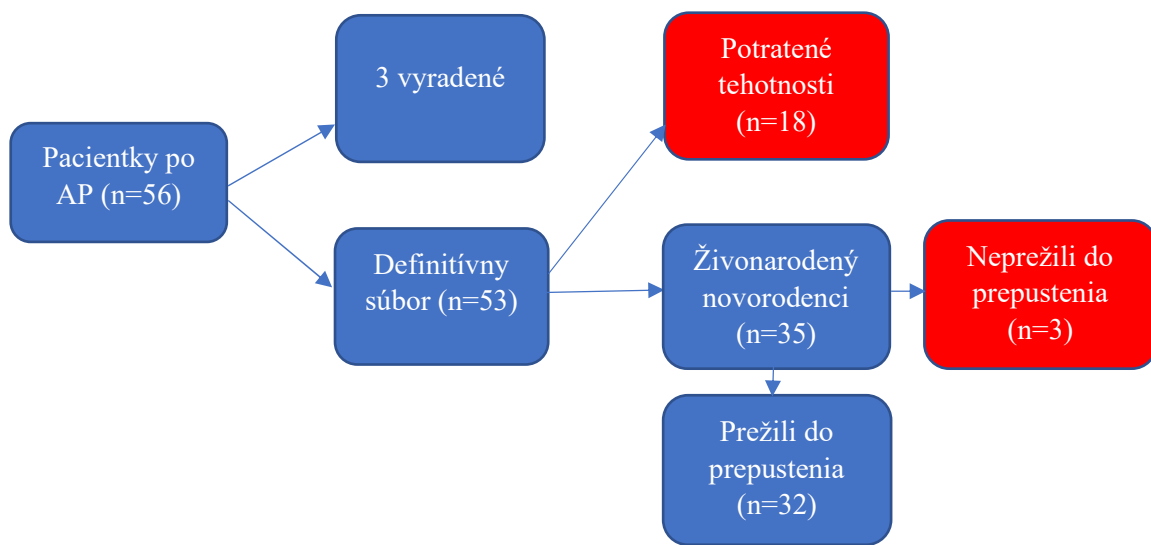
Definitívny súbor sme zhodnotili s určením miery potratovosti a živorodenosti po výkone v absolútnych hodnotách aj v percentuálnom vyjadrení. U živonarodených novorodencov sme stanovili počet novorodencov, ktorí prežili iniciálny pobyt v nemocničnom zariadení v absolútnych hodnotách aj v percentuálnom vyjadrení. Následne sme súbor charakterizovali stanovením nasledovných veličín: 1. Priemerná doba výskytu sPPROM (gestačný vek), 2. Priemerná doba realizácie AP (gestačný vek), 3. Priemerná doba ukončenia tehotnosti (gestačný vek), 4. Priemerná latency period (LP) AP – pôrod/potrat (obdobie od realizácie AP do ukončenia tehotnosti), 5. Priemerná LP sPPROM – pôrod/potrat (obdobie od sPPROM do ukončenia tehotnosti) v nasledujúcich troch kategóriách: 1. v celkovom súbore, 2. v súbore živonarodených detí, ktoré prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia, 3. v súbore potratených gravidít a živonarodených detí ktoré neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia (viď. Tabuľka č. 1). V rámci definovaných skupín: 1. živonarodených novorodencov, ktorí prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia a 2. Potratených gravidít a živonarodených novorodencov ktorí neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia sme porovnali súborové hodnoty nasledovných parametrov: 1. sPPROM, 2. AP, 3. LP. Vzhľadom na charakter dát, ktoré nepochádzajú z normálneho rozdelenia sme použili neparametrické testy – Man Whitneyov test na overenie štatistickej významnosti so stanovenou hladinou štatistickej významnosti $p: 0,05$ (5%) (viď. Tabuľka č. 2). Naše výsledky sme konfrontovali s údajmi z dostupných literárnych zdrojov a použili sme 3 základné veličiny stanovené pre celý AP súbor: **1. LP sPPROM – pôrod/potrat, 2. Survival rate (SR) to discharge (počet prežívajúcich do prepustenia), 3. Mortality rate (MR) after delivery (počet úmrtí po narodení)**, na ich porovnanie s obdobne stanoveným veličinami uverejnenými v rozsiahlej meta-analýze expektačne manažovaných prípadov sPPROM. Štúdia bola schválená regionálnou nemocničnou komisiou a registrovaná v roku 2007.

Výsledky

Z celkového počtu pacientok ($n=56$), ktoré podstúpili AP sme vyradili 3 pacientky (u jedného plodu bol ex post po výkone preukázaný M. Edwards, jedna pacientka podstúpila AP 2x, u ďalšieho plodu bola preukázaná závažná obštrukčná uropatia s následným intrauterinným úmrtím). V takto upravenom, definitívnom súbore ($n=53$) bolo zaznamenaných 18 potratov

(Miscarriage rate - 18/53 - 33,96%) a 35 živonarodených novorodencov (Survival rate - 35/53 - 66,03%). Z celkového počtu 35 živonarodených novorodencov 3 neprežili obdobie od pôrodu do prepustenia z nemocničného zariadenia (MR after delivery – 3/35 - 8,57%). Vo všetkých 3 prípadoch sa jednalo o úmrtia do 24 hodín po pôrode. 32 novorodencov v stabilizovanom stave prežilo až do prepustenia (SR to discharge – 32/53 - 60,37%) (vid'. Diagram č. 1).

Diagram č. 1: Rozloženie pacientiek v AP súbore podľa výsledku tehotnosti.



Priemerná doba výskytu sPPROM v celkovom súbore (n=53) bola (19+3 týždeň tehotnosti (t.t.)/136 dní (d)), v súbore živonarodených novorodencov ktorí prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia (n=32), (19+4 t.t./137d) a v súbore obsahujúcom potratené gravidity a živonarodených novorodencov ktorí neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia (n=21), (19+2 t.t./135d).

Priemerná doba realizácie AP bola v celkovom súbore (22+0 t.t./154d), v súbore živonarodených novorodencov ktorí prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia (22+1 t.t./155d) a v súbore obsahujúcom potratené gravidity a živonarodených novorodencov ktorí neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia (21+4 t.t./151d).

Priemerná doba ukončenia tehotnosti bola v celkovom súbore (27+4 t.t./193d), v súbore živonarodených novorodencov ktorí prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia (29+4

t.t./207d) a v súbore obsahujúcom potratené gravidity a živonarodených novorodencov ktorí neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia (23+1 t.t./162d).

Priemerná LP AP – pôrod/potrat bola v celkovom súbore (5+3 t.t./38d), v súbore živonarodených novorodencov ktorí prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia (7+1 t.t./50d) a v súbore obsahujúcom potratené gravidity a živonarodených novorodencov ktorí neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia (1+4 t.t./11d).

Priemerná LP sPPROM – pôrod/potrat bola v celkovom súbore (7+6t.t./55d), v súbore živonarodených novorodencov ktorí prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia (9+6 t.t./69d) a v súbore obsahujúcom potratené gravidity a živonarodených novorodencov ktorí neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia (3+4 t.t./25d).

Tabuľka č. 1: Základné hodnotené veličiny v AP súbore (n=53)

Hodnotená veličina	Celý súbor (n=53)	Živonarodení novorodenci, ktorí prežili do prepustenia z nemocničného zariadenia (n=32)	Potratené gravidity a živonarodení novorodenci ktorí neprežili prepustenie z nemocničného zariadenia (n=21)
sPPROM (priemer) g.t./d	19+3/136	19+4/137	19+2/135
AP (priemer) g.t./dni	22+0/154	22+1/155	21+4/151
Pôrod/Abort (priemer) g.t./d	27+4/193	29+4/207	23+1/162
LP AP – pôrod/potrat (priemer) g.t./dni	5+3/38	7+1/50	1+4/11
LP sPPROM – pôrod/abort (priemer) g.t./d	7+6/55	9+6/69	3+4/25

sPPROM – spontánny, predčasný, predtermínový odtok plodovej vody, AP – amniopatch, LP – Latency period, g.t. – gestačný týždeň, d – dni

Tabuľka č. 2: Porovnanie jednotlivých parametrov v rámci AP súboru (n=53)

Porovnávaný parameter	Výsledok komparácie	Štatistická významnosť
Doba výskytu sPPROM (d)	p - hodnota: 0,78716 z – skóre: 0,26765	Bez štatistickej významnosti
Doba aplikácie AP (d)	p – hodnota: 0,50926 z – skóre: 0,65874	Na hranici štatistickej významnosti
Dĺžka LP (d)	p – hodnota: < 0,00001 z – skóre: 4,16497	Výrazná štatistická významnosť

sPPROM – spontánný, predčasný, predtermínový odtok plodovej vody, AP – amniopatch, LP – Latency period, d – dni

Diskusia

Hodnotenie úspešnosti AP závisí od nastavených kritérií, ktoré sú v každej publikovanej štúdií definované. V našej štúdií sme si ako krátkodobý úspech výkonu stanovili prolongáciu gravidity za hranicu viability (35/53 - 66,03%) a pôrod živého plodu s jeho prežitím až do prepustenia z nemocničného zariadenia (32/53 – 60,37%). Ani u jednej pacientky sme nezaznamenali uzavretie amniálneho defektu ad integrum so stabilným obnovením množstva plodovej vody. Rovnako sme nezaznamenali zápalové komplikácie u pacientok po výkone ani po pôrode resp. aborte (chorioamnionitída, endometritída). Maged a spolupracovníci v randomizovanej kontrolnej štúdií porovnávali bezpečnosť a terapeutický účinok AP u 50 žien s sPPROM od 24 do 34 gestačného týždňa. Kompletný uzáver amniálneho defektu pozorovali u 6 žien (12%) a obnovenie objemu plodovej vody u 22 (44%) s mediánovou hodnotou LP 6,054 týždňa (42 dní). V AP skupine zaznamenali pôrod 21 živých novorodencov (21/50 – 42%), pričom jeden novorodenec exitoval pred prepustením (20/50 – 40%). U 2 pacientok po AP bol zaznamenaný rozvoj chorioamnionitídy (2/50 - 4%) (10). Sung a spolupracovníci publikovali komparatívnu štúdiu 28 pacientiek s previablem PPRM, ktorá zahŕňala 17 prípadov sPPROM a 11 prípadov iPPROM. V skupine sPPROM bol kompletný uzáver amniálneho defektu pozorovaný v 2 prípadoch (11,76%). Mediánová hodnota LP predstavovala 25,5 dní, 2 pacientky žiadali u ukončenie tehotnosti (11,76%), 1 plod odumrel in utero (5,88%), 4 plody boli mŕtvorodené (23,52%) a 9 plodov bolo živorodených a prežilo až do prepustenia z nemocničného zariadenia. Znamky klinickej alebo histopatologickej verifikovanej chorioamnionitídy boli preukázané u 10 pacientok (58,82%) (11). Kwak a spolupracovníci publikovali aplikáciu AP u 7 pacientiek s diagnózou sPPROM pred 24 gestačným týždňom.

Kompletný uzáver defektu bol pozorovaný u 1 pacientky (14,3%). Mediánová hodnota LP bola stanovená na 5,1 týždňa (36 dní), 1 plod intrauterinne odumrel (14,3%), 5 plodov bolo živonarodených (71,42%) z toho 1 exitoval (14,3%) a 4 prežili do prepustenia (57,14%) (12). Vo väčšine vyššie uvedených štúdií bolo za úspech AP pokladané zastavenie odtoku plodovej vody s trvalou obnovou jej objemu. Tento fenomén sa v publikovaných prácach objavuje s rôznou frekvenciou. Ak sa aj daný jav vyskytne, je podľa vyššie citovaných prác asociovaný s dlhšou LP, vyššou pôrodnou hmotnosťou a nižšou mierou perinatálnej mortality. Skutočnosť, prečo sa daný jav v našom súbore nevyskytol, je ťažko interpretovateľný. Podľa práce Sunga a kolektívu **je najvýznamnejší prediktorom úspechu AP množstvo plodovej vody pred výkonom (11)**. V našom súbore sme kvantitatívne množstvo plodovej vody nehodnotili, nakoľko sa jedná o retrospektívnu štúdiu, kde sme nemali dopredu stanovenú jednotnú metodiku merania. Celý náš súbor predstavovalo 53 pacientok s anhydramnionom, v čom môžeme vidieť možnú príčinu, prečo ani v jednom prípade nedošlo k trvalému, kompletnému obnoveniu objemu plodovej vody. V porovnaní s vyššie citovanými prácami náš súbor disponoval najvyššou hodnotou LP. Tento fenomén možno vysvetliť skutočnosťou, že v našom súbore na rozdiel s uvedenými prácami sa vo všetkých prípadoch jednalo o previable odtok plodovej vody, pričom je známa skutočnosť, že **dĺžka LP je nepriamo úmerná gestačnému týždňu, v ktorom došlo k PPRM (14)**. Nízky výskyt infekčných komplikácií u plodov aj matiek v našom súbore a vo väčšine citovaných prác je možné vysvetliť možným **antiinfekčným, imunomodulačným účinkom AP (15)**.

Výsledky v našom AP súbore (n=53) sme porovnali s výsledkami z kontrolnej skupiny pacientok z metaanalýzy 18 štúdií sPPROM manažovaných konzervatívne (n=1428), pričom sme porovnávali 3 základné parametre: 1. Survival rate to discharge (SR to discharge), 2. Mortality rate after delivery (MR after delivery), 3. Latency period sPPROM – Pôrod/potrat. (LP) (vid'. Tabuľka č. 3).

Tabuľka č. 3: Porovnanie výsledkov AP súboru (n=53) z II. gynekologicko-pôrodnickej kliniky LFUK a UNB v Bratislave s výsledkami expektačne manažovanej kontrolnej skupiny (n=1428)

<i>Súbor</i>	<i>LP</i>	<i>sPPROM – SR to discharge</i>	<i>MR after delivery</i>
	<i>pôrod/potrat</i>		
<i>II gynekologicko-pôrodná klinika</i>	48	35/53 (60,03%)	3/35 (8,57%)
<i>Meta-analýza (13)</i>	18	592/1428 (41,45%)	331/589 (56,19%)

sPPROM – spontánny, predčasný, predtermínový odtok plodovej vody, LP – Latency period, SR – survival rate, MR – mortality rate

Pri porovnávaní **SR to discharge** – (AP súbor 35/53 – 60,03% vs. Meta-analýza 592/1428 – 41,45%) sme použili modifikáciu kvadrátového chí testu - Fisherov exaktný test – **p hodnota: 0,005; OR: 2,2191; 95% CI: 1,271 – 3,873.**

Pri porovnávaní **MR after delivery** – (AP súbor 3/35 – 8,57% vs. Meta-analýza 331/589 – 56,19%) sme použili modifikáciu kvadrátového chí testu - Fisherov exaktný test – **p hodnota: 0,0019; OR: 0,1525; 95% CI: 0,0466 – 0,4997.**

Pri porovnávaní **LP** – (AP súbor (Med.)= 48 dní vs. Meta-analýza (Med.)=18 dní) sme vzhľadom na charakter dát v oboch súboroch použili neparametrické testy – Sign Test – Testovanie pre Med. 48 - **z- hodnota: 2,23607; p hodnota: 0,02535.** (608 slov)

Z porovnaní oboch terapeutických prístupov vyplýva, že AP významne zlepšuje perinatálne výsledky v zmysle signifikantne vyššieho prežívania plodov z gravidít s previabilným sPPROM oproti expektačnému prístupu. **V AP súbore je štatisticky významne vyššia SR after discharge ako aj LP. Zároveň je štatisticky významne znížená MR after delivery oproti kontrolnej skupine, čo možno vysvetliť „selektívnym“ pôsobením AP ako invazívneho výkonu. Tento výkon môže vo zvýšenej miere „vyselektovať“ tehotnosti, ktoré sú prognosticky „negatívne“(nepriaznivé) a „prispiet“ k ich ukončeniu ešte v previabilnom období.**

Prostredníctvom vyššie uvedených faktov sme preukázali, že AP môže predstavovať vhodnú terapeutickú alternatívu v prípade pacientok s previabilným sPPROM, ktoré si želajú aktívny prístup k takto závažne komplikovanej tehotnosti.

Zoznam použitej literatúry

1. American College of Obstetricians and Gynecologists: ACOG Practice Bulletin No. 139: Premature Rupture of Membranes. Washington, DC: ACOG, 2013 [Review]
2. Canavan TP, Simhan HN, Caritis S: An evidence-based approach to the evaluation and treatment of premature rupture of membranes: Part I. Obstet Gynecol Surv. 2004;59:669-677. [Review]

3. Lucovnik M, Bregar AT, Steblovnik L, Verdenik I, Gersak K, Blickstein I, Tul N: Changes in incidence of iatrogenic and spontaneous preterm births over time: a population-based study. *J Perinat Med*. 2016 Jul 1;44(5):505-9.
4. Simhan HN, Canavan TP: Preterm premature rupture of membranes: diagnosis, evaluation and management strategies. *BJOG* 2005; 112 Suppl 1: 32-37.
5. Mariona FG, Cabero L: Are we ready for a new look at the diagnosis of premature rupture of membranes? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25(4): 403-407
6. Musilova I, Kutova R, Pliskova L, Stepan M, Menon R, Jacobsson B, et al.: Intraamniotic Inflammation in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS One* 2015; 10(7): e0133929.
7. Ellestad SC, Swamy GK, Sinclair T, James AH, Heine RP, Murtha AP: Preterm premature rupture of membrane management-inpatient versus outpatient: a retrospective review. *Am J Perinatol* 2008; 25(1): 69-73.
8. Ferianec V, Krizko M Jr, Papcun P, Svitekova K, Cizmar B, Holly I, Holoman K: Amniopatch - possibility of successful treatment of spontaneous previable rupture of membranes in the second trimester of pregnancy by transabdominal intraamniotic application of platelets and cryoprecipitate. *Neuro Endocrinol Lett*. 2011;32(4):449-52.
9. Crowley AE, Grivell RM, Dodd JM. Sealing procedures for preterm prelabour rupture of membranes. *Cochrane Database Syst Rev*. Review. 2016;7: CD010218.
10. Ahmed M. Maged, Hany H. Kamel, Ahmad S. Sanad, Ahmad E. Mahram, Ameer A. AbdAllah, Reham Elkhateeb, Haitham A. Bhaa, Eman A. Hussein, Aimy Essam & Safaa Ibrahim (2019): The value of amniopatch in pregnancies associated with spontaneous preterm premature rupture of fetal membranes: a randomized controlled trial, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, DOI: 10.1080/14767058.2019.1605348
11. Sung JH, Kuk JY, Cha HH, et al. Amniopatch treatment for preterm premature rupture of membranes before 23 weeks' gestation and factors associated with its success. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2017; 56: 599- 605.
12. Kwak HM, Choi HJ, Cha HH, et al. Amniopatch treatment for spontaneous previable, preterm premature rupture of membranes associated or not with incompetent cervix. *Fetal Diagn Ther*. 2013;33(1):47-54.
13. Farhana Mukhtar, Afshan B. Hameed, Sheldon Greenfield and John Billimek (2018) Perinatal Outcomes of Pre-viable Preterm Premature Rupture of Membranes. *J Gyn Obs Bul* 2(1): 1-11. doi: <https://doi.org/10.24218/jgob.2018.08>

14. Mercer BM, Arheart KL. Antimicrobial therapy in expectant management of preterm premature rupture of the membranes. *Lancet*. 1995;346(8985):1271–1279.
15. Fabbro MD, Bortolin M, Taschieri S, Ceci C, Weinstein RL: Antimicrobial properties of platelet-rich preparations. A systematic review of the current pre-clinical evidence. *Platelets*. 2016 Jun;27(4):276-85.