

**Erken ve Miadında Doğumda Fetal Zarın Kalınlık Ölçümü: İn-vitro Biyomedikal Mühendislik Yaklaşımı****A Biomedical Engineering Approach In Measurement of Term And Preterm Delivery Fetal Membrane Thickness**

Hakan OFLAZ

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Biyomekanik A.B.D., İzmir, Türkiye

**ÖZ**

**Amaç:** Erken doğum perinatal hastalık ve ölümlere sebep olabilmektedir fakat etyolojisi henüz çok iyi anlaşılmamıştır. Erken doğuma birçok etken sebep olmakta fakat hangi etkenin ne kadar etkilediği net olarak bilinmemektedir. Her bir etkenin araştırılıp erken doğuma etkileri araştırılmalıdır. Fetal zarın biyomekanik özellikleri önemlidir, çünkü gebelik süresi boyunca zar üzerinde oluşabilecek mekanik hasarlar amniyon sıvısının dışarıya akmasına ve doğum sürecinin erken başlamasına sebep olabilmektedir. Bu sebeple fetal zarın sertlik, mukavemet ve kalınlık özellikleri, erken membran rüptürünün etyolojisini ortaya koymada önemlidir. Bu çalışmanın amacı fetusu saran fetal zarın kalınlığının biyomedikal mühendisliği yaklaşımı ile nasıl ölçülebileceğini tartışmak ve yapılan farklı ölçümleri değerlendirmektir.

**Gereç ve Yöntemler:** Temassız lazer deplasman ölçer ile tasarlanan in-vitro test düzeneğinde iki miad ve iki erken doğuma ait olacak şekilde toplam dört fetal zardan elde edilmiş 24 test numunesi üzerinde kalınlık ölçümleri yapıp gruplanmıştır.

**Bulgular:** Elde edilen sonuçlara göre miadında doğuma ait ortalama fetal zar kalınlığının  $0,364 \pm 0,044$ mm (n=13) ve erken doğuma ait ortalama fetal zar kalınlığının  $0,268 \pm 0,057$ mm (n=11) olduğu gözlemlenmiştir. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,002, Mann-Whitney Test).

**Sonuç:** Sonuç olarak, temassız lazer deplasman ölçer yardımı ile tasarlanan in-vitro test düzeneğinde yapılan ölçümlere göre, miadında doğum yapan kadınların fetal zarı erken doğum yapan kadınlara göre anlamlı olarak kalın bulunmuştur. Fakat ölçüm yapılacak fetal zar sayısının artırılarak ölçümlerin tekrar edilip istatistiksel olarak daha güvenilir sonuçların alınması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yumuşak doku biyomekaniği, fetal zar kalınlık ölçümü, fetal zar, erken doğum, medikal lazer uygulamaları

**ABSTRACT**

**Aim:** Preterm births are one of the most frequent causes of mortality during or after birth however, its etiology is not fully understood. There are many reasons that cause preterm birth, but their individual effects are unknown. Each reasons have to be observed saperately. Biomechanical features of fetal membranes are so important, because any fe ailure on fetal membranes may cause premature rupture, which causes the release of amniotic fluid initiating pre-term birth. Biomechanical features as stiffness and thickness should be observed to assign relationship between preterm delivery. Aim of the current study is to introduce a new experimental in-vitro thickness measurement system design and evaluate thickness results of fetal membranes.

**Material and Methods:** 24 pieces that are obtained from four fetal membranes, two normal term and two pre-term, were examined with non contact laser displacement sensor and their thickness were discussed.

**Results:** The average thickness of normal term and pre-term were measured as  $0,364 \pm 0,044$ mm (n=13) and  $0,268 \pm 0,057$ mm (n=11), respectively. Differences were statistically significant (p=0,002, Mann-Whitney).

**Conclusion:** As a result, the thickness of normal term fetal membranes were found thicker than pre-term fetal membranes with the experimental in-vitro measurement system. However, number of measurements should be increased on feature researchers to evaluate differences better in significant way.

**Keywords:** Soft tissue biomechanics, thickness measurement of fetal membrane, fetal membrane, pre-term labour, medical laser applications

Yazışma Adresi/ Correspondence Address:

Hakan OFLAZ

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi,

Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Biyomekanik Ana Bilim Dalı, 35620 Çiğli, İzmir / Türkiye

Tel/Phone: +90 232 329 35 35 / 3721

E-mail:hakanoflaz@gmail.com

Geliş tarihi: 02/06/2016

Kabul tarihi: 30/06/2016

Dijital baskı/online print: 01/09/2016

## Giriş

Gebelik yaklaşık son adet kanamasının ilk gününden yapılan hesaba göre 40 haftayı bulan bir süredir(1). Miadında bir doğum 37. hafta ve sonrasında gerçekleşir ve en fazla 42 veya 43 haftaya kadar izin verilir (1). Fakat bazı durumlarda 37 haftalık süreye ulaşılmadan da doğumlar olabilmektedir. Otuzüç haftadan önce gerçekleşen doğumlara erken doğum denir (1, 2). Erken doğum istenilen bir durum değildir, çünkü fetusun gelişiminde eksik kalan durumlar olabilmekte ve bu da çeşitli komplikasyonlara sebep olabilmektedir (1). Ayrıca doğum esnasında veya doğumdan sonra erken doğum, en sık görülen mortalite sebeplerinden bir tanesidir (3). Erken doğum ile sonuçlanan vakaların %15'i servikal yetmezlik, kanama, fetal anomaliler, plasenta ayrışması ve diğer düzensizliklerden kaynaklanmaktadır. Fakat erken doğum vakalarının %85'i bilinen veya görünen herhangi bir sebep olmaksızın gelişmektedir ve dolayısıyla erken doğumun etiolojisi henüz net bilinmemektedir (2).

Erken doğuma sebep olan etkenler araştırılmaktadır ve erken doğuma sebep olan her türlü etken çeşitli araştırmalara konu olmaktadır. Özellikle erken doğuma sebep olan mekanik etkenler çeşitli biyomedikal projelere konu olmaktadır. Örneğin fetusu saran fetal zarın mekanik özellikleri bu konuda önem arz etmektedir, dolayısıyla üzerine çeşitli araştırmalar yapılmaktadır (2, 4).

Fetal zar fetusu doğuma kadar sarmakta ve amniyon sıvısını içermektedir. Fetal zarın herhangi bir mekanik etki ile hasar görmesi içindeki amniyon sıvısının dışarıya çıkmasına ve doğum sürecinin başlamasına sebep olabilmektedir (2, 5, 6). Dolayısıyla fetal zar fetusu dış etkenlerden ve mekanik kuvvetlerden koruma görevi görerek doğumun normal zamanda meydana gelmesinde büyük rol oynamaktadır (5, 7, 8). Birçok araştırmada fetal zar için geliştirilmiş özel deneysel düzenekler üzerinde zarın mukavemeti, zarı oluşturan katmanların özellikleri ve çeşitli biyomekanik özellikler çalışılmıştır (2, 5, 7, 8).

Örneğin Lavery ve arkadaşlarının yapmış olduğu araştırmalarda fetal zar üzerine çeşitli gerilme kuvvetlerinin uygulanabileceği test düzeneği geliştirilmiş olup fetal zarın gerilim dayanımları üzerine çıkarımlarda bulunulmuştur (9-11). Buldukları sonuçlara göre fetal zarlar üzerinden alınan örneklerinin lokasyonları gerilme dayanımlarını etkilediği ve erken yırtılma gösteren zar örneklerinde yırtığa yakın bölgelerin dayanımlarının çok zayıf olduğu yondedir (9-11). Bunun gibi fetal zarın mekanik özellikleri üzerine yapılan araştırmalar konuya zenginlik ve başka bir bakış açısı kazandırmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, temassız lazer deplasman ölçer yardımı ile tasarlanan in-vitro fetal zar kalınlık ölçer test düzeneğinde, miadında doğuma ait zarlar ile erken doğuma ait zarların kalınlık ölçümlerinin karşılaştırmasını yapmaktır.

## Gereç ve Yöntemler

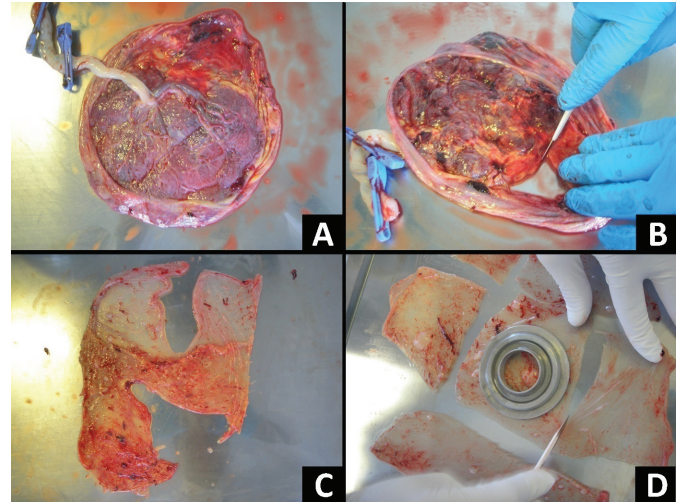
### 2.1 Fetal Zarların Toplanması:

İki adet miadında normal doğum (>37 hafta) ile 2 adet erken doğum (<37 hafta) olmak üzere toplamda 4 adet fetal zar bu çalışma için toplandı. Gebeler 30 ile 35 yaş aralığında rastgele bir şekilde seçildi. Seçilen gebeler HIV, hepatit B, C virüsleri, streptokok enfeksiyonu, Rubella ve Toksoplazma açısından negatif olmasına dikkat edildi. Seçilen gebelerin diyabet öyküsünün olmaması, hipertansiyon ve bağ dokusu rahatsızlıklarına sahip olmayışı da rapor edildi. Bu kriterler altında seçilmiş gebelerin doğurmaları sonrası elde edilen plasenta ve fetal zarlar aynı gün numune hazırlığı ve testler yapılmaya kadar 4 °C ortamda saklandı.

### 2.2 Test Numunelerinin Hazırlanması:

Gebe bayanların doğum sonrasında Köln Üniversitesi, tıp fakültesi, jinekoloji anabilim dalına ait cerrahi salonlarından elde edilen plasenta ve fetal zarlar (Şekil 1A) Aachen Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Biyomühendislik Enstitüsüne ait Biyomedikal laboratuvarlarına getirildi. Alman hükümeti tarafından fonlanmış ve etik izni alınmış bir araştırma projesi için (ZIM, Almanya) toplanan bu zarlardan proje için kullanılmayacak fazlalık olan artık plasenta ve fetal zarlardan 4 tanesi mevcut çalışma için kullanılmıştır. Çalışma öncesi plasenta ve fetal zar birbirinden ayrılarak sadece zar elde edilmiştir (Şekil 1B). Elde edilen amniyon ve koryon zarlarını içeren fetal zar tuzlu izotonik solüsyon (0.9% NaCl) ile yıkanarak zar üzerindeki kan ve pıhtılar temizlenmiştir. Daha sonra yuvarlak formdaki zar 2 uç noktasından kesilerek düzlemsel hale yani örnek numune planlaması yapılabilecek şekle getirilmiştir (Şekil 1C). Daha sonra, ölçümlerin yapılacağı test haznesine rahat bir şekilde sığacak boyutlarda bütün zar üzerinde haritalama yapılmış olup küçük test numuneleri kesilerek elde edilmiştir (Şekil 1D). Sonuç olarak komple fetal zar, ölçümlerin yapılabileceği boyutlarda test numunelerine ayrılmış olup, zar üzerindeki incelmış, amniyon-koryon ayrışmasının başladığı ve yırtık oluşmuş bölgeler ölçüm sonuçlarını yanlış etkilememesi için hiç işlem yapılmadan direkt atılmıştır. İki adet miadında normal doğuma ait fetal zardan toplamda 13 adet test numunesi, 2 adet erken doğuma ait fetal zardan ise 11 adet test numunesi olacak şekilde toplamda 24 adet test numunesi elde edilmiştir.

**Şekil 1:** Fetal zarın haritalama yöntemi ile test numunelerine ayrıştırılması.

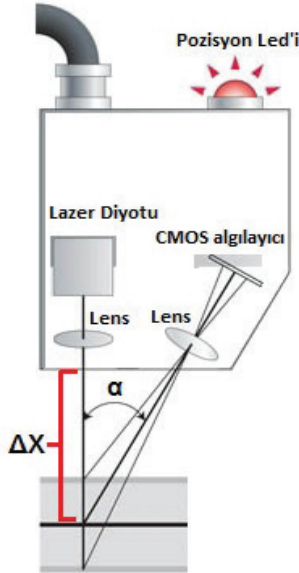


### 2.3 Lazer Kaynaklı Fetal Zar Kalınlık Ölçüm Sistemi:

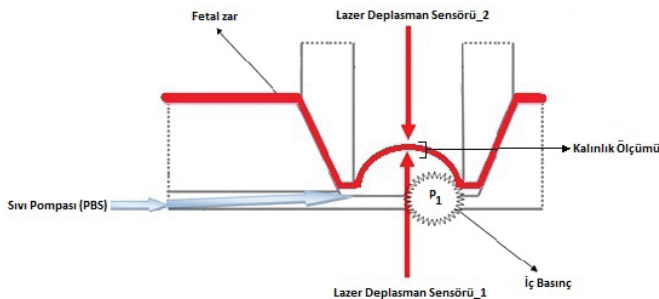
Optik teknolojinin ölçüm esnasında güvenilir sonuçlar veriyor olması, onu medikal alanda çok önemli yerlere taşımaktadır. Mesafe ölçümünde lazer üçgen ölçüm mantığı, açısal ölçüm tekniğine dayanmakta ve medikal cihazlarda çok sık karşımıza çıkmaktadır. Bir lazer kaynağından çıkan lazer ışını mesafe ölçümü yapılacak objenin üzerine düşürülürken objeden yansıyan ışınlar algılayıcı tarafından belli açıda algılanır ve bu açısal bilgiden objenin sensöre olan mesafesi pisagor üçgen bağıntısı ve trigonometrik hesaplar üzerinden hesaplanır (Şekil 2). Bu çalışma için oluşturulan deneysel düzenekte iki ayrı lazer mesafe ölçer sensörü (Keyence, LK-G 32, Japonya) kullanılarak bir tasarım yapılmıştır. İki lazer mesafe ölçer sensörü karşılıklı gelecek şekilde yerleştirilmiş olup aralarına da daha önceden hazırlanmış fetal zarların fikse edilebileceği ve kapalı bir ortam oluşturulabileceği bir bölme tasarımı yapılmıştır. Bu bölmeye fetal zarın yerleştirilip sabitlenmesi ve sonrasında da sıvı pompası ile serum fizyolojik

sıvısının basılması ile 3 kPa iç basınca sahip bir zar elde edilmiştir ki bu iç basınç değeri Braxton-Hicks kasılmalarında fetal zarın çıktığı 2,66-2,99 kPa gerilim değerleri arasında kalan bir değerdir (6, 12). Sistemin iç basınç değeri bir basınç sensörüne (Keyence, AP-C40W, Japonya) bağlı sıvı pompası ile sabit tutulmakta idi. 3 kPa iç basınca sahip olacak şekilde şişirilmiş ve sabitlenmiş fetal zar karşılıklı olarak fetal zarın hem üstünden hem de kınılma indeksi 1 olan cam pencere karşısından gören diğer lazer sensör ile altından mesafe ölçümü yapılarak fetal zarın kalınlık hesabı yapılmıştır (Şekil 3).

Şekil 2: Temassız lazer deplasman ölçüm sensörünün çalışma prensibi



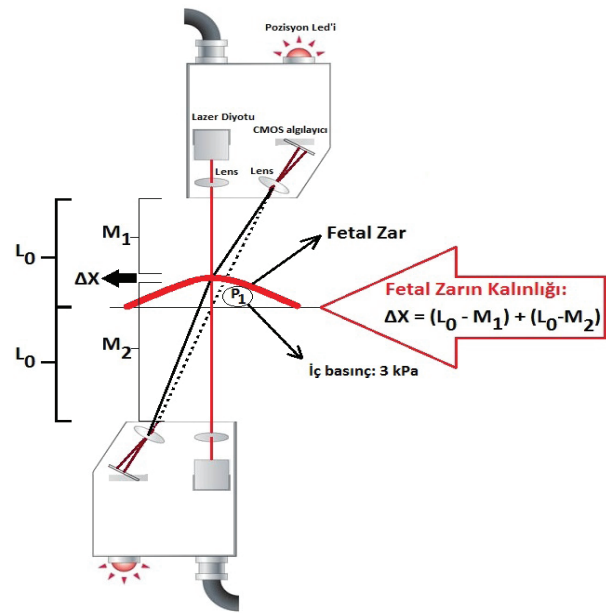
Şekil 3: Deneysel in-vitro fetal zar kalınlık ölçüm sisteminin tasarımı



#### 2.4 Deneysel Yöntem:

Şekil 3'te görüldüğü üzere ölçümlerin yapılabileceği deneysel yeni bir test cihazı tasarlanmış ve üretilmiştir. Karşılıklı konumlanmış iki lazer mesafe ölçerinin arasında daha önceden hazırlanmış fetal zarın sabitlenip 3kPa iç basınç değerine sahip olacak şekilde serum fizyolojik solüsyonu ile şişirilmesi ile deneysel yöntem tamamlanmaktadır. Lazer sensörlerin ilk başlangıç pozisyonuna göre mesafe ölçümü ( $L_0$ ) ve fetal zar yerleştirilip şişirildikten sonraki mesafe ölçümleri ( $M_1$  ve  $M_2$ ) aralarındaki farkın toplamı fetal zarın kalınlığını ( $\Delta X$ ) vermektedir (Şekil 4). Bu ölçüm yöntemine göre normal ve erken doğum şeklinde iki ayrı grupta hazırlanmış olan toplamda 24 adet fetal zar örneklerinin ayrı ayrı kalınlık ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler esnasında elde edilen veriler veri toplama ünitesi (NI-USB 6008 Daq-Pad, NI, USA) aracılığı ile labview yazılımına (Labview 2010, NI, USA) aktarılmış olup bu çalışma için özel oluşturulmuş program ile değerlendirilip kalınlık okuması yapılmıştır.

Şekil 4: Fetal zarın kalınlık ölçüm hesabı.



#### 2.5 İstatistiksel Yöntem:

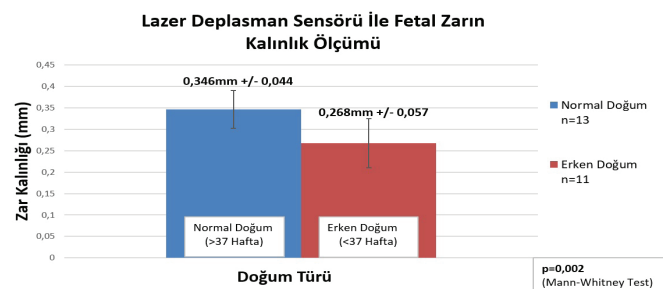
Çalışmanın istatistiksel analizi Sigma Plot, Versiyon 11,0 (for Windows, Systat Software Inc., CA, USA) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, normal doğuma ve erken doğuma ait fetal zar örneklerinden elde edilen sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak karşılaştırılması non-parametrik Mann-Whitney Rank Sum test yöntemi ile yapılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir farkın olup olmadığı "p" değerinin " $<0,01$ " olma durumuna göre yorumlanmıştır.

#### Bulgular

Çalışmadan elde edilen sonuçlar miadında normal doğum ( $>37$  hafta sonrası) ve erken doğum ( $<37$  hafta öncesi) elde edilen fetal zarlar olmak üzere iki ana grup altında toplanmıştır. Normal doğuma ait toplam 13 adet ve erken doğuma ait toplam 11 adet toplamda 24 adet deneysel numuneler, çalışmanın önceki kısımlarında anlatılan deneysel cihaz üzerinde, ayrı ayrı zar kalınlık ölçümüne tabi tutulmuştur.

Grafik 1 elde edilen sonuçların gruplara göre ayrılmış ortalama sütun bar grafiğini göstermektedir. Normal doğuma ait 13 ölçüm numunesi üzerinden elde edilen zar kalınlık verilerine göre ortalama zar kalınlığı  $0,346 \pm 0,044$  mm, erken doğuma ait 11 ölçüm numunesi üzerinden elde edilen zar kalınlık verilerine göre ortalama zar kalınlığı  $0,268 \pm 0,057$  mm olarak gözlemlenmiştir. Her iki gruba ait numunelerden elde edilen zar kalınlık değerleri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p=0,002$ ) saptanmıştır.

Grafik 1: Normal ve erken doğumlara ait fetal zarların kalınlık değerleri açısından karşılaştırılması.



## Tartışma

Fetal zarların fizyolojik ve biyomekanik özellikleri gebe sağlığı ve doğum güvenliği için çok önemlidir (8). Özellikle erken dönem membran rüptürü tanısı için yapılan bu araştırmalar da eğer zar mekaniği ile ilgili bir şeyin erken doğuma veya erken dönem zar yırtılmasına etkileri bulunacak olursa, bulunan etkinin in-vivo nasıl ölçülebileceği ile ilgili klinik cihaz araştırmaları beraberinde gelir (8). Dolayısıyla araştırmalar her zaman in-vitro ortamda test düzeneği geliştirerek etkilerin laboratuvar ortamında araştırılması ile başlar ve bulunan sebep sonuç ilişkisinin kliniğe ve hatta in-vivo ölçümlere nasıl aktarılacağı ile ilgili Ar-Ge çalışmaları ile de devam eder.

Literatürde fetal zarların biyomekanik özelliklerinin araştırıldığı ve tartışıldığı birçok değerli çalışma mevcuttur. Örneğin, Moore ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada fetal zarlar mukavemet açısından incelenmiş olup, elde edilen fetal zar örnekleri geliştirdikleri in-vitro deneysel düzenek yardımı ile patlatılıp patlama basınçları kaydedilmiştir (6). Kaydedilen basınç değerleri üzerinden farklı doğum türlerine ait fetal zarlar karşılaştırılmıştır. Ayrıca bir başka çalışmada da yapılan biyomekanik incelemeler sonrası amniyon ve koryon zarlarının birbirlerini desteklediği ve herhangi bir iç basınç artışında önce koryon zarının yırtıldığını daha sonra amniyon zarının patladığı gözlemlenmiş (9-11).

Fetal zarın bir başka biyomekanik özelliklerinden birisi de kalınlıktır. Mevcut çalışmada fetal zarların kalınlıkları çalışılmış olup kalınlık ölçümü için özel tasarlanıp üretilmiş olan test düzeneğinde in-vitro olarak incelenmiştir. Daha önceden literatürde tarif edilmiş olan fetal zar üzerinde haritalama yöntemi ile test numuneleri elde edilmiştir (2, 13). İki ana gruba sahip çalışma da her bir grup için ikişer adet fetal zar elde edilmiş ve normal doğuma ait toplam 13 adet ve erken doğuma ait toplam 11 adet test numunesi elde edilmiştir. Literatürde daha önceki yapılan fetal zarın kalınlık ölçümü ile ilgili araştırmalarda amniyon-koryon zarının ayrışması üzerine yoğunlaşmış olup, fetal zarın katmanları ayrı ayrı değişik tekniklerle ölçülüp saptanmıştır (2, 8, 14-16). Bu çalışmalarda fetal zarı oluşturan temel iki ayrı katman olan amniyon ve koryon zarları karşılaştırılmış ve koryon zarının amniyon zarından daha kalın olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda amniyon-koryon ayrışması ve fetal zar da erken dönem yırtıklarının sebepleri üzerine incelemeler yapılmıştır. Bulunan sonuçların bilime kazandırılması ve sonuçlar üzerinden biyomedikal teknoloji kullanılarak tanı cihazı geliştirilmesi çeşitli Ar-Ge faaliyetleri olarak nitelenebilir. Yapılmış olan mevcut çalışmada da kalınlık ölçümü yapılmıştır ve elde edilen kalınlık sonuçlarının erken doğum ile bir bağlantısının olup olmadığı karşılaştırılmalı olarak gözlemlenmiştir. Normal doğuma ait fetal zarların daha kalın çıkması, erken doğuma ait fetal zarlardan ayrışmasına sebep olmuştur. Fakat toplamda 4 fetal zar ve 24 test numunesi üzerinden yapılan çalışma daha fazla veri elde edilmesi için tekrarlanmalıdır. Böylece istatistiksel olarak daha da kuvvetlenecek çalışma belki o zaman daha net sonuçları ortaya koyabilecektir. Fakat şu halde mevcut çalışma ile fetal zarların kalınlık ölçümlerinin temassız lazer deplasman ölçer sensörlerle yapılabileceği gösterilmiş olup, normal doğuma ait zarların da daha kalın olduğu gözlemlenmiştir.

## Sonuç

Sonuç olarak, temassız lazer deplasman ölçer yardımı ile tasarlanan in-vitro test düzeneğinde, miadında normal doğum yapan kadınların fetal zarı erken doğum yapan kadınlara göre anlamlı olarak kalın bulunmuştur. İn-vivo olarak fetal zarın kalınlık ölçümünün nasıl yapılacağı ve bunun klinik önemini ortaya koyan ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

## Teşekkür

Bu çalışmada fetal zarların temininde desteklerini esirgemeyen Dr. Markus VALTER'a (Köln Üniversite Hastanesi, Jinekoloji A.B.D.), deneylerin gerçek-

leştirilmesinde laboratuvar olanaklarını sunan Dr. Ayşegül ARTMANN ve Dr. Gerhard ARTMANN'a (Aachen Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Hücre Biyofiziği Laboratuvarları) ve HGO Medikal A.Ş.'ye (www.hgomedikal.com.tr) teşekkürlerimi sunarım.

## Kaynaklar

1. Alger LS, Pupkin MJ. Etiology of preterm premature rupture of the membranes. *Clin Obstet Gynecol.* 1986;29:758-70.
2. Micili SC, Valter M, Oflaz H, Ozogul C, Linder P, Fockler N, et al. Optical coherence tomography: a potential tool to predict premature rupture of fetal membranes. *Proc Inst Mech Eng H.* 2013;227:393-401.
3. Gratacos E, Sanin-Blair J, Lewi L, Toran N, Verbist G, Cabero L, et al. A histological study of fetoscopic membrane defects to document membrane healing. *Placenta.* 2006;27:452-6.
4. Holanda MR, Melo AN. Comparative clinical study of preterm and full-term newborn neonatal seizures. *Arq Neuropsiquiatr.* 2006;64:45-50.
5. 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;144:121-7.
6. Moore RM, Mansour JM, Redline RW, Mercer BM, Moore JJ. The physiology of fetal membrane rupture: insight gained from the determination of physical properties. *Placenta.* 2006;27:1037-51.
7. Faturechi R, Hashemi A, Fatourae N. Do mechanical properties of human fetal membrane depend on strain rate? *J Obstet Gynaecol Res.* 2015;41:84-91.
8. Oyen ML, Cook RF, Calvin SE. Mechanical failure of human fetal membrane tissues. *J Mater Sci Mater Med.* 2004;15:651-8.
9. Lavery JP, Miller CE. The viscoelastic nature of chorioamniotic membranes. *Obstet Gynecol.* 1977;50:467-72.
10. Lavery JP, Miller CE. Deformation and creep in the human chorioamniotic sac. *Am J Obstet Gynecol.* 1979;134:366-75.
11. Lavery JP, Miller CE, Knight RD. The effect of labor on the rheologic response of chorioamniotic membranes. *Obstet Gynecol.* 1982;60:87-92.
12. Fisk NM, Ronderos-Dumit D, Tannirandorn Y, Nicolini U, Talbert D, Rodeck CH. Normal amniotic pressure throughout gestation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99:18-22.
13. Helmig R, Oxlund H, Petersen LK, Ulbjerg N. Different biomechanical properties of human fetal membranes obtained before and after delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1993;48:183-9.
14. Halaburt JT, Ulbjerg N, Helmig R, Ohlsson K. The concentration of collagen and the collagenolytic activity in the amnion and the chorion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1989;31:75-82.
15. Jabareen M, Mallik AS, Bilic G, Zisch AH, Mazza E. Relation between mechanical properties and microstructure of human fetal membranes: an attempt towards a quantitative analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;144 Suppl 1:S134-41.
16. Oxlund H, Helmig R, Halaburt JT, Ulbjerg N. Biomechanical analysis of human chorioamniotic membranes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1990;34:247-55.