

조기파수된 태아막의 초미세구조의 변화

계명대학교 의과대학 산부인과학교실·병리학교실*
이민용·조치홍·이정호·윤성도·권건영*

=Abstract=

Ultrastructural Changes in the Premature Ruptured Fetal Membranes

Min Yong Lee, M.D., Chi Heum Cho, M.D.,

Jung Ho Rhee, M.D., Sung Do Yoon, M.D., Kun Young Kwon, M.D.*

Department of Obstetrics and Gynecology, Pathology, Keimyung University School of Medicine,
Taegu, Korea*

Premature rupture of membranes(PROM) is the single most common diagnosis associated with premature delivery and neonatal complications requiring admission to a neonatal intensive care unit. But there remains no clear answer as to how the disease occurs.

Authors compared the ultrastructural findings of amniotic membranes of patients with gestation 36~40 wks PROM with those of uncomplicated term pregnancies. The results are as follows.

Transmission electron microscopic findings :

In uncomplicated group, surface amniotic epithelium showed regular, uniformed round shape with well developed microvilli and some secretory products in the cytoplasms. Intercellular junctions had uniform gaps and structures. Basement membranes were thin, stromas were loose and no fibroblast was seen. In PROM group, there were flattened surface amniotic epithelia with partly dimpling, destroyed and flattened changes.

Scanning electron microscopic findings :

In uncomplicated group, surface epithelium showed well structural arrangement, round to polygonal shape and intact intracellular junctions with well developed microvilli. In PROM group, there were flattened and/or depressed amniotic epithelia with multifocal loss of microvilli. Cellular shape and size were irregular, partly conglomerated and unorganized.

I. 서 론

조기파수(premature rupture of membranes, 이하 PROM)

는 조기분만을 유도하고 신생아에게 각종 합병증을 유발하므로 신생아가 집중 치료실에 입원하게 되는 동기증 가장 큰 단일원인이 되고 있다(Gar-

ite et al., 1987). 그러나 조기파수의 정의, 발생빈도, 원인, 합병증 및 치료에 대해서는 최근까지 산과 영역에서 해결되지 못한 채 논란의 대상이 되고 있다. 그중, 조기파수의 원인에 대해서는 여러가지 복합적인 요소가 관여하리라고 추측되고 있다(Alger & Pupkin, 1986). 저자들은 조기파수의 원인규명의 일부분으로 파수된 태아막 내에서 야기된 병변의 초미세구조의 형태학적 변화를 전자현미경으로 관찰하고 정상 태아막과 조기파수된 태아막을 상호 비교 분석하고자 한다.

II. 대상 및 방법

저자는 1994년 3월 4일부터 1994년 3월 10일까지 계명대학교 동산병원 산부인과 분만장에서 분만한 산모로부터 채취한 양막을 연구 재료로 사용하였다으며 이중 대조군은 제태기간 40주의 양막 4예를 선택하였고, 실험군은 제태기간 36주부터 40주까지 조기 양막파수후 분만까지 24시간 미만된 4명의 산모의 양막을 채취하여 사용하였다. 대조군과 실험군 모두 태반이 분만되는 즉시 양막을 무균적으로 분리하여 채취한 다음 투과전자현미경과 주사전자현미경적 관찰을 실시하였다.

1. 투과전자현미경적 관찰

투과전자현미경용으로 제공된 양막 조직을 1 mm^3 의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 1~4 °C에서 2시간 전고정을 하고 0.1 M 인산염 완충용액으로 세척한 후 1% OsO₄ 용액에 2시간 후고정을 한 뒤 같은 완충용액으로 세척하여 계열 에탄올로 털수하고 propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법(Luft, 1961)에 의한 epoxy 혼합물로 포매하여 37 °C에 12시간, 45 °C에 12시간, 60 °C에 48시간동안 열증합을 시켰다. 포매된 조직을 $1\mu\text{m}$ 두께로 박절한 후 toluidine blue 염색을 실시하여 관찰 부위를 선택한 다음, Sorvall MT-5000형 ultramicrotome에 Dupont diamond knife를 부착하여 회백색(40~60 nm)의 간접색을 나타내는 초박절편을 얻어 grid에 부착시킨 뒤 Watson 및 Reynolds(Watson, 1958; Reynolds, 1963) 방법에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 실시하여 Hitachi H-600형 투과전자현

미경으로 관찰하였다.

2. 주사전자현미경적 관찰

주사전자현미경용으로 제공된 양막조직표면을 생리식염수로 세척한 후 0.5% glutaraldehyde 용액과 0.5% paraformaldehyde 용액을 혼합한 고정액으로 2시간 전고정하였다. 그후 다시 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)로 세척한 후 $1\times 1\times 4\text{ mm}$ 정도의 크기로 자른후 1% OsO₄ 용액으로 2시간 동안 후고정을 하고 같은 완충용액으로 세척한 후 2% tannic acid에 12시간 침투시킨 다음 완충용액으로 세척하여 1% OsO₄ 용액으로 2시간 동안 전도염색을 실시한 다음 계열 에탄올로 털수를, isoamyl acetate로서 침투를 시켜 Hitachi HCP-2형 임계점 건조기(critical point dryer)로서 이산화탄소를 사용하여 임계점 건조를 하였다. 건조된 시료를 사료판에 부착한 후 Elko회사 IB-3형 ion coater로 Pt-Pd를 증착한 후 Hitachi S-520형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

III. 결 과

1. 투과전자현미경적 소견

정상군에서는 표면상피세포의 표면이 규칙적이고 일정하게 둥근형태를 보이면서 미세융모가 잘 발달되었다. 세포질내에는 다수의 둥근 분비성 생산물(secretory product)을 볼 수 있었다. 세포간 접합부(intercellular junction)에는 일정한 간격을 유지하면서 이웃 세포들이 서로 맞물려 있으며, 표면상피세포의 기저막은 얇고 기질(stroma)은 느슨하며 무정형의 물질(amorphous material)을 볼 수 있었고, 섬유아세포(fibroblast)는 없었다(Fig. 1, 2). 실험군에서 표면상피세포가 국소적으로 혹은 넓게 편평하게 되어 있으며 부분적으로 유착(adhesion)도 관찰되었다(Fig. 3). 세포간 접합부는 다양한 크기로 넓어져 있었으며 부종이 있었다(Fig. 4). 세포질내에는 세포소기관(organelle)의 변성이 있었고 표면의 요와 형성(dimpling)으로 불규칙 보이며 일부에서는 상피세포가 파괴된 곳도 있었으며 이 때 미세융모의 솟적감소와 파괴가 동반되었다(Fig. 4, 5). 표면상피세포의 배열에도 변화를 보였는데 일부는 이웃 세포가 위로 올라가서 중첩소견을 보이는 곳도 있었다.

& Main, 1991). 학자에 따라서 잠복기가 24시간 이상 경과한 경우를 지연된 조기파수(prolonged PROM)로 부르기도 한다(Johnson et al., 1981 ; Gibbs, 1982). PROM의 빈도는 37주 이상에서 약 10%, 37주 이전에서 2~3.5%를 나타내나 32주 이전의 PROM에서 주산기 사망율이 높다. 조기파수에 따른 모성 사망율은 1950년대 후반에서는 0.2%이던 것이 1980년대에 와서 0.03%로 감소하였다. PROM의 위험인자들은 예방내지 치료 가능한 것과 불가능한 것으로 대별할 수 있다. 먼저 가능한 인자들로는 자궁경관염증 및 질염, 자궁경관 무력증, 흡연, 산전진단술(CVS, amniocentesis), 성교, 미네랄 및 비타민 결핍, 내진등이 있고 불가능한 것으로 PROM 기왕력, 자궁경관 수술 기왕력, 질출혈, 태반의 이상(전치태반, 조기박리) 등이다(Russell & Anderson, 1962).

PROM의 확진에는 아직 신빙성 있는 척도가 없는 실정이다. 임상적으로 이용되고 있는 PROM의 진단방법은 (1) 병력과 내진소견 (2) 양수의 구성성분 분석 즉, 양수의 ferning, pH 검사(litmus, brom-thyol blue, nitrazine), diamine oxidase (3) 초음파 소견과 색소주입(Evans blue, sodium fluorescein, metylene blue, indigocarmine, pyridium) (4) 광학현미경적 소견과 세포진 검사(Lanugo, Sudan III, papanicolaou, acridine orange, vernix cell 확인) 등이 있다(Allen, 1991).

정상적인 분만과정에서는 분만 제 1기말 자궁경관이 8~9cm 개대될 때 자연적인 태아막의 파수가 일어난다. 그러나 일부의 산모에서 만삭이 되기전에 태아막의 파수가 일어나는 원인 및 그기전에 대해서는 아직 정확하게 밝혀져 있지않다.

지금까지 PROM 원인의 연구대상이 되어온 것은 감염, 산모의 영양과 흡연, 국소적인 태아막 손상, 선행된 생리학적 또는 해부학적 이상 등이며(Friedman & McFlin, 1969) 어느 단일인자가 혼자하게 작용한다고 보지 않는다. PROM의 원인을 규명하기 위해서 먼저 이해해야 할 부분은 PROM 발생시 태아막에서 일어나는 현상이다. 그러므로 태아막의 발생과 해부조직학적 특징과 태아막을 구성하고 있는 세포들의 생물학적 특성 및 이들 세포들이 외부에서 받는 자극에 대해서 어떻게 반응하는가를 아는 것이 중요하다(Polzin & Brady, 1991). 양막의 발생은 배

Fig. 9. Markedly flattened surface epithelial cells with loss of intercellular junctions are present. $\times 4,600$.

Fig. 10. The surface epithelial cells show conglomerated large cells with surface elevation or dimpling. $\times 3,900$.

현까지의 기간을 잠복기라 하는데 그 기간은 학자에 따라 1~12시간 등으로 다양하다(Averette et al., 1963 ; Atlay & Sutherst, 1970 ; Bercovici and Diamant, 1972 ; Bourgeois et al., 1988). 최근에는 잠복기를 0시간 또는 1시간으로 하는 경향이 있다(Main

아 외배엽(embryonic ectoderm)에서 유리되어 수정 7일째 신경줄(neural ridge) 표면을 단층으로 덮게 된다. 반면에 용모막은 배체 외벽 측판증배엽과 영양모세포에서 기원한다(Benirschke, 1990). 양막은 0.08~0.12 mm의 두께이나 복잡한 구조를 가지고 있다. 표면에는 불규칙적인 미세옹모를 가지고 있으며, 독특한 세포 사이의 연결구조는 태아막의 강도와 통합성 유지에 관계가 있다. 양막상피 세포 상호간에는 세포간 소관들이 미로를 형성하며, 세포 사이의 접합부에서 교소체간의 연결은 병원체에 대한 물리적 장벽을 형성할 뿐 아니라 자궁내암의 압력에 저항할 수 있게 한다. 양막세포 자체에는 사립체와 IgG체가 거의 없다. 양막 상피세포 하부는 type IV, V의 교원섬유로 구성된 기저막과 양막 상피세포의 podocytes와 서로 견고하게 부착되어 있다. Type V 교원질과 서로 섞이게 된다. 세포외기질은 type I, III 교원질층과 망상 원섬유, 섬유모세포 등으로 구성되며 혈관 및 신경조직은 관찰되지 않고 간혹 대식세포가 존재한다.

용모막은 0.04~0.4 mm 두께로 양막보다 약 4배 두껍다(Verbeek & Robertson, 1967 ; Azzarelli & Lafuse, 1987 ; Modesti et al., 1984). 용모막은 2~10층의 다각형 영양세포로 구성되어 있으며 용모기질이 모체자궁의 탈락막과 부착된다. 양막과 용모막은 세포외기질을 사이에 두고 서로 접근하고 있다. 용모막에서는 혈관들이 분포되어 있으며 무혈관성 양막에 대하여 확산방식으로 영양물질을 공급한다(Benirschke, 1990). 양막은 분자량 60,000 dalton 이상의 큰 분자에 대해서는 통과시키지 않는다. 태아막이 수동적 확산을 하는 물질은 전기적 중성인 지용성 물질, 산소, 전해질, 수분 등이고 능동적 수송 물질은 아미노산의 일부 iron, calcium, phosphorous 등이며 glucose는 촉진수송에 의하여 통과한다(Cunningham et al., 1989). 태아막을 약화시키는 기전은 다양하다(Kanayama et al., 1986), 교원질 분해효소인 trypsin은 임신말기 양수 속에서 그 농도가 증가하며, 그 natural inhibitor인 alpha-1-antitrypsin은 감소한다. 특히 type III 교원질은 양막의 탄력과 강도 유지에 크게 관여하므로 collagenase의 활성화는 PROM 진행에 중요한 역할을 한다. Trypsin과 collagenase 외에도 교원질 분해효소로 밝혀진 것은 ne-

모세포를 포함한 모든 세포에서 collagenase 활성과 prostaglandin 생산을 자극하여 PROM에 관여하는 것이 보고되었다(Dayer et al., 1985). 문헌상 정상 태아막과 조기파수된 태아막의 초미세 구조의 조직학적 소견과의 비교에 대한 논문은 비교적 희소하다. 최근 발표된 논문에서는 PROM시 나타나는 가장 현저한 변화를 양막의 해면층 수준에 있다고 하였다. 즉 PROM이 발생하면 교원질 섬유의 수효가 줄고, 과동하는 형태의 변화가 오며 이를 세포사이에 부정형 물질이 축적된다고 하였으나, 양막과 용모막의 세포내 구성물질은 현저한 변화가 오지 않는다고 하였다. 이 연구는 범위가 제한적이긴 하지만 이러한 초미세구조의 형태학적 변화는 PROM의 원인이라기보다 결과일 것으로 추측하였다(Bou-Resli et al., 1981). 양막의 세포구조와 태아막 속에 존재하는 교원질의 질과 양 모두 PROM에 관여한다는 논문들을 보면 Bou-Resli et al.(Bou-Resli et al., 1981; Hills and Cotton, 1984) 등은 PROM에의 초미세구조 소견에서 파열된 균접부위의 태아막 구조는 (1) 두께가 얇아지고 (2) 핵상부근 세포간의 canals들이 확장되며 분지가 생기고, (3) 용모세포층이 얇아지고, (4) 섬유모 세포와 해면층의 희소한 교원질 섬유를 가지며 조직구조가 흐트러진다고 하였다. Skinner 등은 PROM 태아막에서 교원질 함량이 현저히 감소한다고 하였다(Kanayama et al., 1985) 반대하는 입장에서는 교원질 함량이 감소보다 오히려 collagenolytic activity가 증가한다는 주장도 있다(Toppozada et al., 1970). Hills and Cotton 등은 태아막의 표면 에너지에 대하여 연구한 결과 PROM에서는 태아막의 고표면 에너지를 갖게 된다고 하며(Hills and Cotton, 1984), 저표면 에너지군(정상임신)에서는 태아막의 순상이 적다는 것이다. 이들은 임신 32주에 표면 에너지가 최고에 달한다고 하며 만삭에 가까워 을수록 감소하는데 이것은 추측컨데 표면 활성물질 생산에 기인하는 것이 아닌가 하고 있다. 양수내의 표면활성물질 태아막의 경계 윤활작용을 유도하여 표면에너지가 감소한다는 것이다. 태아막 직경 10cm 넓이에 파수² 유발시키려면 56~68 mmH₂O의 압력이 필요한 것으로 측정되어 이것은 분만 제 1기 말기에 자연파수가 일어나는 것을 설명해주고 있다(Embrey, 1954). 양막은 용모막의 1/3~1/4 두께에 불과하나 스트레스에 견디는 힘은 5배

강한 것으로 조사되었다(Polishuk et al., 1962). 조기파수된 양막의 초미세구조에 대한 논문은 비교적 희귀하다. 저자들이 투과형 전자현미경으로 관찰한 양막의 초미세구조의 변화를 보면 대조군에서는 표면 상피세포가 규칙적인 형태와 배열을 보이고 세포질 내에는 분비성 물질이 발견되었다. 투과전자현미경 관찰에서 보면 세포간의 접합부는 일정한 간격파 형태를 보여 주었으나 섬유모세포는 보이지 않았다. 실험군에서는 표면상피가 편평해지고 부분적 유착, 세포간 접합부의 간격이 넓어지고 부종이 동반되었다. 세포질의 소기관들이 변성되어 있었고 표면이 불규칙하게 소실 또는 파괴되어 있었으며 미세용모도 파괴되었다. 기저막은 두꺼워졌으며 세포질의 분비성 물질은 증가와 감소의 혼합 양상을 보였다. 간질에는 무정형 물질 증가와 섬유모세포의 증가가 있었으나 교원질 섬유층의 침착은 현저하지 않았다.

주사전자현미경 소견상, 대조군에서는 표면 상피세포의 배열이 규칙적이며 모양이 다각형 내지 구형이고 세포사이의 간격도 일정하고 상피세포 표면의 미세용모가 잘 발달되어 있었다. 실험군에서는 상피세포 표면이 편평하고 미세용모는 소실 또는 불규칙한 배열을 보였고, 세포모양은 불규칙하고 다양한 크기를 보였으며 일부는 상피세포가 서로 뭉쳐서 덩어리를 형성하고 용기가 핵물된 양상을 보이며 일부에서는 상피세포가 광범위하게 편평하였으며 전반적으로 상피세포의 질서가 와해된 소견을 보였다. 상기한 초미세구조의 변화를 보건데 이것은 조기파수의 선행변화라 하기보다는 조기파수의 결과로 인식되었다. 양막의 탄성도에 가장 중요한 유지인자의 하나인 교원질 섬유의 변화에 대해서는 본 실험에서 현저한 결과를 얻을 수 없었다.

V. 결 론

조기파수의 정의는 일반적으로 진통이 시작되기 전에 파수가 되는 현상을 말하나 파수와 진통개시까지의 소위 잠복기는 학자에 따라 1~12시간 사이를 두고 있다. 조기파수의 원인은 단 한가지의 요인보다 복합적인 결과로 판단되고 있다. 태아막은 양막과 용모막으로 구성되어 있는데 양막은 태아막의 해면층에는 강도를 유지하는데 보다 더 중요한 교원질 섬유들이 존재하며 해면층은 고정된 용모막보다 양

막이 보다 자유롭게 운동하게 해준다.

저자들은 계명대학교 동산병원 산부인과 분만장에서 채취한 정상산모와 조기파수 산모의 태아막을 대상으로 투과전자현미경과 주사전자현미경을 이용하여 관찰한 결과 조기파수된 군에서 뚜렷한 초미세 구조의 변화를 얻을 수 있었다. 즉 양막세포 표면의 편평화, 세포간 간격의 확대 및 부종, 세포내 소기관 등의 변성, 세포배치의 불균형, 세포끼리의 융합으로 냉여리 형성, 섬유모 세포의 출현 등을 볼 수 있었다. 그러나 이러한 태아막의 초미세구조의 변화를 조기파수의 원인이라기 보다는 결과로 인식되었다. 교원질 섬유의 변화에 대한 보다 자세한 연구를 위해서는 면역조직화학적 방법이 필요할 것으로 사료된다.

-References-

- Alger LS and Pupkin MJ. Etiology of PROM. Clinical Obstet and Gynecol 1986 ; 29 : 785.
- Allen SR. Epidemiology of PROM. Clinical Obstet and Gynecol 1991 ; 34 : 685.
- Artal R, Sokol RJ, Neuman M, et al. The mechanical properties of prematurely and non-prematurely ruptured membranes. Am J Obstet Gynecol 1976 ; 125 : 655.
- Atlay RD, Sutherst J. Premature rupture of the fetal membranes confirmed by intramniotic injection by dye(Evans blue T-1824). Am J Obstet Gynecol 1970 ; 87 : 993.
- Averette HE, Hopman BC, Ferguson JH. Cytodiagnosis of ruptured fetal membranes. Am J Obstet Gynecol 1963 ; 87 : 226.
- Azzarelli B, Lafuse J. Amniotic basement membrane ; A barrier to neutrophil invasion. Am J Obstet Gynecol 1987 ; 156 : 1130.
- Benirschke K. Placental implantation and development. In : Eden RD, Boehm FH, eds. Assessment and care of the fetus : physiological, clinical, and medicolegal principles. New York, NY : Appleton and Lange 1990, pp 1-350.
- Bercovici B, Diamant YA. Vaginal cytology of premature rupture of membranes. Obstet Gynecol 1972 ; 39 : 861.
- Bou-Resli M, Al-Zaid N, Ibrahim M. Full-term and prematurely ruptured fetal membranes : An ultrastructural study. Cell Tissue Res 1981 ; 220 : 263.
- Bourgeois FJ, Harbert GM Jr, Anderson WA, et al. Early versus late tocolytic treatment for preterm premature membrane rupture. Am J Obstet Gynecol 1988 ; 159 : 742.
- Cunningham FG, MacDonald PC, Grant NF, et al. The morphological and functional development of the fetus. Williams' Obstetrics. Norwalk : Appleton and Lange
- 1989, pp1-1428.
- Dayer JM, Beutler B, Cerami A. Brief definitive report : cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E₂ production by human synovial cells and dermal fibroblasts. J Exp Med 1985 ; 162 : 2163.
- Embrey MP. On the strength of the fetal membranes. J Obstet Gynecol Br Emp 1954 ; 61 : 793.
- Friedman ML, McFlin TW. Diagnosis of ruptured fetal membranes. Am J Obstet Gynecol 1969 ; 104 : 544.
- Garite TJ, Keegan KA, Freeman RK, et al. A randomized trial of ritodrine tocolysis versus expectant management in patients with premature rupture of membranes at 25 to 30 weeks gestation. Am J Obstet Gynecol 1987 ; 157 : 388.
- Gibbs RS. Premature rupture of the membranes. Obstet Gynecol 1982 ; 60 : 671.
- Hills B, Cotton D. Premature rupture of membranes and surface energy : Possible role of surfactant. Am J Obstet Gynecol 1984 ; 149 : 896.
- Johnson JW, Daikoku NH, Niebyl JR, et al. Premature rupture of the membranes and prolonged pregnancy. Obstet Gynecol 1981 ; 57 : 547.
- Kanayama N, Kamijo H, Terao T, et al. The relationship between trypsin activity in amniotic fluid and premature rupture of membranes. Am J Obstet Gynecol 1986 ; 155 : 1043.
- Kanayama N, Terao T, Kawashima Y. Collagen Types in normal prematurely ruptured amniotic membranes. Am J Obstet Gynecol 1985 ; 153 : 899.
- Lavery JP, Miller CE, Knight RD. The effect of labor on the rheologic response of chorioamniotic membranes. Obstet Gynecol 1982 ; 60 : 87.
- Luft JH. Improvement in epoxy resin embedding method. J Biophys Biochem Cytol 1961 ; 9 : 409.
- Main DM, Main EK. Preterm birth. In Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL(eds) : Obstetrics : Normal and Problem Pregnancies, ed 2. New York, Churchill Livingstone, 1991 pp 991-985.
- Manabe Y, Sagawa N, Mori T. Experimental evidence for the progress of labor with the increase in the force of cervical dilatation after rupture of the membranes. Am J Obstet Gynecol 1985 ; 152 : 696.
- Modesti A, Kalebic T, Scarpa S, et al. Type V collagen in human amnion is a 12nm fibrillar component of the pericellular interstitium. Eur J Cell Biol 1984 ; 35 : 246.
- Polishuk WZ, Kohane S, Peranio A. The physical properties of fetal membranes. Obstet Gynecol 1962 ; 20 : 204.
- Polzin WJ, Brady K. Mechanical factors in the etiology of PROM. Clinical Obstetrics and Gynecology 1991 ; 34 : 702.
- Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 1963 ;

- 17 : 208.
- Russell KP, Anderson GV. Aggressive management of ruptured membranes. Am J Obstet Gynecol 1962 ; 83 : 930.
- Skinner S, Campeo G, Higgins G. Collagen content of human amniotic membranes : Effect of gestational length and premature rupture. Obstet Gynecol 1984 ; 149 : 896.
- Stricklin GP, Gast MJ, Welgers HG. Amniotic fluid collagenase inhibitor : correlation with gestational age and fetal lung maturity. Am J Obstet Gynecol 1986 ; 154 : 134.
- Toppozada M, Sallam N, Gaafar A, et al. Role of repeated stretching in the mechanism of timely rupture of the membranes. Am J Obstet Gynecol 1970 ; 108 : 243.
- Verbeek JH, Robertson EM, Haust MD. Basement membranes(amniotic, trophoblastic, capillary) and adjacent tissue in term placenta. Am J Obstet Gynecol 1967 ; 99 : 1136.
- Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J Biophys Biochem Cytol 1958 ; 226 : 475.
-