

Rat 태생기의 심장성장에 따른 형태측량적 연구

박원학 · 이용덕 · 정형재 · 최정목

Morphometric Study of Heart Development in Rat Fetus

Park, Won Hark, Yong Deok Lee, Hyeung Jae Chung and Jeung Mog Choi

(Received November 20, 1989)

Abstract

The ventricular myocardia of 14, 16, 18 and 20-day-old rat fetuses and newborns have been studied by light and electron microscopic morphometrics. The volume density of the myocyte and interstitial compartments as well as volume, surface and numerical density of nuclei were estimated by light microscopic morphometrics. Whereas, the volume density of myofibrils and glycogen granules as well as the volume, surface and numerical density of mitochondria were assessed by electron microscopic morphometrics.

The volume density of myocyte compartment of the ventricular myocardia in developing fetuses decreased, but increased in newborn rats. On the other hand, the volume density of the interstitial compartment increased in growing fetuses and decreased in newborns. In all groups the volume, surface and numerical density of nuclei decreased gradually with elongation of myocytes. Conversely, the volume, surface and numerical density of mitochondria and volume density of myofibrils and glycogen granules in ventricular myocytes increased. The increase in numerical density of mitochondria probably reflects an increase in metabolic activity. Sarcomere length also increased during development.

서 론

최근 형태학을 연구함에 있어서 조직 및 세포의 미세구조물들을 양적으로 평가하려는 시도로써 형태측량적 방법(morphometric method)이 이용되어지고 있다.

형태측량적 방법은 기하학을 응용한 것으

로 Delesse(1847)가 평면측량을 통한 체적 밀도(volume density)를 측정하는 방법을 제시한 이래 Rosiwal(1898)은 선상적분법(lineal integration)으로, Thompson(1930)과 Glagolev(1933)는 점계수법(point-counting method)으로서 양을 평가하였다.

형태측량적 방법을 생명체에 적용한 초기

단계에서 Weibel들(1966)은 세포학의 형태 연구를 수행하기 위한 일환으로 체적밀도(volume density), 표면밀도(surface density) 및 숫적밀도(numerical density)의 결정방법을 공식화하였다. Weibel들(1969)은 간을 대상으로 체계도(hierarchical model)를 작성하여 자신이 공식화하였던 식들에 의하여 세포소기관들의 함량을 평가하였다.

이후 측정방법은 Herzfelt들(1973), Herbener(1976), Tate와 Herbener(1976) 등 여러 연구자들에 의해 발전되었고, 측정목적에 따라 방법적 변화를 주어 조직 및 세포수준에서 다양하게 측정하였다.

심장을 대상으로 한 연구로는 정상 성체 심장의 미세구조에 대한 양적인 평가(Laguens, 1971 ; Gerdes와 Kasten, 1980), 증령(aging)에 따른 심장의 미세구조에 대한 양적평가(Olivetti들, 1980 ; Hirakow들, 1980 ; Hirakow와 Gotoh, 1980 ; Gotoh, 1983), 비후심장(hypertrophic heart)의 미세구조를 정상 심장과의 비교(Page와 McCallister, 1973 ; Herbener들, 1973 ; Anversa들, 1976 ; Loud들, 1978) 심한 활동(strenuous exercise) 후 심장변화 양상에 대한 양적변화(Loud들, 1984), 태생말기의 심장에 관한 양적연구(Anversa들, 1975)를 형태측량적 방법을 적용하여 양적인 해석을 한 바 있다.

태생기 심장발달에 관해서는 rat(Burlingame과 Long, 1939 ; Chacko, 1976), 계(Hibbs, 1956 ; Manasek, 1968, 1969, 1970 ; Bogush, 1979) 및 사람을 포함한 포유류(Marino와 Severdia, 1983 ; Forsgren과 Thornell, 1981 ; Mobley와 Page, 1972 ; Brook들, 1983 ; Myklebust들, 1977, 1978)를 대상으로 광학현미경 및 전자현미경을 이용한 형태적 연구가 다수 있었으나 형태측량적 방법을 적용하여 양적으로 심장의 성장 양상을 평가한 보고는 없었다.

본 연구는 rat의 태생기 동안 심장발달 양상을 형태측량적 방법을 이용하여 심장, 특히 태

생기 심실근층세포(ventricular myocardial cell)의 변화를 양적으로 측정하려 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물은 영남대학교 생물학과 동물사육실(실내온도 $18 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $60 \pm 10\%$)에서 사육된 외관상 건강하게 보이는 출생후 3-5개월 된 rat를 모체로 사용하였다.

임신의 확인은 vaginal plug발견 후 정충 확인시간을 임신 0일로 하여 다음과 같은 5개의 군으로 나누어 실험하였다.

- 1) 제1군 : 임신(gestation) 14일째의 태자(fetus, stage 29)
- 2) 제2군 : 임신 16일째의 태자(stage 33)
- 3) 제3군 : 임신 18일째의 태자(stage 34)
- 4) 제4군 : 임신 20일째의 태자(stage 35)
- 5) 제5군 : 출생직후의 신생 rat(stage 36)

2. 실험방법

1) 표본의 제작

각 군의 태자 및 신생 rat 심장을 적출 즉시 신선한 2.5% glutaraldehyde에 전고정하였으며 1% osmium tetroxide에 후고정하여 탈수과정을 거친 후 Epon 812에 포매하였다. block은 glass knife로 $1\mu\text{m}$ 후박절편(thick section)하여 toluidine blue로 염색을 한 후 광학현미경으로 검경을 하였고, 60-70nm의 두께로 초박절편(thin section) 후 uranyl acetate와 lead citrate에 이중염색을 하여 Hitachi H-600형 투과전자현미경(TEM)으로 관찰하였다.

2) 표본의 선택(sampling) 및 사진촬영

각 군별 20개 block의 심근조직을 선택하여 광학현미경을 이용한 형태측량을 하였다. 측정의 대상은 심실근층에 있는 심근세포(myocyte), 모세혈관(capillary), 고유의 간질조직(interstitium) 및 심근 세포의 핵(nucleus)으로 하였으며 양적분석을 위해 근층부위를 각 군별 대상 block중 block당 2부위를 무작위로 선택하여 모두 40장의 광

학현미경 사진을 1,000배로 촬영하여 얻었다.

심근세포내 미세구조물 중 전자현미경적 형태측량의 대상 소기관은 근원섬유(myofibril), mitochondria 및 당원과립(glycogen granule)으로 하였으며 미세구조의 양적분석을 위해 대상 block당 2부위를 무작위로 선택하여 Loud들(1978)의 방법에 의해 종단면(longitudinal section)의 사진을 전자현미경 상에서 10,000배로 촬영하고 인화과정에서 1.85배로 확대하였다.

측정대상체중 핵, mitochondria는 체적밀도, 표면밀도, 숫적밀도 및 각 대상체 개개의 평균 체적을 측정하였고 심근세포, 모세혈관, 고유간질조직, 근원섬유, 당원과립은 체적밀도만을 측정하였다.

근원섬유의 평가에 있어서 체적밀도의 측정외에도 1/2000m 측정자를 사용하여 근절(sarcomere)의 길이를 측정하였다.

3) 형태측량적 방법의 적용

심근중조직의 조성, 핵, 근원섬유 및 mitochondria의 체적밀도 및 숫적밀도는 single lattice test grid(Fig. 1a)를 사용하였고 당원과립의 체적은 lattice비가 $q^2=16$ 인 double lattice test grid (Fig. 1b)를 사용하였다.

핵 및 mitochondria의 표면밀도는 $Z=7.5\text{mm}$ 인 다목적용 test grid(Fig. 1c)를 사용하여 Weibel들(1966)의 방법에 따라 교점과 대상체가 만나는 point로써 값을 평가하는 점계수법을 적용하였다(Fig. 2).

점계수법에 의해 계수되어진 수는 Weibel들(1966)이 사용한 다음과 같은 식에 의해 계산하였다.

(1) 체적밀도(V_v)

$$V_v = \frac{\text{단위체적당 대상체의 체적}(V_c)}{\text{단위체적}(V_T)}$$

(2) 표면밀도(S_v)

$$S_v = \frac{\text{단위체적당 대상체의 표면}(S_c)}{\text{단위체적}(V_T)}$$

$$= \text{사진상 외형의 길이}(m) \times 4/\pi$$

$$= \frac{\pi \times \text{grid선에 의해 잘려지는 대상체 면의 수}(I)}{2 \times \text{grid 전체선의 길이}(L)}$$

$$\times \frac{\text{배율}}{1000} \times \frac{4}{\pi}$$

(3) 숫적밀도(N_v)

$$N_v = \frac{\text{단위체적당 대상체의 수}(N_c)}{\text{단위체적}(V_T)}$$

$$\times \frac{1}{\beta} \times \frac{[\text{단위면적당 대상체의 수}(N_c)]^{3/2}}{[\text{체적밀도}(V_v)]^{1/2}}$$

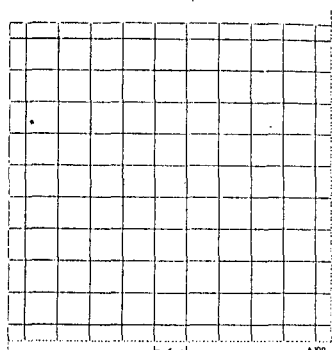


Fig. 1 a. Simple square lattice test grid A 100
Calibration $d=10\text{mm}$,
frame width = $10d$

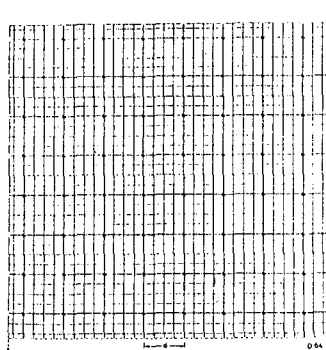


Fig. 2 b. Double square lattice test grid D 64
Lattice ratio $q^2=16$,
Calibration $d=12.5\text{mm}$,
frame width = $8d$

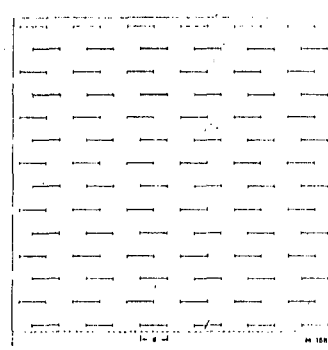


Fig. 1 c. Multipurpose test system M168
Calibration $d=7.5\text{mm}$,
horizontal frame width = $12d$
vertical frame width = $12.12d$

여기서 β 는 형태상수로서 핵과 mitochondria의 숫적밀도의 측정시는 타원형의 상수 1.58을 사용하였다(Weibel들, 1969).

측정된 모든 대상체의 양적평가는 $1\mu\text{m}^3$ 를 단위체적으로 하여 체적밀도, 표면밀도 및 숫적밀도를 구하였고 핵 및 mitochondria 개개의 평균체적은 체적밀도/숫적밀도로 하였다.

결 과

1. 전자현미경적 소견

1) 임신 14일군(stage 27)

근원섬유는 심근세포(myocyte)의 근초(sarcolemma) 부근에서 발달하였고 Z-선도 관찰되었다. 이 시기에 이미 윤반(intercalated disc)이 존재하여 근미세사(myofilament)를 결합시키고 있다(Fig. 11). Mitochondrial는 구형성 타원형이며 근원섬유(myofibril) 주위에 분포하며 일렬상 배열은 이루어지지 않고 있었다. 근형질(sarcoplasm) 내에는 유리 ribosome과 polysome이 많이 분포하고 있으며 RER도 관찰되었다(Fig. 12).

2) 임신 16일군(stage 33)

근원섬유(myofibril)는 14일군에 비하여 규칙적인 배열을 나타냈으며 mitochondria의 형태 및 배열상태는 14일군과 유사하였다. 근형질(sarcoplasm)내에는 RER, 유리 ribosome, polysome이 관찰되며 공포(vacuole)의 형성도 관찰되었다(Fig. 13).

3) 임신 18일군(stage 34)

근원섬유의 배열상태는 16일군과 유사하였으나 A-대 및 I-대의 구분이 가능하였다. 근원섬유의 주변에는 당원과립이 일부 산포되어 관찰되었다. Mitochondria의 형태 및

배열상태는 16일군과 유사하였고 근형질내에는 유리 ribosome, polysome 및 RER이 소수 관찰되었다(Fig. 14).

4) 임신 20일군(stage 35)

근원섬유는 매우 규칙적인 배열을 보이고 있으며 근원섬유 주변에는 당원과립이 밀집된 형태로 존재하였다. Mitochondria의 형태 및 배열상태도 16일 및 18일군과 유사하였으며, 근원섬유부위 이외의 근형질은 임신 18일군에 비하여 현저히 감소하였다(Fig. 15).

5) 출생후 1일군(stage 16)

근원섬유는 매우 규칙적인 배열을 하고 있으며 A-대와 I-대가 뚜렷하게 관찰되었으며 근원섬유 주변에 당원과립들의 분포가 현저히 증가되어 관찰되었다. Mitochondria는 각 근원섬유 사이에 일렬상 배열을 보이고 있으며 형태는 여타의 군과 차이가 없었다. 근형질내에서는 유리 ribosome, polysome 및 RER들은 관찰되지 않았다(Fig. 16).

2. 입체해석학적 평가방법에 의한 정량적 분석 결과

1) 심근층(myocardium)의 조성(composition)

심근층 $1\mu\text{m}^3$ 당 심근세포의 체적밀도는 임신 14일째(이하 G-14)는 0.88이었고 임신 16일째(G-16)는 0.84, 임신 20일째(G-20)는 0.80로 점차 감소하였으나 출생 직후(P-1)는 0.88으로 증가하였다. 반면, 혈관은 G-14의 0.03에서 G-20의 0.12로 증가하였고 P-1에서는 0.08로 감소하였다.

고유간질조직은 G-14가 0.09, G-16에서는 0.11이었고 임신 18일째(G-18)는 0.09, P-1은 0.04으로 나타났다(Table 1, Fig. 3).

Table 1. Volume composition of fetal and newborn rat myocardium($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$)

Age	Myocyte	Interstitium	Capillary
Gestation 14 day	0.88±0.043	0.09±0.033	0.03±0.034
Gestation 16 day	0.84±0.043*	0.11±0.037*	0.05±0.034
Gestation 18 day	0.86±0.036	0.09±0.027*	0.05±0.041
Gestation 20 day	0.80±0.061**	0.08±0.035	0.12±0.046**
Postnatal 1 day	0.88±0.058**	0.04±0.037**	0.08±0.038**

Values are expressed as means ± S. D.

* : P < 0.05, ** : P < 0.01 from previous group

Table 2. Morphometric data of the growth of the fetus

	14 days fetus	16 days fetus	18 days fetus	20 days fetus	Postnatal 1 day
Volume density(Vv)					
nucleus(Vv nu)	0.16±0.034	0.15±0.030	0.14±0.020	0.11±0.027**	0.08±0.024**
myofibril(Vv myo)	0.07±0.028	0.22±0.082**	0.25±0.042*	0.28±0.055*	0.32±0.043**
mitochondria(Vv mit)	0.12±0.029	0.12±0.027	0.14±0.034*	0.17±0.038**	0.17±0.028
glycogen granule(Vv gl)	—	0.003±0.0003**	0.015±0.0038**	0.060±0.0050**	0.085±0.0098**
Surface density(Sv)					
nucleus(Sv nu)	0.13±0.017	0.10±0.018*	0.11±0.033	0.08±0.016**	0.07±0.020
mitochondria(Sv mit)	0.90±0.376	0.95±0.305	1.35±0.547**	1.54±0.419*	1.58±0.488
Numerical density(Nv)					
nucleus(Nv nu)	0.00048±0.00009	0.00039±0.00009**	0.00040±0.00008	0.00031±0.00007**	0.00028±0.00006
mitochondria(Nv mit)	0.80±0.312	0.70±0.254	0.99±0.206*	1.00±0.227	0.89±0.224
Average volume					
nucleus	420.8±130.8	491.2±156.1	457.1±129.3	517.3±165.9	432.5±177.6
mitochondria	0.18±0.055	0.21±0.070*	0.19±0.057	0.19±0.041	0.19±0.032

Values are expressed as means±S. D.

* : P < 0.05, ** : P < 0.01 from previous group

Vv unit : $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$

Sv unit : $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$

Nv unit : Number/ μm^3

Average volume unit : μm^3

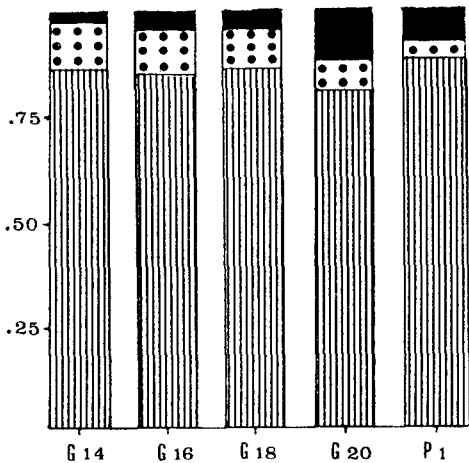


Fig. 3. Growth dependent changes in volume composition of fetal and newborn rat myocardium.

▨ : Myocyte Volume density
 ■ : Capillary Volume density
 ▤ : Interstitium Volume density

2) 심근세포 핵의 정량

심근층 $1\mu\text{m}^3$ 내에 포함된 심근세포 핵의 체적밀도는 G-14에서 0.16이었고 G-20에서 0.11, P-1에서는 0.08로 점차 감소하였으며, 표면밀도는 G-14에서 0.13, G-16은 0.10, G-20에서는 0.08로 감소하였다(Table 2, Fig. 4).

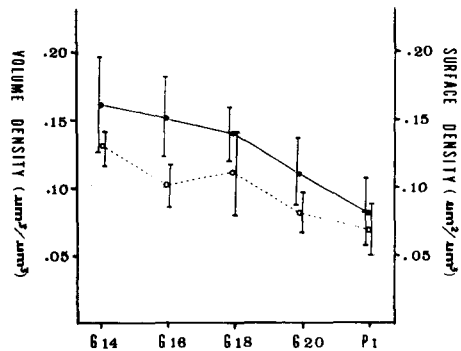


Fig. 4. Growth dependent changes in volume density(—●) and surface density(---○) of fetal and newborn rat myocytic nuclei in myocardium.

숫적밀도는 G-14에서 0.00048, G-16은 0.00039, G-20에서는 0.00031로 점차 감소하였고 핵 개개의 평균체적은 G-14에서 420.8, G-18에

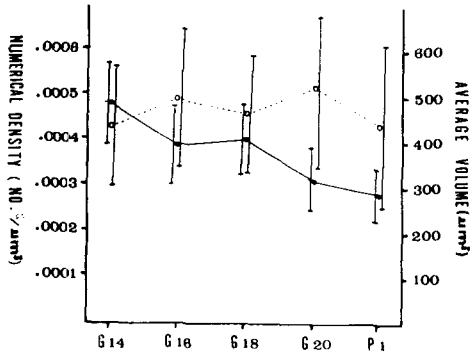


Fig. 5. Growth dependent changes in numerical density(---) and average volume(○---○) of fetal and newborn rat myocytic nuclei in myocardium.

서는 457.1, G-20은 517.3, P-1은 432.5로서 유의미한 변화가 없었다(Table 2, Fig. 5).

3) 근원섬유의 정량

심근층 1μm³ 내에 있는 근원섬유의 체적 밀도는 G-14에서 0.07, G-16은 0.22, G-18은 0.25, G-20은 0.28, P-1은 0.32로 지속적인 증가를 보였다(Table 2, Fig. 6).

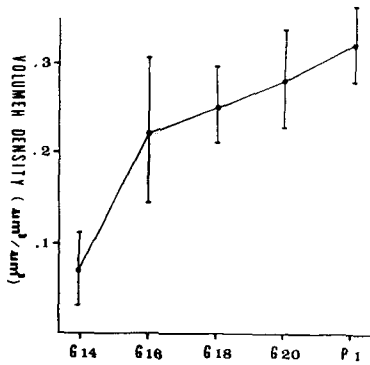


Fig. 6. Growth dependent changes in myofibril volume density of fetal and newborn rat myocardium.

4) Mitochondria의 정량

심근층 1μm³ 내에 분포하는 mitochondria의 체적밀도는 G-14에서 0.12, G-18은 0.14,

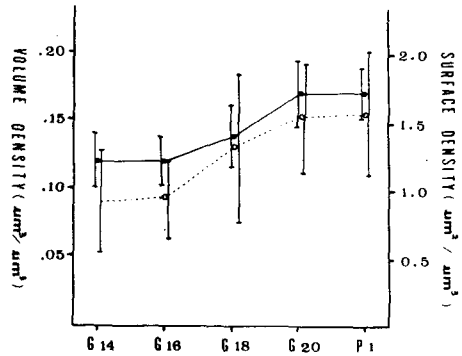


Fig. 7. Growth dependent changes in volume density(---) and outer membrane surface density(○---○) of fetal and newborn rat myocardial mitochondria.

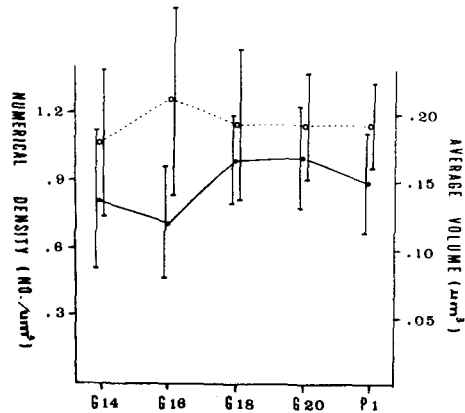


Fig. 8. Growth dependent changes in numerical density(---) and average volume(○---○) of fetal and newborn rat myocardial mitochondria.

G-20에서는 0.17로 증가하였고 외막의 표면 밀도에 있어서 G-14는 0.90, G-18은 1.35, G-20에서 1.54로 증가하였다(Table 2, Fig. 7). 숫적밀도는 G-14에서 0.80, G-18의 0.99로 증가하였고 P-1에서는 0.89으로 나타났다. Mitochondria 개개의 평균체적은 G-14에서 0.18, G-16은 0.21, G-18에서는 0.19 P-1은 0.19로 큰 변화가 없었다(Table 2, Fig. 8).

5) 당원과립의 정량
 심근층 $1\mu\text{m}^3$ 내에 있는 당원과립의 체적밀도는 G-14에서는 당원과립이 관찰되지 않아

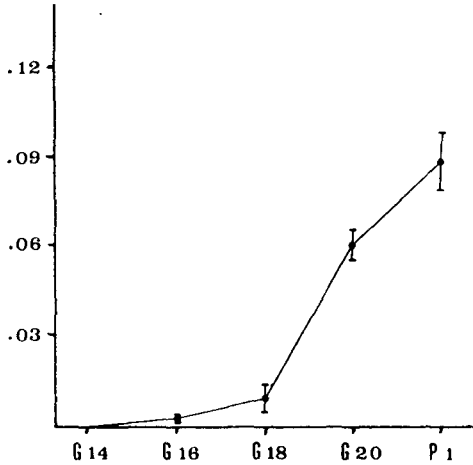


Fig. 9. Growth dependent changes in glycogen granule volume density of fetal and newborn rat myocardium.

서 측량할 수 없었으며 G-16에서는 0.003, G-18에는 0.015, G-20은 0.060, P-1은 0.085로 계속적으로 증가하였다(Table 2, Fig. 9).

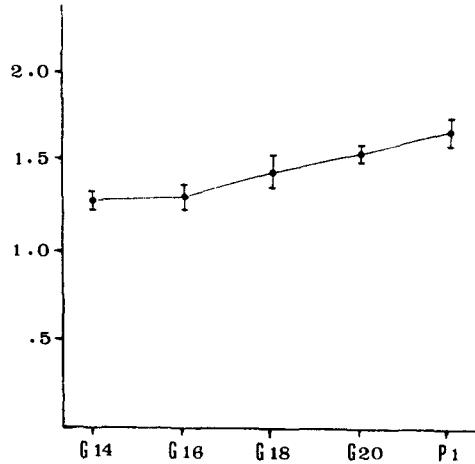


Fig. 10. Growth dependent changes in sarcomere length of fetal and newborn rat myocardial myofibrils.

6) 근절(sarcomere)의 길이 측정
 근원섬유중 근절의 길이는 G-14에서 $1.25\mu\text{m}$, G-16에서 $1.26\mu\text{m}$, G-18은 $1.42\mu\text{m}$, G-20은 $1.51\mu\text{m}$ 및 P-1은 $1.64\mu\text{m}$ 로 지속적 증가를 보였다(Table 3, Fig. 10).

Table 3. Sarcomere length of fetal and newborn rat myocardial myofibrils

Age	Length(μm)
Gestation 14 day	1.25 ± 0.056
Gestation 16 day	1.26 ± 0.075
Gestation 18 day	$1.42 \pm 0.113^{**}$
Gestation 20 day	$1.51 \pm 0.049^*$
Postnatal 1 day	$1.64 \pm 0.122^*$

Values are expressed as mean \pm S. D.

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ from previous group

고찰

Rat 심장의 최초 발생은 임신 9일 후반에 시작되어 13일째 후반에 심장의 외부형태가 완성되며 15일째에는 심방(atria), 심실(ventricle)과 방실관(A-V canal), 동맥간(truncus arteriosus)이 완성된다(Burlingame과 Long, 1939).

심장의 외부형태가 거의 완성된 임신 14일째부터 출생 직후까지의 rat를 대상으로 심근층의 조성 및 각 소기관의 양적변화를 형태측량적 방법으로 측정된 결과 심근층의 조성정도는 임신 14일째의 심근세포가 0.88, 모세혈관을 포함한 간질조직부분은 0.12로서 성체 rat에서 87%수준을 나타낸 심근세포의 양(Laguens, 1971)과 유사함을 보였다. 임신 16일군과 18일군은 각각 0.84, 0.86으로 14일군보다는 다소 감소하였으나 동일종의 성체에서 82%의 결과(Anversa들, 1976)와 비교해 볼 때 큰 의의를 가지지 못하는 변화로 생각되어진다. 심근세포의 형태는 불규칙한 형태로 나타나며 고유간질조직과 모세혈관의 발달은 미약하였다. 이는 Manasek(1970)가 시사한 심장의 심근세포의 성숙형태와 유사하였다. 임신 20일군의 심근세포는 심근층중 0.8을 점유하고 있는 반면 간질조직은 0.2를 점유하고 있다. 이는 근원섬유가 발달함에 따라 근원섬유가 신장(elongation)되고 간질조직중 모세혈관의 점유부분이 증가되는

것으로 사료된다. 출생직후 심근세포의 체적 밀도는 0.88로 임신 14일군 및 성체와 유사한 조성 정도를 보여주고 있으며 모세혈관을 포함한 간질조직은 0.12로서 측량된 바 성체에서의 16.3%(Loud들, 1978), 13%(Laguens, 1971)와 큰차를 보이지 않았다. 핵의 체적밀도, 표면밀도, 숫적밀도는 임신 14일군 이후 출생직후까지 점차적으로 감소하는 경향을 보였으나 각 군별 개개 핵의 평균체적은 $450\mu\text{m}^3$ 전후로서 유의적인 차가 없었다. 이는 심장의 성장에 따라 심근세포의 크기는 커지나 핵의 체적 및 숫적 증가는 세포 크기의 증가에 비할 때 미소한 것으로 사료된다. 심근세포내의 미세구조중 근원섬유의 형성은 임신후 10일째 처음 근미세사(myofilament)가 보이기 시작하여 임신 14일째는 근미세사들이 Z-material에 부착하여 근원섬유를 형성하며 출생직후에는 M대를 제외한 모든 band가 나타나며(Chacko, 1976) 성체가 될 때까지 계속 증가한다고 하였다(Manasek, 1970). 본 실험의 결과에서는 심장의 외형만이 성립된 임신 14일째는 근원섬유의 발달정도가 0.07로 매우 미약하였으나 심방과 심실의 구분이 완성되는 16일째는 0.21로 크게 증가하여 출생이후 0.32까지 계속적인 증가를 보였다. 이 결과는 성체 rat에서의 47.6%(Page와 McCallister, 1973), 56%(Anversa들, 1976)보다 적은 양이며 출생 직전에 46%, 출생이후에 53%를 나타낸 guinea pig의 근원섬유(Hirakow와 Gotoh, 1980) 및 출생직후 61.5%를 나타낸 고양이(Gotoh, 1983)보다 적은 양이다. 그러나 Anversa들(1975)의 mitochondria를 포함하여 측정된 임신 19일째의 근원섬유의 양과는 유사한 것으로 보아 각 연구자들간의 근원섬유의 양적차이는 실험동물 종간의 임신기간의 차이와 심근세포내에서 근미세사의 최초 형성시기가 다르기 때문이라고 사료된다.

심근세포내 mitochondria의 체적밀도는

임신 14일군과 16일군은 0.12로 유사한 값을 나타냈으며 임신 18일군은 0.14, 임신 20일군 및 출생직후 군은 0.17로 증가하는 양상을 보였다. 이와같은 mitochondria의 체적밀도의 증가추세는 Hirakow와 Gotoh(1980)가 guinea pig를 대상으로 한 임신중 mitochondria의 정량적 변화와 유사하였다. Gotoh(1983)의 보고에서는 출생이후에도 지속적인 증가를 보여주고 있다. 그러나 퇴행기에 접어들면서 점차 감소하는 것으로 보고되었다(Herbener, 1976 ; Tate와 Herbener, 1976). Mitochondria 외막의 표면밀도는 임신 18일부터 출생직후까지 증가하였다. 숫적밀도는 임신 18일째에서 증가하여 출생직후까지는 큰 변화가 없었다. Mitochondria 개개의 평균체적은 $0.20\mu\text{m}^3$ 내외였으며 임신 16일군에서 일시 증가한 것 이외에는 변화가 없었다. 이러한 결과는 체적에 따른 cristae의 양이 같다고 보았을 때 근원섬유가 성장함에 따라 energy 요구량의 증가에 부응하기 위해 mitochondria의 단위체적당 체적밀도가 증가함을 알 수 있으며 특히 체적밀도의 증가는 mitochondria 개개의 크기 증가보다는 수적증가에 기인된다고 사료된다.

당원과립의 양적변화는 임신 14일군에서는 과립 상태의 당원(glycogen)이 발견되지 않았으며 16일군에서는 미량에 불과하였으나 배자(embryo) 성장에 따라 큰 폭으로 증가하여 출생직후에는 0.085를 나타냈다. 이 결과는 근원섬유가 증가함에 따라 당원과립이 증가한다(Manasek, 1970)는 사실과 일치하였다. 정량적 측면에서도 guinea pig의 출생직후 8.5%(Hirakow와 Gotoh, 1980)와 유사하였다. 이는 태생기 동물의 당원은 젖산(lactic acid)으로 전환이 일어나지 않거나 정도가 적기 때문에 당원과립의 형태로 축적이 되는 것으로 사료된다. 고양이의 경우 출생 후 성장을 함에 따라 당원의 양이 계속적으로 감소한다는 보고(Gotoh, 1983)도 있다.

근원섬유중 근질의 길이는 임신 14일군에서는 $1.25\mu\text{m}$ 였으나 A-대 및 I-대가 구분되기 시작하는 18일군에서부터 근질의 길이가 점차 길어지는 성향을 띠고 있었다. 이와 같은 양상은 근원섬유의 성장 양상과 유사하여 근원섬유의 성장, 성숙과 더불어 I-대 및 A-대가 나타나며 근질의 길이도 점차 증가된다고 사료된다.

결 론

태생기 rat의 심장성장에 따른 심근층의 조성과 심근세포내의 일부 소기관들을 점계수법으로 임신 14일, 16일, 18일, 20일군 및 출생직후군의 체적밀도, 표면밀도, 숫적밀도 및 평균체적을 정량한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 태생기 rat의 심장성장에 따른 심근층의 조성은 임신기간중에는 심장의 성장에 따라 심근세포의 체적밀도가 점차 감소한 후 출생후에는 다시 증가하였다. 반면, 모세혈관을 포함한 간질조직의 체적밀도는 심근세포의 체적밀도와 상반된 결과를 나타냈으며 그 중 모세혈관의 비가 점차 커지는 것을 알 수 있었다.

2. 태생기 rat의 심장성장에 따라 핵 개개의 평균체적은 변화가 없었으나 심근세포가 신장을 함에 따라 상대적인 밀도(density)는 점차 작아졌다.

3. 태생기 rat의 심장성장에 따라 세포내 일부 미세구조물들의 변화는 심장이 성장을 함의 양은 대체로 증가하였고 mitochondria의 경우 개개의 평균체적은 변화가 없는 것으로 보아 증가된 에너지의 요구는 mitochondria의 수적증가에 의해 해결되는 것으로 판단되었다.

4. 근질의 길이 변화는 근원섬유의 체적밀도 증가에 따라 길이가 점차 증가하였다.

References

- Anversa, P., A. V. Loud and L. Vitali-Mazza. 1976. Morphometry and autoradiography of early hypertrophic changes in the ventricular myocardium of adult rat. -An electron microscopic study. Lab. Invest. 35, 475-483
- Anversa, P., L. Vitali-Mazza and A. V. Loud. 1975. Morphometric and autoradiographic study of developing ventricular and atrial myocardium in fetal rats. Lab. Invest. 33, 696-705
- Bogusch, G. 1979. Electron microscopic investigations of the differentiation of purkinje cells in the oncogenic development of the chick heart. Anat. Embryol. 155. 259-271
- Brook, W. H., S. Connell, J. Cannata, J. E. Maloney and A. M. Walker. 1983. Ultrastructure of the myocardium during development from early fetal life in sheep. J. Anat. 137, 729-741
- Burlingame, P. L. and J. A. Long. 1939. The development of the heart in the rat. Univ. California Pub. Zool. 43, 249-320
- Chacko, K. J. 1976. Observation of the ultrastructure of developing myocardium of rat embryo. J. Morphol. 150, 681-710
- Delesse, M. A. 1847. Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches. C. R. Acad. Sci.(Paris). 25, 544
- Forsgren, S. and L. E. Thornell. 1981. The development of purkinje fibres and ordinary myocytes in the bovine fetal heart. Anat. Embryol. 162, 127-136
- Gerdes, A. M. and F. S. Kasten. 1980. Morphometric study of endocardium and epicardium of the left ventricle in adult

- dogs. *Am. J. Anat.* 159, 389-394
- Glagolev, A. A. 1933. On the geometrical methods of quantitative mineralogic analysis of rocks. *Trans. Inst. Ecom. Min. Moscow.* 59, 1
- Gotoh, T. 1983. Quantitative study on the ultrastructural differentiation and growth of mammalian cardiac muscles. - The atria and ventricles of cat. *Acta Anat.* 115, 168-177.
- Herbener, G. H. 1976. A morphometric study of age dependent changes in mitochondrial populations of mouse liver and heart. *J. Gerontol.* 31, 8-12.
- Herbener, G. H., R. H. Swigart and A. L. Lang. 1973. Morphometric comparison of the mitochondrial populations of normal and hypertrophic heart. *Lab. Invest.* 28, 96-103
- Herzfeld, A., M. Federman and O. Greengrad. 1973. Subcellular morphometric and biochemical analyses of developing rat hepatocyte. *J. Cell Biol.* 57, 475-483
- Hibbs, R. G. 1956. Electron microscopy of developing cardiac muscle in chick embryos. *Am. J. Anat.* 99, 17-52
- Hirakow, R., T. Gotoh and T. Watanabe. 1980. Quantitative studies on the ultrastructural differentiation and growth of mammalian cardiac muscle cells. I. The atria and ventricle of the rat. *Acta Anat.* 108, 144-152
- Hirakow, R. and T. Gotoh. 1980. Quantitative study on the ultrastructural differentiation and growth of mammalian cardiac muscle cells. II. The atria and ventricle of the guinea pig. *Acta Anat.* 108, 230-237
- Laguens, R. 1971. Morphometric study of myocardial mitochondria in the rat. *J. Cell Biol.* 48, 673-676
- Loud, A. V., C. Beghi, G. Olivetti and P. Anversa. 1984. Morphometry of right and left ventricular myocardium after strenuous exercise in preconditioned rat. *Lab. Invest.* 51, 104-111
- Loud, A. V., P. Anversa, F. Giacomelli and J. Wiener. 1978. Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental hypertension. I. Determination of myocyte size. *Lab. Invest.* 38, 586-596
- Manasek, F. J. 1968. Embryonic development of the heart. I. A light and electron microscopic study of myocardial development in the early chick embryo. *J. Morphol.* 125, 329-366
- Manasek, F. J. 1969. Myocardial cell death in the embryonic chick ventricle. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 21, 271-284
- Manasek, F. J. 1970. Histogenesis of the embryonic myocardium. *Am. J. Cardiol.* 25, 149-168
- Manasek, F. J. 1970. Embryonic development of the heart. II. Formation of the epicardium. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 22, 333-348
- Marino, T. A. and J. Severdia. 1983. The early development of the AV node bundle in the ferret heart. *Am. J. Anat.* 167, 299-312
- Mobley, B. A. and E. Page. 1972. The surface area of sheep cardiac purkinje fibres. *J. Physiol.* 220, 547-563
- Myklebust, R., H. Engedal, T. S. Sæterstal and M. Ulstein. 1977. Primary 9+0 cilia in the embryonic and the adult human heart. *Anat. Embryol.* 151, 127-139
- Myklebust, R., T. S. Sætersdal, H. Engedal, M. Ulstein and S. ϕ degården. 1978.

- Ultrastructural studies on the formation of myofilaments and myofibril in the human embryonic and adult hypertrophied heart. *Anat. Embryol.* 152, 127-140
- Olivetti, G., P. Anversa and A. V. Loud. 1980. Morphometry study of early post-natal development in the left and right ventricular myocardium of the rat. *Circul. Res.* 46, 503-512
- Page, E. and L. P. McCallister. 1973. Quantitative electron microscopic description of heart muscle cells. Application to normal, hypertrophied and thyroxin stimulated heart. *Am. J. Cardiol.* 31, 172-181
- Rosiwal, A. 1898. Ueber geometrische Gestinsanalysen. *Verh. K. K. Geol. Rwichsanst. Weien.* 143
- Tate, E. L. and G. H. Herbener. 1976. A morphometric study of the density of mitochondrial cristae in heart and liver of aging mice. *J. Gerontol.* 31, 129-134
- Thompson, E. 1930. Quantitative microscopic analysis. *J. Geol.* 38 : 193
- Weibel, E. R., G. S. Kistler and W. F. Scherle. 1966. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J. Cell Biol.* 30, 23
- Weibel, E. R., W. Staubli, G. R. Gnagi and F. A. Hess. 1969. Correlated morphometric and biochemical study on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods and normal morphometric data for rat liver. *J. Cell Biol.* 42, 68

Figure Legends

- Fig. 2a.** Typical micrograph characterizing the sample unit, superimposed with test grid in form double period square lattice. Heavy frame(hf) delimits actually analysed area which includes 824 points, of which 64 are set off as "heavy points (hp)". Note that a portion of myofibril(MF) and a mitochondrion(M). $\times 18,500$
- Fig. 2b.** Actual size of superimposed micrograph with mitochondria ; 84 lines are applied. Intersection of test lines with mitochondrial outer membranes are encircled. $\times 18,500$
- Fig. 11.** The ventricular myocardium of 14-day-old rat fetus
Some myofibrils(MF) located prodominantly near the sarcolemma and oriented parallel to each other and to the long axis of the cell. Z-band(Z) and inter-calated disc(ID) are well delineated mitochondria(M), desmosome(D), intercellular space (IS). $\times 18,500$
- Fig. 12.** The ventricular myocardium of 14-day-old rat fetus
Free ribosomes(arrow) can be observed to be associated with developing myofibrils(MF). Parallel chains of polysomes(arrow head) visualized at numerous site around myofibrils. Granular endoplasmic reticulum(RER) can be visualized in sarcoplasm. mitochondria(M). $\times 18,500$
- Fig. 13.** The ventricular myocardium of 16-day-old rat fetus
The myofibrils(MF) appear wider and thicker than previous group. Free ribosomes(arrow), polysomes(arrow head), granular endoplasmic reticulum(RER)

and vacuole(V) can be observed in sarcoplasm. mitochondria(M), nucleus(N).
×10,000

Fig. 14 The ventricular myocardium of 18-day-old rat fetus

The myofibrils(MF) are fully formed and appear much wider and thicker than previous noted under the same magnification. Z, I and A-bands are well delineated. mitochondria(M), nucleus(N). ×10,000

Fig. 15 The ventricular myocardium of 20-day-old rat fetus

The developed myofibrils(MF) and glycogen granules(G) are remarked in myocyte. mitochondria(M). ×10,000

Fig. 16 The ventricular myocardium of newborn rat

The myofibrils(MF) showing well organized coursing parallel to the longitudinal axis of the cell. Glycogen granules(G) appear more organized than previous group. mitochondria(M), I-band(I), A-band(A). ×10,000

