

УДК 591.46:636:2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АБСОЛЮТНОЙ И ОТНОСИТЕЛЬНОЙ МАССЫ КОСТНОГО КОМПОНЕНТА В ВЕСЕ ТЕЛА, А ТАКЖЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ В ТРУБЧАТЫХ КОСТЯХ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ЛОСЕЙ

Ложкин Э.Ф., Пименов М.Ю.

*Костромская государственная сельскохозяйственная академия, СПК «Яковлевское», Кострома,
e-mail: pimenow.mix@yandex.ru*

Под минерализацией в химическом анализе понимается разложение органических веществ и материалов на их основе с целью выделения определяемых элементов в виде устойчивых неорганических соединений. Среди методов разрушения органических компонентов следует выделить сухое и мокрое озоление – нагревание с кислотами – окислителями.

Ключевые слова: кость, лось, гидроксипатит кальция, кислота, декальцинация

DETERMINATION OF THE ABSOLUTE AND RELATIVE WEIGHT OF THE BONE COMPONENT IN BODY WEIGHT, AS WELL AS THE DETERMINATION OF INORGANIC SUBSTANCES (CALCIUM HYDROXYAPATITE) IN THE TUBULAR BONES OF CATTLE AND ELK

Lozhkin E.F., Pimenov M.J.

Kostroma state agricultural academy, SPK «Jakovlevsky», Kostroma, e-mail: pimenow.mix@yandex.ru

Under минерализацией in a chemical analysis decomposition of organic matters and materials is understood on their basis with the purpose of selection of the determined elements as steady inorganic connections. Among the methods of destruction of organic components it is necessary to distinguish dry and wet incineration is heating with acids – oxidants.

Keywords: bone, elk, crystals of calcium, acidi, incineration

Материал и методика исследования

В представленной работе исследовались пястные трубчатые кости крупного рогатого скота и лосей методом мокрого разложения органических веществ, в тканях сложного состава, к каковым можно отнести и костную ткань, а также определялась абсолютная и относительная (%) массы костного компонента в весе тела.

Материалом для сжигания служили кислоты (серная, азотная и соляная). Исследованию подверглись диафизы и эпифизы пястных трубчатых костей (os metacarpi) крупного рогатого скота в возрасте 18 месяцев ($n = 4$) и лосей в возрасте 18 месяцев ($n = 4$), которые выпиливались на равные по длине (от 5,5 до 6,0 см) отрезки (по 4 на каждую кость), затем измерили предварительно массу 32 костных отрезков, измерительная лента, максимальной длиной 3 метра.

Зоометрическим исследованиям было подвергнуто 8 голов животных в возрасте 18 месяцев, из них: 4 головы крупного рогатого скота, средним весом 570 кг и 4 головы лосей, средним весом 400 кг. Для указанного исследования использовалась общепринятая методика.

Методика исследования основана на сжигании пробы концентрированными кислотами (HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4). Данная методика требует незначительного затрата времени, но постоянного слежения за ходом процесса, достаточно умеренного расходования кислот и более качественного разложения исследуемого органического вещества.

Метод подготовки проб

Пробы выдержали при температуре 85 °С в течение 45 минут. После чего массу каждого из них из-

мерили повторно (разница в массе костных отрезков крупного рогатого скота и лосей учитывалась при подсчете результатов по окончании проведения исследования). Количество потерянной влаги составило в среднем от 8 до 14 гр. Колебание в весе костных отрезков составляло при этом от 3 до 6 грамм. Формула для проведения расчета абсолютной массы костного компонента в весе тела имеет следующее выражение:

$$O = Lo^2k,$$

где O – абсолютная масса костной ткани (в кг); L – длина тела (в см); o – средняя величина диаметров дистальных эпифизов плеча, предплечья, бедра, голени; k – коэффициент, равный 1,2.

Далее, исследуемый материал помещался в емкость из термостойкого стекла – объемом 250 мл, в которую прилили 75 мл H_2SO_4 , 75 мл HNO_3 , 35 мл HClO_4 , в соотношении 2:2:1. Длительность фиксации исследуемого материала в смеси кислот составило 35 минут для каждого из отрезков пястной трубчатой кости, как крупного рогатого скота, так и лосей. Заливка биологического материала происходила последовательно. По мере того, как у первых емкостей с исследуемым материалом процесс сжигания завершался, другие заливались смесью кислот и оставались в течение определенного времени (35 минут) для проведения фиксации.

После этого емкости ставились на электроплитки с закрытой спиралью и с регулятором напряжения. На каждую плитку была установлена металлическая сетка.

Сжигание исследуемого материала производили, постепенно увеличивая температуру до тех пор, пока раствор не стал слегка желтоватым и на дне ем-

кости не отложился беловатый осадок (гидроксиапатит кальция) (рис. 1). Время сжигания в смеси кислот костных отрезков составило для крупного рогатого скота 75 минут, для костных отрезков лосей 95 минут. По завершении эксперимента образовавшийся осадок промывался деионизированной водой с последующей фильтрацией. Отфильтрованный осадок высушивался при температуре 65 °С в течение одного часа. По окончании сушки проводили измерение массы высушенного гидроксиапатита кальция.



Рис. 1. Осадок после деминерализации

Результаты исследования

В результате проведенных расчетов с использованием данных из табл. 1, было вычислено абсолютное и относительное количество костного компонента в весе тела. Для крупного рогатого скота абсолютное количество костного компонента составило: 125 кг 503 грамма; относительное количество – 22 % от средней массы тела 570 кг. Для лосей абсолютное количество костного компонента составило соответственно – 84 кг 345 граммов, а относительное количество – 21 % от средней массы тела 400 кг.

Таблица 1

Определение диаметра пястной кости у крупного рогатого скота и лосей ($M \pm m$)

Диаметр кости, см	Вид животного	
	Крупный рогатый скот ($n = 4$)	Лоси ($n = 4$)
Пястная	$7,7 \pm 1,2$	$5,5 \pm 0,7$
Предплечья	$8,0 \pm 1,7$	$7,0 \pm 1,3$
Плечевая	$11,0 \pm 1,9$	$11,0 \pm 1,5$
Плюсны	$7,0 \pm 1,2$	$5,0 \pm 0,9$
Голени	$9,6 \pm 2,0$	$6,5 \pm 1,1$
Бедра	$13,8 \pm 2,1$	$6,7 \pm 1,2$

Из данных табл. 2, видно, что содержание гидроксиапатита кальция в диафизах лосей превышает таковое у крупного рогатого скота на 16-27%; в эпифизах у лосей на 11-25 %.

Таблица 2

Результаты измерения массы костных отрезков после высушивания и осажденного осадка гидроксиапатита кальция у крупного рогатого скота и лосей в возрасте 18 месяцев, в гр. ($M \pm m$)

Участок пястной кости	Крупный рогатый скот ($n = 4$)		Лоси ($n = 4$)	
	До исследования	После исследования	До исследования	После исследования
Диафиз	$51,12 \pm 5,15^*$	$9,56 \pm 0,97^*$	$50,79 \pm 5,13^*$	$11,87 \pm 1,05^*$
Проксимальный эпифиз	$55,97 \pm 5,79^*$	$7,57 \pm 0,81^*$	$53,88 \pm 5,19^*$	$8,95 \pm 0,91^*$
Дистальный эпифиз	$52,45 \pm 5,10^*$	$6,78 \pm 0,78^*$	$51,99 \pm 4,97^*$	$7,88 \pm 0,83^*$

Примечание: * – при $P \leq 0,05$.

Далее изучалась микроморфология кристаллов гидроксиапатита кальция. Морфометрия микроархитектоники кристаллов проводилась в программе «Motic Images Plus 2,0».

Ведущим минералом в костной ткани является гидроксиапатит. Наименьшая структурная единица этого кристалла $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Для образования аморфной фазы формирующейся путем осаждения необходимо наличие оптимальной концентрации ионов Ca^{2+} и HPO_4^{2-} [3, 4]

Процесс образования кристаллов гидроксиапатита происходит в два этапа. Первый – это инициация формирования гидроксиапатита путем эпитакисии на органической матрице или чаще всего на ранее образовавшихся кристаллах. [5] Второй – ускорение перестройки других фаз минералов в гидроксиапатит под влиянием попеременного их рассасывания и осаждения. Морфологические особенности кристаллов у разных видов животных зависят от формирования органического матрикса. Жест-

кая фиксация определяющее неоюходимую пространственную направленность формирования минерала по его осям (длина, ширина, толщина) [6]. Такая жесткая фиксация соответствует структурным особенностям органического матрикса, а это значит и основным линиям механических нагрузок в костном органе зависящих от особенностей среды и условий обитания [1; 2].

Морфологическая структура кристаллов гидроксиапатита определяется их формой и размерами. При проведении ис-

следования были установлены два варианта их формы: короткие пластинчатые имеющие округлые и остроугольные края (крупный рогатый скот) (рис. 2) и стержнеобразные (узкополосные или игольчатые с заостренными скальпелеобразными концами) (лоси) (рис. 3). Кроме того следует отметить и такую особенность кристаллов гидроксиапатита кальция у крупного рогатого скота, как некоторую изогнутость и согнутость проксимально направленных концов пластинок.

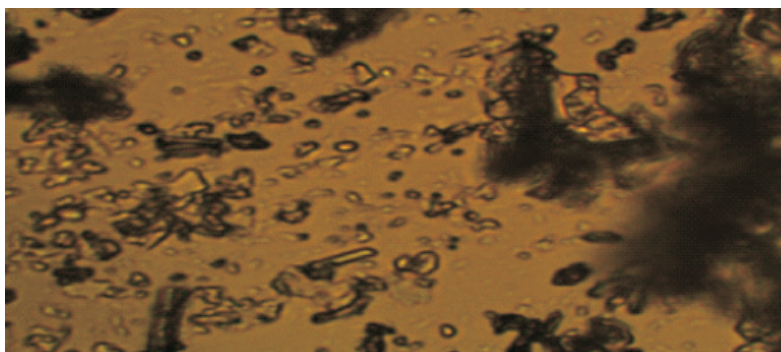


Рис. 2. Микроморфологическая структура гидроксиапатита кальция крупного рогатого скота

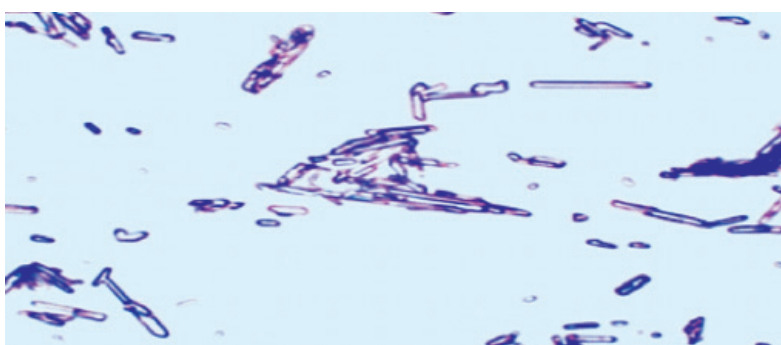


Рис. 3. Микроморфологическая структура гидроксиапатита кальция лосей

Из данных табл. 3, видно, что длина кристаллов гидроксиапатита у лосей в 4,6 раза больше длины у крупного рогатого скота. Это означает, то что органическая матрица, на которой формируется пространственно – конформационная кристаллическая решетка, скорее всего, зависит от непрерывного действия сил сжатия и растяжения.

Таблица 3

Размеры кристаллов гидроксиапатита в костной ткани у крупного рогатого скота ($n = 4$) и лосей ($n = 4$), в возрасте 18 месяцев, в мкм (10^{-6} м)

Изученный вид животного	Ширина	Длина	Толщина
Крупный рогатый скот	$19 \pm 9,5$	$31 \pm 9,0$	$< 2-3,5$
Лоси	30 ± 11	145 ± 23	$< 5-7,0$

Благодаря пространственному расположению центров инициации для первичных кристаллов формируется направление их осей сообразующихся со структурой органического матрикса. На отдалении от коллагеновых фибрилл кристаллические объединения образуют конгломераты, в которых они ориентированы в одном направлении. В зависимости от действия сил сжатия и растяжения, эти конгломераты расположены по отношению к друг другу под разными углами.

Основные формы соединения кристаллов «бок о бок» или «конец в конец». В отношении кристаллов крупного рогатого скота преобладает форма соединения «бок о бок», а в отношении лосей соответственно «конец в конец», что свидетельствует о заметном влиянии физических нагрузок на кости опорных конечностей крупного рогатого скота и лосей.

Выводы:

1. Абсолютное и относительное количество костного компонента в весе тала у крупного рогатого скота превышает таковое у лосей на 6-10 кг в перерасчете веса лосей на вес крупного рогатого скота.

2. Содержание гидроксиапатита кальция в диафизах лосей превышает таковое у крупного рогатого скота на 16-27%; в отношении же эпифизов у лосей на 11-25% превышает содержание кальция у крупного рогатого скота.

3. Кристаллы гидроксиапатита кальция у крупного рогатого скота имеют форму коротких пластинок с округлыми и остроугольными краями.

4. Кристаллы гидроксиапатита кальция у лосей имеют узкополосную (игольчатую) с заостренными скальпелеобразными концами.

5. Длина кристаллов гидроксиапатита у лосей в 4,6 раза больше длины у крупного рогатого скота.

Список литературы

1. Аврунин А.С., Корнилов Н.В. Гипотеза о роли клеток остеоцитарного ряда в формировании стабильной морфологической структуры минералов костного матрикса // Морфология. – 2002. – Т. 122, Вып. 6. – С. 74-77.

2. Аврунин А.С., Корнилов Н.В. Формирование остеопоротических сдвигов в структуре костной ткани. – СПб.: Ольга, 1998.

3. Вилкейм Г.Р. К вопросу минерализации костной ткани / Механизмы регенерации костной ткани. – М.: Медицина, 1972. – С. 189-193.

4. Денисов-Никольский Ю.И., Жилкин Б.А., Докторов А.А. ультраструктурная организация минерального компонента пластинчатой костной ткани у людей зрелого и старческого возраста // Морфология. – 2002. – Т. 122, Вып. 5. – С. 79-83.

5. Корнилов Н.В. Адаптационные процессы в органах скелета. – СПб.: МОРСАР АВ, 2001.

6. Лаврищева Г.И. и Оноприенко Г.А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. – М.: Медицина, 1996.