




original article | UDC 636.2.09:612.75 | doi: 10.31210/visnyk2022.04.23

INFORMATIVENESS OF THE MICROSCOPIC STRUCTURES OF THE DIAPHYSIS OF THE METATARSAL BONES OF FEMALE CATTLE FOR THE FORENSIC AND VETERINARY DETERMINATION OF THEIR AGE


I. Yatsenko^{1*}

ORCID  [0000-0001-8903-2129](https://orcid.org/0000-0001-8903-2129)


S. Tkachuk²

ORCID  [0000-0002-6923-1793](https://orcid.org/0000-0002-6923-1793)


O. Pasnichenko³

ORCID  [0000-0003-0378-8641](https://orcid.org/0000-0003-0378-8641)

L. Savchuk⁴

ORCID  [0000-0002-5720-3533](https://orcid.org/0000-0002-5720-3533)

L. Derecha⁵

ORCID  [0000-0002-6044-2068](https://orcid.org/0000-0002-6044-2068)

¹ State Biotechnological University, Institute of Veterinary Medicine, 1 Akademichna St., Mala Danylivka village, Dergachivskyi district, Kharkiv region, Ukraine, 62341

² National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 15 Heroyiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine

³ Odesa State Agrarian University, 13 Panteleimonivska St., Odesa, Ukraine, 65012

⁴ Higher Educational Institution "Podillia State University", 13 Shevchenka St., Kamianets-Podilskyi, 32316, Ukraine

⁵ National Scientific Center "Institute of Forensic Expertise named after adv. Prof. M. S. Bokarius", 8-a Zolochavska St., Kharkiv, Ukraine, 61177

*Corresponding author

E-mail: yacenko-1971@ukr.net

How to Cite

Yatsenko, I., Tkachuk, S., Pasnichenko, O., Savchuk, L., & Derecha, L. (2022). Informativeness of the microscopic structures of the diaphysis of the metatarsal bones of female cattle for the forensic and veterinary determination of their age. *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, (4), 186–197. doi: 10.31210/visnyk2022.04.23

Based on the analysis of the remains of the skeleton of the limbs, it is possible to establish the species and age of the animal, as well as the peculiarities of the functioning of the movement apparatus during the postnatal period of ontogenesis. Histological studies of bones, in particular the number of microstructures per unit area of the sample, are used to reconstruct the pre-mortem conditions in vertebrates. The aim of the study was to characterize the dynamics of various types of osteons and vascular (Volkmann) channels in the middle third of the diaphysis of the metatarsal bones of cows in the postnatal period of ontogenesis. The material for research was the metatarsal bones of cows of the red-spotted breed from birth to 12 years old. For microscopic studies, sections from the cross-section of the middle of the diaphysis of the metatarsal bones were made according to the generally accepted method. The number of cylindrical-shaped primary and secondary osteons, tertiary, primary and secondary osteons with many channels, their total number and the presence of vascular (Volkmann) channels were studied on the obtained bone section. The number of osteons and Volkmann's canals per unit area of the section of 2.5 mm² was counted. The dynamics of different types of osteons during the postnatal period of ontogenesis have been established. The number of primary osteons of a cylindrical shape in animals increases from birth to 9 months old, reaching a maximum number, and after 9 months it gradually decreases. The number of secondary osteons of a cylindrical shape and secondary osteons with many channels increases throughout the study period and reaches its maximum value in the period from 120 to 144 months. The number of primary osteons with many canals decreases throughout the studied period. In the age period from 60 to 144 months,

tertiary osteons appear in the middle of the diaphysis of the metatarsal bones of cows. The obtained results can be used in forensic veterinary examination to determine the age of cattle during pre-trial investigations.

Keywords: *tubular bone, sections, microscopic studies, postnatal period of ontogenesis.*

ІНФОРМАТИВНІСТЬ МІКРОСКОПІЧНИХ СТРУКТУР ДІАФІЗА КІСТОК ПЛЕСНА САМОК ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ДЛЯ СУДОВО-ВЕТЕРИНАРНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЇХНЬОГО ВІКУ

І. В. Яценко¹, С. А. Ткачук², О. С. Пасніченко³, Л. Б. Савчук⁴, Л. М. Дереча⁵

¹ Державний біотехнологічний університет, Інститут ветеринарної медицини, селище Мала Данилівка, Харківська область, Україна

² Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

³ Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

⁴ Заклад вищої освіти «Подільський державний університет», м. Кам'янець-Подільський, Україна

⁵ Національний науковий центр «Інститут судових експертиз імені засл. проф. М. С. Бокаріуса», м. Харків, Україна

За аналізом решток скелета кінцівок можна встановити вид і вік тварини, а також особливості функціонування апарату руху впродовж постнатального періоду онтогенезу. Для реконструкції передсмертних умов у хребетних тварин використовуються гістологічні дослідження кісток, зокрема кількості мікроструктур на одиницю площі зразка. Метою дослідження було охарактеризувати динаміку різних видів остеонів і судинних (фолькманівських) каналів у середній третині діафіза кісток плесна корів у постнатальному періоді онтогенезу. Матеріалом для досліджень були кістки плесна корів червоно-рябої породи від народження до 12 років. Для мікроскопічних досліджень шліфи з поперечного перерізу середини діафіза кісток плесна виготовляли за загальноприйнятою методикою. На отриманому кістковому шліфі досліджували кількість первинних і вторинних остеонів циліндричної форми, третинних, первинних і вторинних остеонів із багатьма каналами, їх загальну кількість та наявність судинних (фолькманівських) каналів. Підраховували кількість остеонів і фолькманівських каналів на одиниці площі шліфа у 2,5 мм². Встановлено динаміку різних видів остеонів упродовж постнатального періоду онтогенезу. Кількість первинних остеонів циліндричної форми у тварин від народження до дев'яти місяців збільшується, досягаючи максимальної кількості, а після дев'яти місяців поступово зменшується. Кількість вторинних остеонів циліндричної форми і вторинних остеонів із багатьма каналами збільшується впродовж усього періоду дослідження і набуває максимального значення у період від 120 до 144 місяців. Кількість первинних остеонів із багатьма каналами зменшується впродовж усього досліджуваного періоду. У віковий період від 60 до 144 місяців у середині діафіза кісток плесна корів з'являються третинні остеони. Отримані результати можуть бути використані у судово-ветеринарній експертизі для встановлення віку великої рогатої худоби під час досудових розслідувань.

Ключові слова: *трубчаста кістка, шліфи, мікроскопічні дослідження, постнатальний період онтогенезу.*

Вступ

Трубчаста кістка є сполучною тканиною, у якій відбуваються важливі метаболічні та механічні функції. Кістки можна класифікувати за формою та макроскопічною чи мікроскопічною структурою. Основною одиницею кістки є мінералізована колагенова фібрила, і на кожному рівні її організації від субнаноскопічного до макроскопічного вона високо впорядкована та ієрархічна. Ця структура безпосередньо пов'язана з механічними властивостями губчастої речовини та кортикального шару кістки. Кістка також містить популяцію клітин, включаючи остеобласти, остеокласти та остецити. Складна взаємодія між цими типами клітин відповідає за метаболічні функції кісток та їхню здатність відновлюватись та адаптуватися до дії стресу [1].

Остеологічні дослідження ґрунтуються на ідентифікації, встановленні походження чи отриманні додаткової інформації про тварину, наприклад, під час досудового розслідування. Саме тому, що

після смерті тварини для дослідження залишається доступним лише скелет [2], і відомо, що кісткова тканина здатна самоадаптуватися до різних змін у довкіллі як механічного, так і біологічного походження [3, 4].

Диференціація скелетних залишків тварин і людини є важливою під час дослідження та інтерпретації скелетної травми для можливого встановлення часу після смерті, впливу опромінення, наслідків пожежі, що призводять до часткової або повної скелетонізації [5]. Крім цього, встановлення віку людини за рештками скелета є основним напрямом судово-антропологічного аналізу. На сьогодні для розв'язання актуальних проблемних питань необхідно досліджувати тафономічний вплив на скелет, застосовуючи його різні анатомічні ділянки та зубну пульпу, а також розширювати перелік методів оцінки стану скелета, зокрема методів гістологічних і математичних досліджень, варіації популяцій чи біохімічного аналізу [6]. У судовій остеології кінцевою метою аналізу скелетних решток тварин є встановлення біологічного профілю або набору характеристик, які мала тварина впродовж постнатального періоду онтогенезу, і які можна використовувати для її ідентифікації після смерті [7]. Адже відомо, що структура кісток різних видів ссавців дуже різниться і корелює з розміром тіла та способом життя тварини [8].

Ідентифікація видів ссавців є одним із важливих питань криміналістичної науки [2]. Визначення походження біологічного матеріалу, виявленого на місцях злочинів, може збільшити можливість встановлення правопорушника шляхом звуження кола підозрюваних. Незважаючи на те, що розроблено низку методів, заснованих на використанні мітохондріальної ДНК, залишаються труднощі щодо економічно-ефективної ідентифікації видів за деградованими зразками. Зразки можуть містити суміш ДНК багатьох видів тварин, потребувати удосконалення та стандартизації процедури ідентифікації різних видів ссавців [9].

У сучасній юридичній та судовій медицині важливу роль відіграє гістоморфометрія кісткової тканини. Оцінка морфологічних і морфометричних параметрів мікроскопічних характеристик трубчастих кісток тварин і птиці допомагає диференціювати їх у видовому [10–12] й віковому [13, 14] аспектах.

Для реконструкції передсмертних умов, у яких перебували хребетні тварини, використовуються гістологічні дослідження кісток, зокрема дослідження будови та морфометрії остеонів. Кісткова тканина впродовж життя тварини зазнає модифікацій у відповідь на різні фізичні та екологічні чинники. Доведено, що у трубчастих кістках хребетних тварин розмір, форма, а також розподіл остеонів відображають зміни, спричинені умовами довкілля (міграція, утримання, особливості використання, способу життя, характер годівлі тощо) [12]. Водночас властивості трубчастої кістки найкраще можна оцінити за будовою остеона, який є основною функціональною одиницею компактної кісткової тканини [15].

Серед низки гістоморфологічних характеристик трубчастих кісток тварин і людей, які можуть впливати на механічні властивості компактної кісткової тканини, є вторинний остеон (система Гаверса). Щільна компактна кісткова тканина є у стегновій кістці у великої рогатої худоби. Під час порівняння мікроструктурних характеристик трубчастих кісток у великої рогатої худоби та овець встановлено міжвидову різницю у щільності остеонів, середнє значення якої у великої рогатої худоби на 37 % вище, ніж у овець. Остеони у плечовій кістці вівці округлої форми, а у стегновій кістці корови – еліптичної. В обох видів тварин у компактній кістковій тканині стегнової кістки остеони мають форму еліпса на відміну від остеонів у плечовій кістці. Незважаючи на те, що маса тіла великої рогатої худоби більше у понад 10 разів, ніж вівці, розміри остеонів і гаверсових каналів схли (значення співвідношення остеонів у трубчатій кістці вівці та великої рогатої худоби від 1,04 до 1,86). Автори [16] доводять, що маса тіла не впливає на розмір мікроструктур досліджуваних трубчастих кісток, та ймовірно, компактна кісткова тканина більш чутлива до дії факторів довкілля, таких як спосіб життя та рухова здатність тварин.

Також під час порівняння двох стегнових кісток людини були виявлені істотні відмінності у щільності остеонів, що надає можливість оцінити не лише міжвидові, але й міжіндивідуальні відмінності розподілу остеонів [17].

Для оцінки мікроструктур компактної кісткової тканини вчені застосовують не один, а кілька методів, що дозволяє отримати достовірні результати, зокрема під час дослідження гістологічних зрізів середньої частини діафіза трубчастих кісток за допомогою класичних і порівняльних статистичних методів, а також методу розпізнавання зразків. Водночас були отримані кількісні

характеристики мікроструктури, зокрема видові параметри: форма остеону (площа поперечного перерізу, коловість та еліптичність остеону), площа, периметр, діаметри первинних і вторинних остеонів, діаметр каналів Гаверса, щільність остеонів у кітках овець, кіз, козуль, оленів, шимпанзе [18, 19, 12], домашніх свиней та диких кабанів [10].

Отже, за мікроскопічними характеристиками компактної кісткової тканини середньої частини діяфіза трубчастих кісток є можливість визначити вид тварини та тип кістки, а також вік, стать, умови утримання, продуктивність тварини до загибелі.

У науковій літературі відсутні дані щодо остеологічних алгоритмів визначення віку великої рогатої худоби. Вважаємо, що отримання таких результатів було би суттєвим удосконаленням для судово-ветеринарної остеології.

Мета дослідження – охарактеризувати динаміку різних видів остеонів і судинних (фолькманівських каналів) у середній третині діяфіза кісток плесна корів у постнатальному періоді онтогенезу.

Для досягнення поставленої мети необхідно розв'язати такі *завдання*: отримати шліфи із середини діяфіза кісток плесна корів, підрахувати кількість остеонів і судинних (фолькманівських) каналів і проаналізувати їх вікові зміни.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проводили 2021 року на базі Бюро судових експертиз Державного біотехнологічного університету, Інституту ветеринарної медицини і тваринництва Дергачівського району Харківської області. Дослідним матеріалом були кістки плесна, відібрані від 63-х голів самок великої рогатої худоби (від народження до 12 років), червоно-рябої породи (молочний напрям продуктивності). Тварини за віком були розділені на дев'ять дослідних груп: перша вікова група – від народження до 2 місяців; друга вікова група – від 2 до 5 місяців; третя вікова група – від 5 до 9 місяців; четверта вікова група – від 9 до 14 місяців; п'ята вікова група – від 14 до 20 місяців; шоста вікова група – від 20 до 36 місяців; сьома вікова група – від 30 до 60 місяців; восьма вікова група – від 60 до 120 місяців; дев'ята вікова група – від 120 до 144 місяців. У кожній віковій групі було по сім голів тварин.

Кістки плесна відбирали після забою від великої рогатої худоби, яка за клінічними показниками була здоровою. Забій здійснювали з дотриманням чинних ветеринарно-санітарних вимог. Кістки плесна від клінічно здорового молодняка великої рогатої худоби, який не досяг забійного віку (до 14 діб), відбирали за наявних випадків вимушеного забою.

Від м'яких тканин кістки звільняли шляхом препарування.

Для проведення гістологічних досліджень з кісток плесна випилювали стовпчик із середньої третини діяфіза.

Кісткові шліфи виготовляли відповідно до загальноприйнятої методики [20]. Проводили мікроскопію кісткового шліфа, застосовуючи мікроскоп фірми Leica DM 1000, Німеччина.

На отриманому кістковому шліфі досліджували кількість первинних і вторинних остеонів циліндричної форми, третинних, первинних і вторинних остеонів з багатьма каналами, їх загальну кількість та наявність судинних каналів (Фолькмана).

Фотознімки кісткових шліфів отримували за допомогою фотокамери (Canon EOS 4000D BK 18-55, Китай), а також сканували кістки сканером (Canon CanoScan LIDE 300, Китай).

Залежність між віком великої рогатої худоби та досліджуваними мікроскопічними елементами компактної кісткової тканини з'ясовували за допомогою регресійного аналізу. Для цього використовували програмні комп'ютерні пакети «Microsoft Excel», «Maple-9» та проводили варіаційно-статистичне опрацювання цифрових даних. Середню арифметичну та її похибку, достовірність обчислювали за таблицею Стьюдента ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$).

Результати дослідження та їх обговорення

Мікроструктура компактної кісткової тканини діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби є різною за своїм складом. Зважаючи на це, дослідження мікроструктури компактної кісткової тканини здійснювали в різних полях зору мікроскопу, починаючи від зовнішніх у напрямі до внутрішніх генеральних пластин.

У результаті проведених досліджень з'ясовано, що в середині діяфіза кісток плесна новонароджених тварин великої рогатої худоби кількість остеонів у компактній кістковій тканині є найменшою порівняно з тваринами інших вікових груп (табл. 1).

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

1. Динаміка остеонів різних видів і фолькманівських каналів компактної кісткової тканини середньої третини діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби ($M \pm m, n=7$)

Вікові групи, міс.	Види остеонних структур на одиниці площі шліфа						Судинні канали
	Первинний остеон циліндричної форми	Вторинний остеон циліндричної форми	Третинні	Первинний остеон із багатьма каналами	Вторинний остеон із багатьма каналами	Загальна кількість остеонів	
1. 0–2	50,30±3,12	0,30±0,02	-	14,70±0,90	0,20±0,02	65,60±4,02	23,10±1,41
2. 2–5	50,80±3,13	0,80±0,05 ***	-	15,30±0,94	0,30±0,01 ***	67,10±4,11	24,10±1,76
3. 5–9	58,3±3,62	1,50±0,06 ***	-	7,30±0,45 ***	0,30±0,02 ***	67,40±4,13	12,80±0,78
4. 9–14	56,3±3,47 *	2,10±0,13 **	-	9,30±0,57 *	0,50±0,03 ***	68,20±4,18	10,20±0,62 *
5. 14–20	51,1±3,12	8,30±0,51 ***	-	7,90±0,48	1,50±0,09 ***	68,80±4,21	9,30±0,57
6. 20–36	45,3±2,83	23,0±1,41 ***	-	1,20±0,07 ***	0,80±0,05 ***	70,30±4,30 ***	14,30±0,88 ***
7. 36–60	28,7±1,83 ***	39,70±2,43 ***	-	2,15±0,13 ***	2,60±0,16 ***	73,15±4,48 ***	15,80±0,97
8. 60–120	20,8±1,34 **	55,50±3,39 **	1,50±0,51	0,30±0,02 ***	1,50±0,09 ***	79,0±4,84	12,80±0,78
9. 120–144	11,0±0,72 ***	64,10±3,94	3,30±1,30	0,50±0,03	2,25±0,14 ***	81,20±4,97	11,30±0,69

Примітки: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ – порівняно з показниками попереднього віку.

З таблиці 1 видно, що за отриманими результатами динаміки мікроструктурних параметрів кісткової тканини середньої третини діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби на одиниці площі шліфа впродовж усього дослідження прослідковується статистично значима різниця. Натомість, у середній третині діяфіза кісток плесна тварин, що належали до першої вікової групи, тобто віком від народження до двох місяців за досліджуваними показниками статистично значимої різниці не було встановлено. Водночас компактна кісткова тканина кісток плесна на 76,7 % складається з первинних остеонів циліндричної форми, на 22,4 % – первинних з багатьма каналами, на 0,45 % – вторинних циліндричної форми і на 0,30 % – вторинних остеонів з багатьма каналами порівняно із загальною кількістю остеонів. Структура більшості досліджених остеонів – без чітких ліній цементації через слабку мінералізацію кісткової тканини, адже в цей віковий інтервал остеонні структури перебувають на стадії морфофункціональної незрілості (рис. 1; 2).

У тварин аналізованого вікового інтервалу спостерігається достатньо розгалужена мережа судинних каналів у компактній кістковій тканині кісток плесна тварин (рис. 1; 3). Добре розвинуте кровопостачання кісток у тварин цього вікового інтервалу підтверджується тим, що канали остеонів пронизують її поперечний переріз за всією товщиною.

У середній третині діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби другої дослідної групи (віковий інтервал 2–5 місяців) мікроструктура компактної кісткової тканини кісток плесна порівняно з попередньою віковою групою, суттєво не змінюється.

Розвиток фолькманівських каналів, збільшення їх кількості пов'язано з розподілом механічних навантажень на кістку протягом постнатального періоду онтогенезу. Інші автори довели, що гаверсові канали розвиваються паралельно навантаженню, а фолькманівські – за концентрацією напруження, та власне обсяг концентрації напруги залежить від розміру каналу та відстані між ними і відіграє важливу роль у характеристиках міцності кісткової кістки [21].

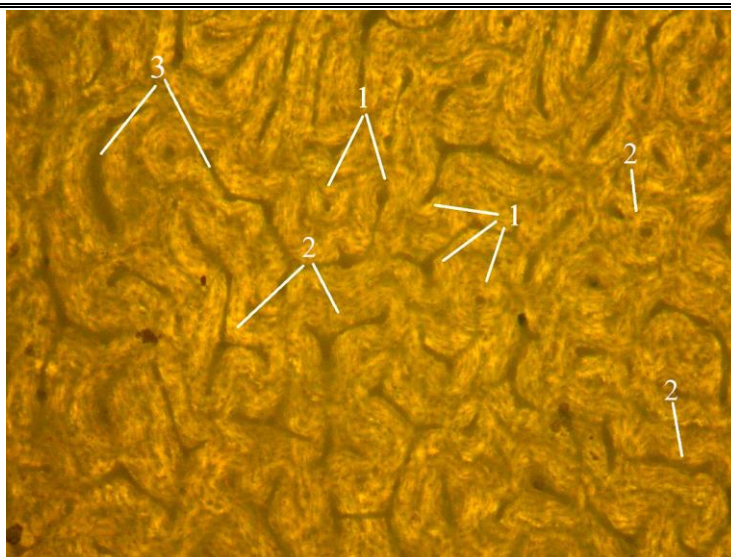


Рис. 1. Мезостальний шар компакної кісткової тканини середньої третини діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби (1,5 місяці). Мікрофото, карбонізований шліф, 10×4
1 – первинний остеон циліндричної форми, 2 – первинний остеон з багатьма каналами, 3 – судинний канал

Активність перебудови компакної кісткової тканини проявляється розсмоктуванням морфологічно незрілих структурних компонентів і заміною їх на більш зрілі. Зазначені явища супроводжуються утворенням лакун резорбції (рис. 2; 5).

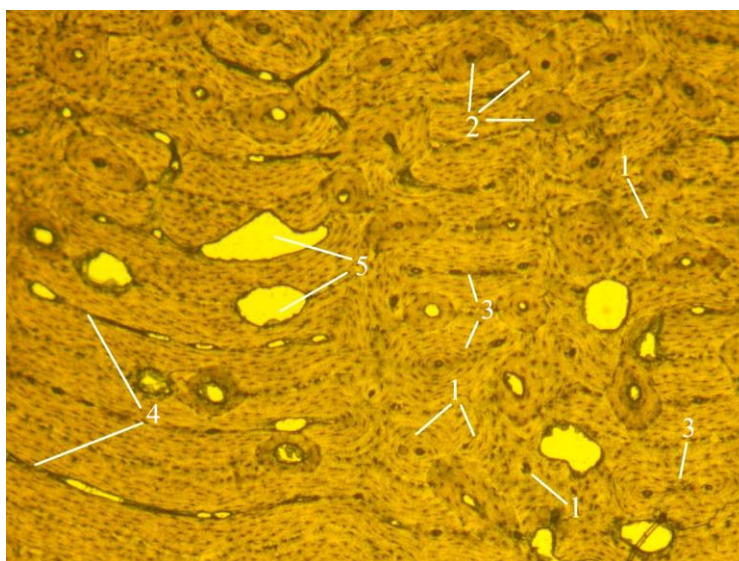


Рис. 2. Мезостальний шар компакної кісткової тканини середньої третини діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби (5 місяців). Мікрофото, карбонізований шліф, 10×4
1 – первинний остеон циліндричної форми 2 – вторинний остеон циліндричної форми, 3 – первинний остеон із багатьма каналами, 4 – судинний канал, 5 – лакуна резорбції

Із наведених показників у таблиці 1 видно, що в цей віковий період кількість вторинних остеонів циліндричної форми достовірно збільшується у 2,67 раза ($P < 0,001$), а вторинних з багатьма каналами – у 1,5 раза ($P < 0,001$) порівняно з попереднім віковим періодом. Проте за іншими видами остеонів статистично значимої різниці не спостерігали.

У середній третині діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби третьої дослідженої групи (віком 5–9 місяців) кількість остеонів продовжує поступово збільшуватися (на 0,4%) порівняно з попереднім віковим періодом (табл. 1). На цьому етапі серед усіх остеонів переважають первинні остеони циліндричної форми, кількість яких збільшується на 14,8%.

Частка первинних остеонів циліндричної форми становить 86,5 % порівняно із загальною кількістю остеонів у середній третині діяфіза кісток плесна тварин зазначеного віку. Водночас кількість вторинних остеонів циліндричної форми достовірно збільшується на 87,5 % ($P < 0,001$) і вторинних остеонів з багатьма каналами – на 50 % ($P < 0,001$) порівняно з попереднім віковим періодом. Проте у кістковій тканині середньої третини діяфіза кісток плесна кількість первинних остеонів із багатьма каналами достовірно зменшується на 52,3 % ($P < 0,001$) проти попереднього вікового періоду.

Результати наших досліджень збігаються з результатами інших авторів, про те, що структура компактної кісткової тканини трубчастих кісток дорослої великої рогатої худоби представлена сформованими гаверсовими системами, що складаються загалом із вторинних остеонів [22].

У середній третині діяфіза кісток плесна тварин четвертої вікової групи (від 9 до 14 місяців) загальна кількість остеонів збільшується на 1,2 % порівняно з такими у попередньої вікової групи. За такої умови загальна кількість первинних остеонів циліндричної форми достовірно зменшується на 3,4 % ($P < 0,05$), а кількість первинних остеонів із багатьма каналами, а також вторинних остеонів циліндричної форми і вторинних остеонів із багатьма каналами достовірно збільшується на 27,4 % ($P < 0,05$), на 40,0 % ($P < 0,01$) і на 66,7 % ($P < 0,001$) відповідно, порівняно з такими у попередньої вікової групи (табл. 1).

Збільшення кількості вторинних остеонів (систем Гаверса) свідчить про ступінь мінералізації компактної кісткової тканини кісток плесна. Автори [23] встановили наявність як демінералізованого матриксу в окісті, так і мінералізованого – в ендостальній частині кістки.

І в цей віковий період найбільша кількість остеонів представлена первинними остеонами циліндричної форми (рис. 3, 1) – 82,5 %. Водночас кількість вторинних остеонів циліндричної форми (рис. 3; 2) становить 3,1 %, первинних остеонів з багатьма каналами (рис. 3; 3) – 13,6 %, вторинних остеонів з багатьма каналами (рис. 3; 4) – 0,7 % порівняно із загальною їх кількістю (табл. 1).

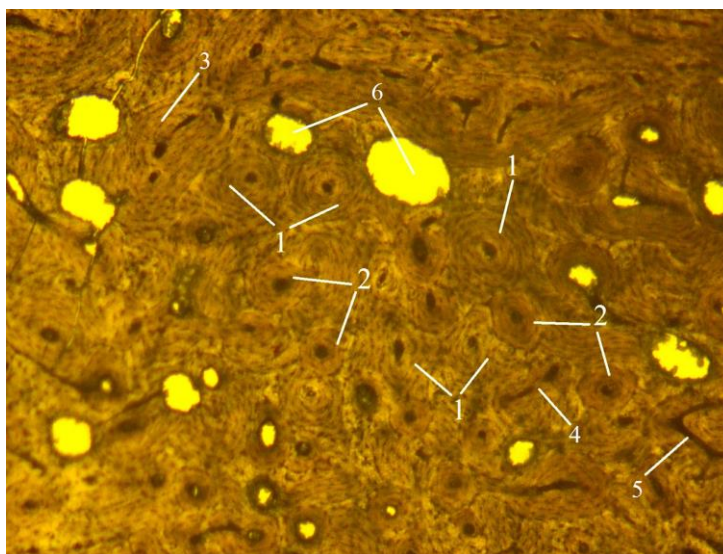


Рис. 3. Мезостальний шар компактної кісткової тканини середньої третини діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби (12 місяців). Мікрофото, карбонізований шліф, 10×4
 1 – первинний остеон циліндричної форми, 2 – вторинний остеон циліндричної форми, 3 – первинний остеон із багатьма каналами, 4 – вторинний остеон із багатьма каналами, 5 – судинний канал, 6 – лакуна резорбції

Кількість судинних каналів (рис. 3; 5) у ділянці поперечного перерізу компактної кісткової тканини тіла кісток плесна корів достовірно зменшується на 20,3 % ($P < 0,05$). Продовжують реєструватися резорбційні лакуни (рис. 3; 6).

У середній третині діяфіза кісток плесна тварин п'ятої вікової групи (від 14 до 20 місяців) сумарна кількість остеонів на одиниці площі мікропрепарату компактної кісткової тканини має тенденцію до збільшення порівняно з такими у попередній віковій групі.

Кількість первинних остеонів циліндричної форми, а також первинних остеонів з багатьма каналами характеризується тенденцією до зменшення на 9,2 і 15,1 % відповідно, порівняно з

попередньою віковою групою. Водночас кількість вторинних остеонів циліндричної форми і вторинних остеонів із багатьма каналами достовірно збільшується на 295,2 % ($P < 0,001$) і 200 % ($P < 0,001$) порівняно із попередньою віковою групою (табл. 1).

Кількість різних форм остеонів (табл. 1) компактної кісткової тканини середини діяфіза кісток плесна тварин цього вікового періоду порівняно з загальною кількістю остеонів така: 74,3 % становлять первинні остеони циліндричної форми, 12,1 % – вторинні остеони циліндричної форми, 11,5 % – первинні остеони із багатьма каналами. Мінімальною виявилась кількість вторинних остеонів із багатьма каналами – 2,2 %. Кількість каналів остеонів має тенденцію до зменшення.

У середній третині діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби шостої дослідної групи (віком 20–36 місяців) загальна кількість остеонних структур достовірно збільшується на 2,2 % ($P < 0,001$) порівняно з попередньою віковою групою. Це явище пояснюється достовірним збільшенням на 177,1 % ($P < 0,001$) кількості вторинних остеонів циліндричної форми. Проте кількість первинних і вторинних остеонів із багатьма каналами достовірно зменшується на 84,8 % ($P < 0,001$) і 46,7 % ($P < 0,001$) відповідно, порівняно з попереднім віковим періодом (табл. 1).

Частка первинних остеонів циліндричної форми (рис. 4; 1) (до загальної кількості остеонних структур) становить 64,4 %, а отже, є максимальною. Натомість, проти тварин попередньої вікової групи, вона має тенденцію до зменшення на 11,3 %. Частка вторинних остеонів циліндричної форми (рис. 4; 2), первинних і вторинних (рис. 4; 3) остеонів із багатьма каналами становить 32,7 %, 1,7 і 1,1 % відповідно, порівняно із загальною кількістю остеонів (табл. 1). Кількість судинних каналів (рис. 4; 4) на одиницю площі середньої третини діяфіза кісток плесна корів достовірно збільшується на 53,8 % ($P < 0,001$) проти тварин попереднього вікового періоду.

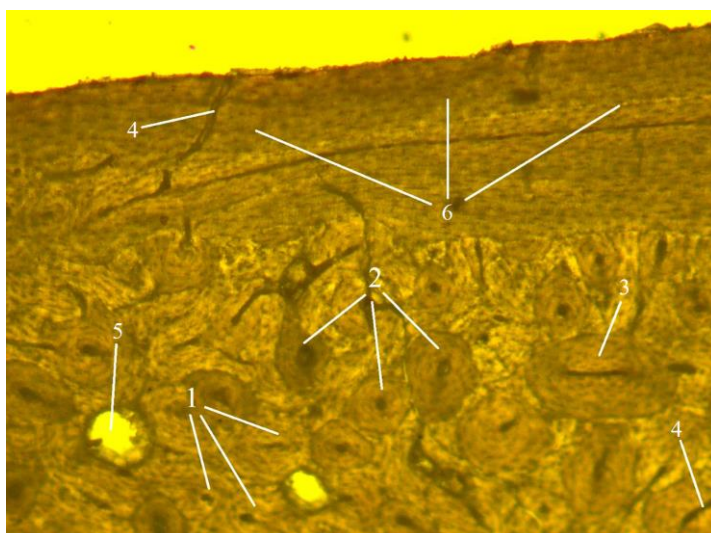


Рис. 4. Периостальний шар компактної кісткової тканини середньої третини діяфіза кісток плесна великої рогатої худоби 36-ти місяців. Мікрофото, карбонізований шліф, 10×4
 1 – первинний остеон циліндричної форми, 2 – вторинний остеон циліндричної форми, 3 – вторинний остеон із багатьма каналами, 4 – судинний канал, 5 – лакуна резорбції, 6 – пластини зовнішні генеральні

У середній третині діяфіза кісток плесна тварин сьомої вікової групи (від 36 до 60 місяців) загальна кількість остеонів достовірно збільшується на 4,1 % ($P < 0,001$) порівняно із тваринами попередньої вікової групи. Серед різних видів остеонів найбільшу частку становлять вторинні остеони циліндричної форми, їх кількість збільшується на 72,6 % ($P < 0,001$). Кількість первинних остеонів із багатьма каналами збільшується на 79,2 % ($P < 0,001$) і вторинних остеонів із багатьма каналами – на 225 % ($P < 0,001$) проти попереднього вікового періоду (табл. 1) (рис. 4). Проте кількість первинних остеонів циліндричної форми достовірно зменшується на 36,6 % ($P < 0,001$). У цей віковий період сформованими є зовнішні генеральні пластини (рис. 4; 6).

Стверджуємо, що у великої рогатої худоби цього вікового інтервалу реєструється різне співвідношення остеонних структур, зокрема частка вторинних остеонів циліндричної форми складає 5,3 % (відповідно до загальної кількості остеонів), і їх на 21,3 % ($P < 0,001$) більше порівняно із попередньою віковою групою.

Кількість первинних остеонів циліндричної форми є максимальною і становить 39,2 % відповідно до загальної кількості остеонів. Найменша відносна кількість первинних і вторинних остеонів із багатьма каналами порівняно з загальною їх кількістю – 2,9 і 3,6 %, відповідно.

Кількість судинних каналів (рис. 4; 4) збільшується на 10,5 % порівняно з попередньою віковою групою.

У середній третині діафіза кісток плесна великої рогатої худоби 8-ї вікової групи (від 60 до 120 місяців) загальна кількість остеонів збільшується на 8,0 % порівняно з попереднім віковим періодом переважно за рахунок утворення остеонів у мезостальному шарі компактної кісткової тканини кісток плесна корів.

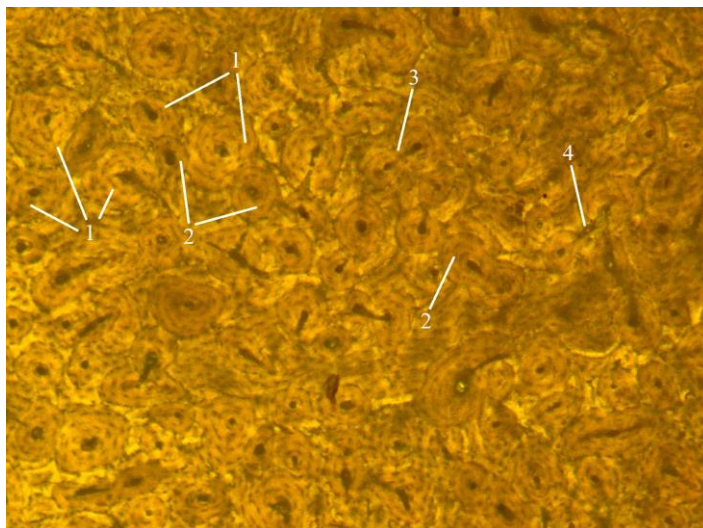


Рис. 5. Мезостальний шар компактної кісткової тканини середньої третини діафіза кісток плесна великої рогатої худоби (120 місяців). Мікрофото, карбонізований шліф, 10×4
1 – вторинний остеон циліндричної форми, 2, 3 – вторинний остеон із багатьма каналами, 4 – судинний канал

Кількість первинних остеонів циліндричної форми, первинних і вторинних остеонів із багатьма каналами достовірно зменшується на 27,5 % ($P < 0,01$), на 86,0 % ($P < 0,001$) і на 42,3 % ($P < 0,001$) відповідно, проти попередньої (7-ї) вікової групи. Натомість, кількість вторинних остеонів циліндричної форми достовірно збільшується на 39,8 % ($P < 0,01$) (табл. 1).

У середній третині діафіза кісток плесна тварин дев'ятої групи (вік тварин становить 120–144 місяців) загальна кількість остеонів збільшується на 2,8 % переважно за рахунок утворення нових остеонів у шарі зовнішніх генеральних пластин порівняно з попереднім віковим періодом (рис. 6; 4).

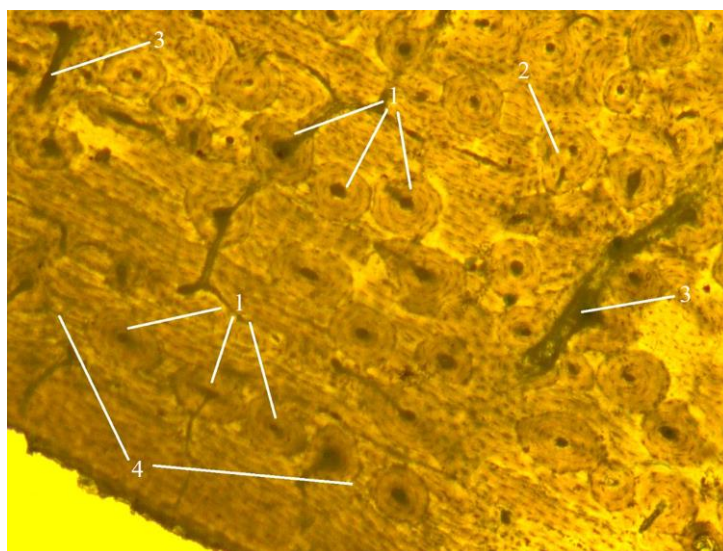


Рис. 6. Периостальний шар компактної кісткової тканини середньої третини діафіза кісток плесна великої рогатої худоби 140 місяців. Мікрофото, карбонізований шліф, 10×4
1 – вторинний остеон циліндричної форми, 2 – вторинний остеон із багатьма каналами, 3 – судинний канал, 4 – пластини зовнішні генеральні

Кількість первинних остеонів циліндричної форми достовірно зменшується на 47,1 % ($P < 0,001$) проти попередньої вікової групи, але кількість інших форм остеонів збільшується, зокрема вторинних остеонів циліндричної форми (рис. 6, 7; 1) на 15,5 %, і остеонів із багатьма каналами на 50,0 % ($P < 0,001$) відповідно, порівняно до таких попереднього віку (табл. 1, рис. 6, 7). Водночас кількість первинних остеонів циліндричної форми достовірно зменшується на 47,1 % ($P < 0,001$).

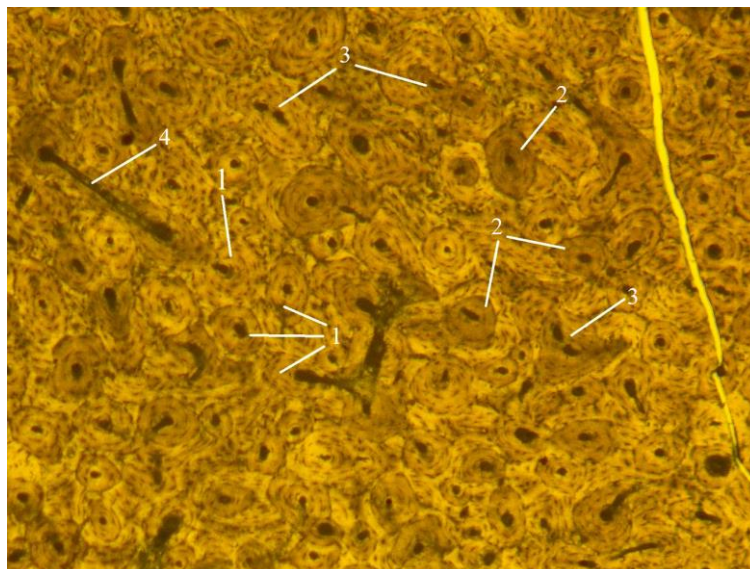


Рис. 7. Мезостальний шар компактної кісткової тканини середньої третини діафіза кісток плесна великої рогатої худоби 140 місяців. Мікрофото, карбонізований шліф, 10×4
1 – вторинний остеон циліндричної форми, 2 – вторинний остеон із багатьма каналами, 3 – третинний остеон; 4 – судинний канал

Компактна кісткова тканина середини діафіза кісток плесна великої рогатої худоби цього віку сформована переважно вторинними остеонами циліндричної форми – 78,9 % (порівняно із загальною кількістю остеонів). Частка первинних остеонів циліндричної форми складає 13,5 %, первинних і вторинних остеонів із багатьма каналами – 0,6 і 2,8 %, відповідно. У цьому віці повністю сформованими є третинні остеони (рис. 7; 3). Поява цього виду остеонів підтверджує продовження процесу ремоделювання кісткової тканини трубчастої кістки у відповідь на розподіл механічних навантажень під час здійснення рухів [24].

Отже, впродовж усього періоду дослідження у середній третині діафіза кісток плесна великої рогатої худоби реєструється закономірність, яка полягає у збільшенні загальної кількості остеонних конструкцій.

Доведено [25], що кожний із досліджуваних структурних параметрів скелета виявляє закономірності, за якими можна пояснити структуру скелета у різних видів ссавців.

Результати наших досліджень узгоджуються з даними, встановленими щодо збільшення з віком кількості остеонів на одиниці площі компактної кісткової тканини трубчастих кісток і наявності гаверсової системи зі згрупованими вторинними остеонами. Під час проведення остеологічних досліджень ці мікроструктурні особливості допомагають констатувати вік тварини на момент настання смерті [22].

Крім цього, за кількістю остеонів на одиницю площі кісткової тканини можна достовірно встановити належність людини до тієї чи тієї національності. За таких умов розмір остеону не змінювався, а з віком за розміром гаверсова каналу прослідковувалася висока варіабельність значень. Отримані результати важливі у судово-медичній експертизі під час оцінки мікроструктур кістки на момент смерті людини [26].

Отже, результати досліджень свідчать, що мікроструктурні параметри кісток плесна залежать від віку великої рогатої худоби. Інші дослідники довели таке припущення і на інших видах тварин. Так, Nganvongpranit et al. (2017) порівнювали структуру остеону у пластинчастих і трубчастих кістках цуценят і дорослих собак за допомогою гістоморфометричних методів дослідження [27]. Вони встановили основні параметри (площу, діаметр Гаверсових каналів та остеонів, кількість лакун на

остеон), за якими з'ясували відмінності у структурі компактної кісткової тканини залежно від віку тварини та виду кістки. Becker et al. (2020), досліджуючи онтогенетичні зміни в середній частині діафіза трубчастої кістки овець, встановили помітну динаміку розподілу кісткової тканини з віком тварини [14].

Висновки

Установлено, що у середній третині діафіза кісток плесна корів у постнатальному періоді онтогенезу загальна кількість остеонів збільшується. Водночас у кістках плесна тварин від 20 до 36-місячного віку загальна кількість остеонів достовірно збільшується на 2,2 % ($P < 0,001$), а від 36 до 60 місячного віку – на 4,1 % ($P < 0,001$) проти попередньої вікової групи. У цей віковий період достовірно збільшується кількість судинних (фолькманівських) каналів і вторинних остеонів циліндричної форми, що свідчить про набування кістковою тканиною дефінітивного стану. Також у ці вікові періоди достовірно зменшується кількість первинних остеонів циліндричної форми і первинних остеонів із багатьма каналами.

У віковий період від 60 до 144 місяців у середині діафіза кісток плесна корів з'являються третинні остеони, що свідчить про активні метаболічні процеси в кістковій тканині.

Отримані результати можуть бути використані для встановлення віку корів за мікроструктурою кісток плесна під час проведення судово-ветеринарної експертизи.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі плануємо дослідити мікроструктуру компактної кісткової тканини кісток пальців великої рогатої худоби залежно від віку.

References

1. Black, J. Dj., & Tadros, B. J. (2020). Bone structure: from cortical to calcium. *Orthopaedics and Trauma*, 34 (3), 113–119. doi: 10.1016/j.mporth.2020.03.002.
2. Zedda, M., Sathe, V., Chakraborty, P., Palombo, M. R., & Farina, V. A. (2020). A first comparison of bone histomorphometry in extant domestic horses (*Equus caballus*) and a Pleistocene Indian wild horse (*Equus namadicus*). *Interactive Zoology*, 15 (6), 448–460. doi: 10.1111/1749-4877.12444
3. Giorgio, I., dell'Isola, F., Andreus, U., Alzahrani, F., Hayat, T., & Lekszycki, T. (2019). On mechanically driven biological stimulus for bone remodeling as a diffusive phenomenon. *Biomechanics and Modeling Mechanobiology*, 18, 1639–1663. doi: 10.1007/s10237-019-01166-w
4. Louis, L. D., Bowie, R. C. K., & Dudley, R. (2022). Wing and leg bone microstructure reflects migratory demands in resident and migrant populations of the Dark-eyed Junco (*Junco hyemalis*). *International Journal of Avian Science*, 164 (1), 132–150. doi: 10.1111/ibi.13008
5. Blau, S. (2017). How traumatic: a review of the role of the forensic anthropologist in the examination and interpretation of skeletal trauma. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 49 (3), 261–280. doi: 10.1080/00450618.2016.1153715
6. Ubelaker, D. H., & Khosrowshahi, H. (2019). Estimation of age in forensic anthropology: historical perspective and recent methodological advances. *Forensic Sciences Research*, 4 (1), 1–9. doi: 10.1080/20961790.2018.1549711
7. Kles, M., & Sutton, L. (2020). Forensic Veterinary Osteology. *Veterinary Forensic Medicine and Forensic Sciences*, 199–224. doi: 10.4324/9781315121918-11
8. Amson, E., & Bibi, F. (2021). Differing effects of size and lifestyle on bone structure in mammals. *BMC Biology*, 19, 87. doi: 10.1186/s12915-021-01016-1
9. Mori, C., & Matsumura, S. (2021). Current issues for mammalian species identification in forensic science: a review. *International Journal of Legal Medicine*, 135, 3–12. doi:10.1007/s00414-020-02341-w
10. Zedda, M., Brits, D., Giua, S., & Farina, V. (2019). Distinguishing domestic pig femora and tibiae from wild boar through microscopic analyses. *Zoomorphology*, 138 (1), 159–170. doi: 10.1007/s00435-018-0426-7
11. Cummaudo, M., Cappella, A., Giacomini, F., Raffone, C., Màrquez-Grant, N., & Cattaneo, C. (2019). Histomorphometric analysis of osteocyte lacunae in human and pig: exploring its potential for species discrimination. *International Journal of Legal Medicine*, 133 (3), 711–718. doi: 10.1007/s00414-018-01989-9
12. Chakraborty, P. (2020). Applications of Bone Histology in Tracking Exploitation Markers: From the Site Inamgaon, Maharashtra. *Anatomy & Biological Anthropology*, 33 (2), 79–97. doi: 10.11637/aba.2020.33.2.79

13. Chausov, M., Pylypenko, A., Maruschak, P., Tkachuk, S., & Menou, A. (2018). Express method to estimate structural imperfection and bone tissue status. *Journal of Mechanical engineering*, 68 (3), 271–280. doi: 10.2478/scjme-2018-0040
14. Becker, M., Witzel, C., Kierdorf, U., Frölich, K., & Kierdorf, H. (2020). Ontogenetic changes of tissue compartmentalization and bone type distribution in the humerus of Soay sheep. *Journal of Anatomy*, 237 (2), 334–354. doi: 10.1111/joa.13194
15. Chen, Y., Hu, X., & Liua, W. (2022). Modelling of bone fracture using the fundamental functional unit – Osteon. *Theoretical and Applied Fracture Mechanics*, 118, 103216. doi: 10.1016/j.tafmec.2021.103216
16. Zedda, M., & Babosova, R. (2021). Does the osteon morphology depend on the body mass? A scaling study on macroscopic and histomorphometric differences between cow (*Bos taurus*) and sheep (*Ovis aries*). *Zoomorphology*, 140, 169–181. doi: 10.1007/s00435-021-00516-6
17. Matsuo, H., Tsurumoto, T., Maeda, Y., Saiki, K., Okamoto, K., Ogami Takamura, K., Kondo, H., Tomita, M., Yonekura, A., & Osaki, M. (2019). Investigating interindividual variations in cortical bone quality: analysis of the morphotypes of secondary osteons and their population densities in the human femoral diaphysis. *Anatomical Science International*, 94, 75–85. doi: 10.1007/s12565-018-0452-z
18. Zedda, M., Palombo, M.R., Brits, D., Carcupino, M., Sathé, V., Cacchioli, A., & Farina, V. (2017). Differences in femoral morphology between sheep (*Ovis aries*) and goat (*Capra hircus*): macroscopic and microscopic observations. *Zoomorphology*, 136, 145–158. doi: 10.1007/s00435-016-0329-4
19. Keenan, K. E., Mears, C. S., & Skedros, J. G. (2017). Utility of osteon circularity for determining species and interpreting load history in primates and nonprimates. *American Journal of Physical Anthropology*, 162 (4), 657–681. doi: 10.1002/ajpa.23154
20. Goldschlager, T., Abdelkader, A., Kerr, J., Boundy, I., & Jenkin, G. (2010). Undecalcified Bone Preparation for Histology, Histomorphometry and Fluorochrome Analysis. *Journal of Visualized Experiments*, 35. doi: 10.3791/1707
21. Loundagina, L. L., & Edwards, W. B. (2020). Stressed volume around vascular canals explains compressive fatigue life variation of secondary osteonal bone but not plexiform bone. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 111, 104002. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104002
22. Kim, J., Hong, J. H., Kim, S., & Shin, D. H. (2022). Anatomical and histological analyses on Cattle and Horse bones of Joseon period discovered at archaeological site in old Seoul city area. *Ancient Asia*, 13 (3), 1–10. doi: 10.5334/aa.266
23. Sabolová, V., Brinek, A., & Sládek, V. (2018). The effect of hydrochloric acid on microstructure of porcine (*Sus scrofa domestica*) cortical bone tissue. *Forensic Science International*, 291, 260–271. doi: 10.1016/j.forsciint.2018.08.030
24. Chang, B., & Liu, X. (2022). Osteon: Structure, Turnover, and Regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 28 (2), 261–278. doi: 10.1089/ten.teb.2020.0322
25. Amson, E., & Bibi, F. (2021). Differing effects of size and lifestyle on bone structure in mammals. *BMC Biology*, 19, 87. doi: 10.1186/s12915-021-01016-1
26. Botha, D., Lynnerup, N., & Steyn, M. (2020). Inter-population variation of histomorphometric variables used in the estimation of age-at-death. *International Journal Legal Medicine*, 134, 709–719. doi: 10.1007/s00414-019-02048-7
27. Nganvongpanit, K., Pradit, W., Pitakarnnop, T., Phatsara, M., & Chomdej, S. (2017). Differences in osteon structure histomorphometry between puppyhood and adult stages in the Golden Retriever. *Anatomical Science International*, 92 (4), 483–492. doi: 10.1007/s12565-016-0345-y

Стаття надійшла до редакції: 28.10.2022 р.

Бібліографічний опис для цитування:

Яценко І. В., Ткачук С. А., Пасніченко О. С., Савчук Л. Б., Дереча Л. М. Інформативність мікроскопічних структур діафіза кісток плесна самок великої рогатої худоби для судово-ветеринарного визначення їхнього віку. *Вісник ПДАА*. 2022. № 4. С. 186–197.

©Яценко Іван Володимирович, Ткачук Світлана Алімівна, Пасніченко Олександра Сергіївна, Савчук Любов Броніславівна, Дереча Лариса Миколаївна, 2022