

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXVIII, 14

SECTIO D

1973

Zakład Histologii i Embriologii. Instytut Biologiczno-Morfologiczny, Wydział Lekarski,
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Jerzy TARACH i Mirosława CZAJA

**Analiza statystyczna niektórych parametrów wielkości systemów Haversa
w szlifach poprzecznych kości udowej u człowieka i zwierząt**

Статистический анализ некоторых параметров величин гаверсовых систем
в поперечных шлифах бедренной кости человека и животных

Statistical Analysis of Some Size Parameters of Haversian Systems in Femoral,
Ground Transverse Sections in Man and Animals

Jednostką strukturalną kości zarówno u ludzi, jak i u zwierząt jest system Haversa, czyli osteon. W związku z tym nasuwa się pytanie, czy i jak dalece różnią się systemy Haversa u ludzi i u zwierząt oraz czy są jakieś różnice międzyosobnicze. W dostępnym piśmiennictwie znaleziono kilka prac, w których autorzy analizują powyższy problem. Wg Amprino i wsp. (1) u kręgowców najprostszy typ budowy trzonów kości wykazują płazy bezogonowe z rodzaju *Bufo*, natomiast najbardziej skomplikowaną budowę posiadają trzony kości większych ssaków. U dziecka w wieku 2 lat istota zbita kości udowej składa się przeważnie z osteonów, podczas gdy u 7 letniego królika zawiera ona jedynie nieliczne osteony (7). Frost (5) dokonał pomiarów systemów Haversa na świeżych, nieodwapnionych skrawkach kości ludzkich (obojęczyk, kość udowa i piszczelowa) i stwierdził, że przeciętne średnice systemów Haversa oraz kanałów Haversa wynosiły odpowiednio 246 i 76 mikronów. U zwierząt różnych gatunków, górna granica wielkości osteonu wynosi około 250 mikronów (7). Jowsey (7) jednak zauważył, że im mniejsze zwierzę tym mniejsza jest wielkość osteonu oraz jego kanału, natomiast u zwierząt większych od małpy, wartości te pozostają w przybliżeniu stałe pomimo wzrostu wielkości ciała.

Również analizowane są zmiany w wyglądzie osteonów, postępujące wraz z wiekiem. Currey (2) twierdzi, że wielkość osteonów w istocie zbitej kości udowej człowieka zmniejsza się w miarę starzenia się, podczas gdy kanały Haversa pozostają zasadniczo tej samej wielkości. Według Jowsey (7) w istocie zbitej kości udowej człowieka osteony posiadają w przybliżeniu tę samą wielkość przez całe życie, natomiast wielkość kanałów Haversa wzrasta wraz z wiekiem. W rozmaitych pomiarach ludzkich systemów Haversa Frost (5) nie stwierdził istotnej różnicy spowo-

dowanej wiekiem lub płcią. Rowland i wsp. (10) natomiast zwrócili uwagę na występowanie gatunkowych różnic w mineralnej gęstości tkanki kostnej, co może prowadzić do istotnych różnic w składzie tkanki kostnej u rozmaitych zwierząt i wyraża się różnicami w wybarwianiu się preparatów szlifów kostnych (Frost, 4). Rogers i wsp. (9) zaś wykazali duże różnice w całkowitej zawartości białka i kolagenu w kościach udowych królika, wołu, oraz człowieka. Praca nasza jest próbą badania porównawczego szlifów poprzecznych kości udowej u niektórych zwierząt i człowieka, w oparciu o pomiary osteonów. Wyniki dokonanych badań i pomiarów ujęte zostały w formę opracowania statystycznego.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania oraz pomiary wykonano na szlifach poprzecznych trzonów kości udowych człowieka, małpy (*Rhesus*), konia oraz świni (tab. 1). Materiał do badań otrzymano z Instytutu Anatomii Zwierząt Akademii Rolniczej w Lublinie, zaś kości ludzkie z Zakładu Anatomii Prawidłowej Instytutu Biologiczno-Morfologicznego Akademii Medycznej w Lublinie. Posługując się piłą elektryczną, dokładnie z części środkowej trzonów kości udowych oraz pod kątem prostym w stosunku do osi długiej kości, wycięto krążki grubości 2—3 mm. Z krążków tych sporządzono na mokro szlify wg metody podanej przez Frossta (3), a cytowanej również przez Małdyka (8). Do szlifowania zastosowano karborundowy, wodoodporny papier ścierny, przy czym szlifowanie rozpoczęto od papieru gruboziarnistego, poprzez średnioziarnisty do drobnoziarnistego. Do zwilżania papieru karborundowego, odpowiednio ułożonego na płycie szklanej, używano wody z niewielkim dodatkiem detergentu. Szlifowano równomiernie obie powierzchnie skrawka. Część tak przygotowanych szlifów barwiono fuksyną zasadową sposobem cytowanym przez Frossta (4). Szlify umieszczano w odpowiednich naczyniach, a następnie dodawano w dostatecznej ilości barwnik w postaci 1% roztworu w 30% alkoholu etylowym. Naczynia szczelnie korkowano i pozostawiano w cieplarni przez 48 godz. w 22°C. Pod koniec okresu barwienia, skrawki przenoszono do wody wodociągowej, a następnie z górnej i z dolnej powierzchni skrawków usuwano nadmiar barwnika drogą szlifowania sposobem opisanym powyżej. Z kolei skrawki płukano w 0,2% roztworze detergentu, suszono na powietrzu i zamykano w balsamie kanadyjskim na szkiełku podstawowym. Drugą część szlifów barwiono wg metody podanej przez Szymonowicza (11): szlify gotowano ostrożnie na łaźni piaskowej w nasyconym roztworze fioletu metylowego i fuksyny w alkoholu absolutnym, do momentu całkowitego wyparowania alkoholu, minimum od 0,5—1 godz. Następnie wyjmowano skrawki z zagęszczonego barwnika, suszono przez 24 godz. w termostacie i dalej bardzo ostrożnie szlifowano na sucho na drobnoziarnistym papierze karborundowym. Z kolei po opłukaniu w ksylenie gotowe już szlify zamykano w balsamie kanadyjskim na szkiełku podstawowym. Średnia grubość otrzymanych do badań szlifów kostnych wynosiła 80 mikronów (tab. 1).

Preparaty oglądano w mikroskopie świetlnym typu MB-30 prod. PZO, a niezbędnych pomiarów systemów Haversa dokonano w mikroskopie projekcyjnym typu MP-3 prod. PZO, zaopatrzonym w podziałkę, przy zachowaniu jednakowych warunków dla wszystkich preparatów. Analiza statystyczna przeprowadzona została w Zakładzie Metod Numerycznych Instytutu Matematyki Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej. Mikrofotografie wykonano przy użyciu mikroskopu Lumipan prod. Carl Zeiss Jena, okular 15 X, obiektyw 10 X, aparatem fotograficznym Exakta Varex IIa.

Tab. 1. Zestawienie materiału wykorzystanego do badań
Specification of material utilized for the investigations

Lb.	Osobniki	Liczba kości udowych	Liczba wykonanych szlifów	Średnia grubość szlif w mikr.
1	Człowiek	5	100	80
2	Małpa (<i>Rhesus</i>)	4	80	30
3	Koń	5	100	80
4	Świnia	4	80	80

WYNIKI BADAŃ I OMÓWIENIE

W obserwowanych przez nas szlifach poprzecznych osteony posiadały najczęściej kształt zbliżony mniej więcej do elipsy, można było wyróżnić w nim średnicę większą i mniejszą. Znacznie mniej było osteonów, których granice miały kształt zbliżony do kolistego. Należałoby zatem sądzić, że nie wszystkie osteony leżą idealnie w osi długiej trzonów kości. Currey (2) przypuszczał jednak, że każda nieregularność osteonu w kształcie lub jego kanałe wynika z niezbyt dokładnego ułożenia osteonu pod kątem prostym w stosunku do płaszczyzny przekroju. Niewątpliwie istotny wpływ na kształty osteonów oraz na kształt i wielkość kanałów Haversa mają procesy przebudowy tkanki kostnej, jakie zachodzą przez całe życie organizmu (6). Z uwagi na to, że osteony o kształtach zbliżonych do kolistego stanowiły mniejszość w badanych szlifach kostnych wszystkich osobników, a ponadto były one dobierane, losowy charakter próby ulegał nieprawidłowości, czego konsekwencją być może były duże wahania w wariancjach. Dalszą analizę oparto więc na osteonach o kształcie zbliżonym do elipsy, które były losowane prawidłowo. Dokonano pomiarów wielkości systemów Haversa, w poszczególnych badanych grupach, mierząc średnice — większą i mniejszą osteonów, średnice — większą i mniejszą kanałów Haversa oraz obliczano liczbę blaszek kostnych w poszczególnych analizowanych osteonach (tab. 2).

Tab. 2. Średnie wartości dokonanych pomiarów (średnice w mikr.)
The mean values of performed measurements (diameters in μ)

	Człowiek	Małpa	Koń	Świnia
Osteony				
Średnica większa	255,26	207,5	245,10	229,28
Średnica mniejsza	174,48	140,27	165,44	161,18
Kanał H				
Średnica większa	66,23	43,61	53,27	46,01
Średnica mniejsza	43,07	30,33	26,40	31,03
Liczba blaszek	14,38	9,18	10,09	10,09

Tab. 3. Wartości funkcji testowej F
The values of test function F

	Człowiek	Małpa	Koń	Świnia
O s t e o n y				
Średnica większa	1,17	3,94	11,70	0,87
Średnica mniejsza	0,69	1,83	4,32	1,57
K a n a ł H				
Średnica większa	0,44	5,66	0,10	0,40
Średnica mniejsza	1,08	8,33	0,99	0,78
Liczba blaszek	0,28	1,55	2,98	3,77

Na podstawie otrzymanych wyników można rozpatrywać, posługując się metodami statystycznymi, następujące zagadnienia: (1) zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe, tj. międzyosobnicze na tle zmienności wewnątrzosobniczej, (2) zróżnicowanie międzygatunkowe oraz (3) korelacje między rozpatrywanymi cechami.

(1) W celu rozstrzygnięcia pierwszego zagadnienia przeprowadzono analizę wariancji w obrębie każdego gatunku, dla każdej cechy osobno przy jednej zasadzie klasyfikacji: osobniki. Tab. 3. zestawia wyniki tej analizy w postaci wartości funkcji testowej F, przy czym wartością krytyczną wspólną dla całej tabeli, przy ryzyku błędu 5%, jest 3,19.

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej, stwierdzono istnienie zmienności międzyosobniczej u konia dla obu wymiarów osteonów, u małpy dla osi większej osteonu oraz dla obu wymiarów kanału Haversa, natomiast u świni zróżnicowanie istotne tylko w odniesieniu do liczby blaszek, ponieważ pod tym względem pozostałe gatunki się nie różnią. Człowiek nie wykazuje w żadnej cesze zróżnicowania międzyosobniczego.

(2) W celu sprawdzenia, czy istnieją różnice międzygatunkowe, wyznaczono półprzedział ufności wg Scheffégo. Półprzedział ten wynosi dla średnicy większej osteonu 33,56, dla średnicy mniejszej — 22,72, dla średnicy większej kanału Haversa — 24,00, dla średnicy mniejszej — 20,01, dla liczby blaszek 1,41. W ten sposób dla średnicy większej i mniejszej osteonu stwierdzono istnienie różnic międzygatunkowych pomiędzy małpą a koniem i człowiekiem. Natomiast nie można było wykazać różnic między koniem, człowiekiem i świnia. Nie można zaobserwować istnienia różnic międzygatunkowych w wymiarach kanału Haversa dla żadnego z rozpatrywanych gatunków. W liczbie blaszek występuje różnica między człowiekiem a pozostałymi gatunkami, które z kolei nie różniły się między sobą.

(3) Współczynniki korelacji między wymiarami tak osteonu, jak i ka-

nału wskazują na dużą zależność rzędu 0,82—0,93 z jednym wyjątkiem konia dla kanału Haversa — 0,32. Osie większe osteonu i kanału wykazują znacznie słabszą korelację, gdzie współczynnik korelacji waha się od 0,45 (człowiek) do 0,67 (koń); jeszcze mniejszą zależność wykazują osie małe osteonu i kanału $r = 0,37—0,59$. Liczba blaszek najsilniej koreluje z osią większą osteonu $r = 0,77—0,90$.

Badania oraz pomiary wykonano na preparatach trzonów kości udowych pochodzących od dorosłych osobników. Tkanka kostna jednak charakteryzuje się dużą plastycznością biologiczną. Na jej strukturę wewnętrzną, a co za tym idzie na kształt i wielkość osteonów oraz ich kanałów, liczbę blaszek kostnych, mogą mieć wpływ różnego rodzaju czynniki np. wiek osobnika, dieta, obciążenia mechaniczne, gatunek zwierzęcia i wpływy hormonalne. Na podstawie otrzymanych wyników badań statystycznych dotyczących: (1) zróżnicowania wewnątrzgatunkowego, tj. międzyosobniczego na tle zmienności wewnątrzosobniczej, (2) zróżnicowania międzygatunkowego oraz (3) korelacji między rozpatrywanymi cechami, można zauważyć, że: 1) człowiek nie wykazuje w żadnej cesze zróżnicowania międzyosobniczego, 2) nie można zaobserwować istnienia różnic międzygatunkowych w wymiarach kanału Haversa dla żadnego z rozpatrywanych gatunków, 3) liczba blaszek najsilniej koreluje z osią większą osteonu. Prześledzenie oddziaływania rozmaitych czynników na wewnętrzną, mikroskopową strukturę kości u człowieka i różnych zwierząt może stanowić temat dalszych interesujących prac badawczych.

PIŚMIENNICTWO

1. Amprino R., Godina G.: *Atti della Accademia Nazionale dei Lincei* 1/2, 648—654, 1946.
2. Currey J. D.: *J. Anat.* 98, 69—75, 1964.
3. Frost H. M.: *Stain Technology* 33, 273—277, 1958.
4. Frost H. M.: *Stain Technology* 34, 135—145, 1959.
5. Frost H. M.: *Henry Ford Hosp. Med. Bull.* 9, 145—147, 1961.
6. Gładyszew J. M.: *Arch. Anat. Gistoł. Embriol.* 52, 99—109, 1967.
7. Jowsey J.: *J. Anat. (Lond.)* 100, 4, 857—864, 1966.
8. Małdyk E.: *Reumatologia* 8, 67—71, 1970.
9. Rogers H. J., Weidmann S. M., Parkinson A.: *Biochem. J.* 50, 537—542, 1952.
10. Rowland R. E., Jowsey J., Marshall J. H.: cyt. za Jowsey J. poz. 7.
11. Szymonowicz W.: *Podręcznik Histologii i Anatomii Mikroskopowej*, Lwów—Warszawa, 1921, s. 513.

Otrzymano 23 II 1973.

OBJAŚNIENIA DO RYCIŃ

Ryc. 1. System Haversa w szlifie poprzecznym trzonu kości udowej człowieka. Mikroskop Lumipan C. Zeiss, Jena. Obiektyw 10 X. Okular 15 X. Mikrofot. Exakta Varex Ila.

Рис. 2. System Haversa w szlifie poprzecznym trzonu kości udowej małpy (Rhesus). Mikroskop Lumipan C. Zeiss, Jena. Obiektyw 10 X. Okular 15 X. Exakta Varex IIa.

Рис. 3. System Haversa w szlifie poprzecznym trzonu kości udowej konia. Mikroskop Lumipan C. Zeiss, Jena. Obiektyw 10 X. Okular 15 X. Mikrofot. Exakta Varex IIa.

Рис. 4. System Haversa w szlifie poprzecznym trzonu kości udowej świni. Mikroskop Lumipan C. Zeiss, Jena. Obiektyw 10 X. Okular 15 X. Mikrofot. Exakta Varex IIa.

РЕЗЮМЕ

Были приготовлены поперечные шлифы тел бедренных костей человека, обезьяны, лошади и свиньи. Проведены измерения величин гаверсовых систем в отдельных экспериментальных группах. Измерялись также большой и меньший диаметр остеонов, большой и меньший диаметр каналов Гаверса, а также было подсчитано число костных пластинок в изучаемых остеонах. На основании полученных результатов статистических исследований относительно: 1) внутривидовой дифференциации (межиндивидуальной) на фоне изменчивости, наблюдаемой между индивидами одного вида; 2) межвидовой дифференциации; 3) корреляции между рассматриваемыми особенностями, можно сделать следующие выводы:

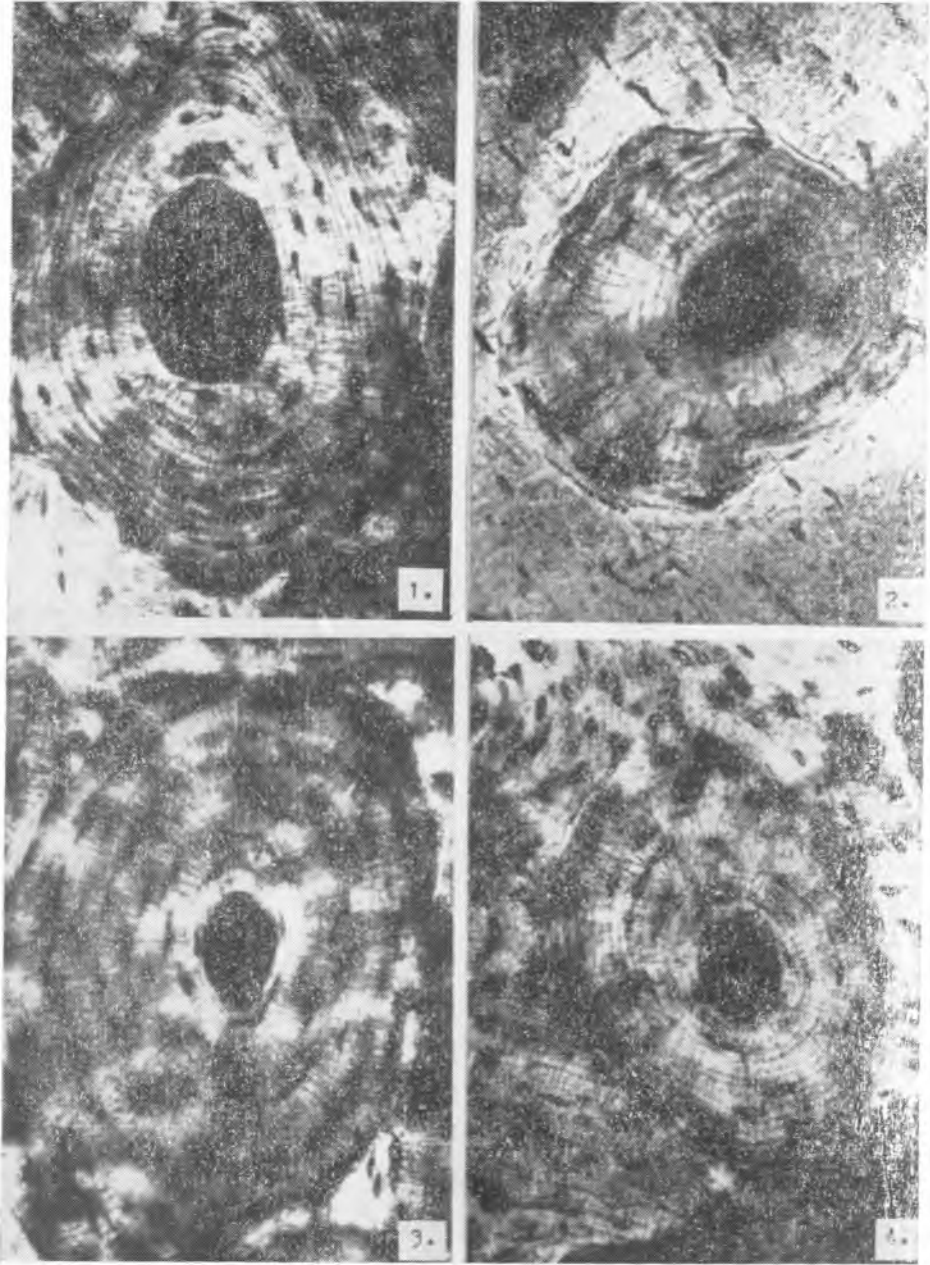
а) межиндивидуальная дифференциация совершенно не наблюдается у человека;

б) не замечено существования межвидовых различий в размерах канала Гаверса ни у одного из рассматриваемых животных;

в) число костных пластинок сильнее всего коррелирует с большим диаметром остеона.

SUMMARY

Ground transverse sections have been made from the femoral diaphysis of man, monkey (Rhesus), horse and pig. Size measurements of Haversian systems were performed in respective studied groups. The following parameters have been measured: minor and major diameters of osteones, minor and major diameters of Haversian canals as well as the quantities of bone lamellae were computed in analysed osteones. On the ground of the obtained results of statistical investigations relating to (1) intraspecies differentiation i. e. interindividual one against a background of intraindividual variability, (2) interspecies differentiation and (3) correlation between considered features, it is possible to notice that: 1) a man doesn't show interindividual differentiation in any feature, 2) one cannot observe the existence of interspecies differences in the dimensions of



Haversian canal for any of the considered species, 3) a number of bone lamellae most strongly correlate with major diameter of osteone.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Haversian system in ground transverse section of femoral diaphysis of man. Microscope Lumipan C. Zeiss, Jena. Objective 10 X. Ocular 15 X. Microphot. Exakta Varex IIa.

Fig. 2. Haversian system in ground transverse section of femoral diaphysis of a monkey (Rhesus). Microscope Lumipan C. Zeiss, Jena. Objective 10 X. Ocular 15 X. Microphot. Exakta Varex IIa.

Fig. 3. Haversian system in ground transverse section of femoral diaphysis of a horse. Microscope Lumipan C. Zeiss, Jena. Objective 10 X. Ocular 15 X. Microphot. Exakta Varex IIa.

Fig. 4. Heversian system in ground transverse section of femoral diaphysis of a pig. Microphot. Exakta Varex IIa. Microscope Lumipan C. Zeiss, Jena. Objective 10 X. Ocular 15 X.

