

© Группа авторов, 2005

**Лекция по остеологии.
Многоуровневый характер структуры минерального
матрикса и механизмы его формирования**

А.С. Аврунин, Р.М. Тихилов, А.Б. Аболин, И.Г. Щербак

**Lecture on osteology.
The multilevel character of mineral matrix structure and the
mechanisms of its formation**

A.S. Avrounin, R.M. Tikhylov, A.B. Abolin, I.G. Shcherback

Российский НИИ травматологии и ортопедии им. Р. Р. Вредена (директор – д. м. н., профессор Р. М. Тихилов), Санкт-Петербург,
Кафедра биохимии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова
(заведующая кафедрой – профессор Я.В. Галевская)

Авторы представляют данные анализа литературы по структуре минерального матрикса костной ткани в лекционной форме. По их мнению, он представляет собой четырехуровневую структуру. Первый уровень – внутренняя структура минерала, второй – морфология минерала, третий – копланарное объединение минералов, четвертый – макроструктурное объединение минералов в единый комплекс внутри каждого костного органа. Показаны наиболее вероятные механизмы, определяющие стабильность воспроизведения параметров минерального матрикса на каждом уровне. В результате их функционирования формируются те варианты структуры минерального матрикса, которые являются запрограммированным отражением специфики данного участка органических структур.

Ключевые слова: минеральный матрикс.

The authors present the analysis of the literature data on bone tissue mineral matrix structure as a lecture. In their opinion, it represents a four-level structure. The first level is the internal structure of a mineral, the second – mineral morphology, the third – coplanar integration of minerals, and the fourth – macrostructural integration of minerals in a single complex within each bone organ. The most probable mechanisms determining the stability of reproduction of mineral matrix parameters at each level are shown. As a result of their functioning those variants of mineral matrix structure are formed which are the programmed reflection of the specificity of the site of organic structures given.

Keywords: mineral matrix.

При использовании современных научно-исследовательских технологий мы зачастую сталкиваемся с физиологическими процессами, которые не удается связать с какой-либо известной анатомо-морфологической структурой. И наоборот: электронный микроскоп позволяет увидеть множество структурных деталей, функциональное значение которых неясно или вовсе неизвестно. Настоящее сообщение является попыткой связать морфологические характеристики минерального матрикса и физиологические механизмы его формирования. Необходимость подобной систематизации вызвана тем, что, несмотря на большой массив публикаций посвященных исследованию костной ткани [5, 7-11, 13, 14, 16, 27, 29, 35, 36], последняя остается одной из наименее изученных структур организма. В значительной мере это обусловлено трудностями

определения истинных параметров минерального матрикса, так как костная ткань на этапе подготовки к исследованию подвергается различным механическим, химическим, температурным и другим воздействиям. В результате, как отмечает Kim с соавторами [26], возможны трансформация минеральной фазы, повреждение минералов, изменение их размеров и так далее. Тем не менее, к настоящему времени накоплен значительный объем фактических данных, характеризующих минеральный матрикс костной ткани, в том числе его состав, структуру, обмен и регулирование [5, 7-11, 13, 14, 16, 27, 29, 35, 36].

Понятие «минеральный матрикс» возникло как следствие деления межклеточного вещества костной ткани на органическую и минеральную составляющие. Анализ современных данных позволяет выделить четыре уровня организации

минерального матрикса:

- 1) первичный (внутренняя структура минерала);
- 2) вторичный (морфология минерала, т. е. его форма и размеры);
- 3) третичный (копланарное¹ объединение минералов);
- 4) четвертичный (объединение минералов в единый комплекс внутри каждого костного органа).

Первичная структура. В костной ткани обнаружены дикальцийфосфатдигидрат, октакальцийфосфат, аморфный фосфат кальция, трикальцийфосфат и гидроксиапатит. Структурное сходство перечисленных соединений фосфатов кальция позволяет образовывать смеси по типу «сэндвич» или «вещество на поверхности». Иными словами, в одном минерале возможно объединение нескольких форм кристаллических решеток с одновременным включением структуры аморфного компонента [9].

В минеральном матриксе нормальной костной ткани содержание аморфного фосфата кальция не превышает 5 %. Минералы представлены преимущественно гидроксиапатитом, содержащим по 5-10 % CO_3^{2-} и HPO_4^{2-} групп [26, 31]. Доля ионов HPO_4^{2-} уменьшается с возрастом, что обусловлено их замещением ионами CO_3^{2-} [9, 30]. В основе этих сдвигов лежит гетероионный обмен², в результате которого в кристаллическую решетку гидроксиапатита включаются также Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ra^{2+} , Na^+ , CO_3^{2-} , F^- и др. [13]. В итоге состав кристаллов (в основном, его поверхностные слои) отражает состав интерстициальной жидкости окружающей минерал.

Каковы же механизмы, обеспечивающие преимущественное формирование именно гидроксиапатита? Ведь в обычных условиях построение его наименьшей структурной единицы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ требовало бы одновременного столкновения 18 ионов, обладающих необходимой энергией активации, что совершенно невозможно из статистических соображений. В то время как аморфная фаза формируется достаточно легко при достижении в растворе минимально необходимой концентрации ионов Ca^{2+} и HPO_4^{2-} [13].

В настоящее время можно выделить три таких механизма:

1. Инициация формирования гидроксиапатита путем эпитаксии³ на органической матрице [22].

¹ Объединение нескольких кристаллов «торец в торец» или «бок в бок».

² Замещение ионов образующих кристаллическую решетку гидроксиапатита чужеродными этому соединению ионами.

³ В 1928 г для описания процессов формирования кристаллов и их ориентационного роста Руайе ввел термин эпитаксия. По сути, это процесс синтеза минерала на матрице с заданными условиями, соответствующими параметрам кристаллической решетки данного минерала [13].

2. Формирование гидроксиапатита путем эпитаксии на ранее образовавшихся кристаллах (их гидратном слое) [13].

3. Перестройка различных фаз минералов в гидроксиапатит под влиянием ионного насоса клеток остеоцитарного ряда [1, 4, 11].

Инициация формирования гидроксиапатита путем эпитаксии на органической матрице. Основным нуклеатором⁴ процесса кристаллизации является костный сиалопротеин. На него приходится 8-12 % от общего количества неколлагеновых белков. Это обильно фосфорилированный протеин, имеющий высокое сродство не только к ионам кальция (связывает до 83 Ca^{2+}), но и к кристаллам гидроксиапатита. Поэтому костный сиалопротеид может не только способствовать зарождению кристалла, но и эффективно ограничивать его рост в зависимости от своего физического состояния (иммобилизованный или растворенный) [22].

Роль фосфопротеинов в инициации кристаллообразования подтверждается тем, что увеличение их концентрации в декальцинированной костной ткани значительно уменьшает требуемое для нуклеации время (лаг-период). Причем замена костного фосфопротеина на фосвитин (из желтка яйца), имеющий ряд аналогичных химических и структурных характеристик, не изменяют характера минералообразования. Этот процесс не возникает после удаления 90 % и более фосфата из любого фосфопротеина [32].

Другим условием минерализации коллагеновых структур является наличие ковалентной связи между фосфопротеинами и фибриллами коллагена [32]. Подобная жесткая фиксация фосфопротеинов обеспечивает необходимую пространственную ориентацию гидроксиапатита по осям (длина, ширина, толщина) при его формировании путем эпитаксии на органической матрице. Это обеспечивает также и пространственную ориентацию минеральных структур на третичном и четвертичном уровнях организации минерального матрикса относительно ориентации органического. А в связи с тем, что ультраструктура органического матрикса формируется соответственно силовым линиям, то, следовательно, и ультраструктура минерального также формируется соответственно преобладающим векторам механических нагрузок. В результате все элементы костной ткани располагаются соответственно силовым линиям в костном органе.

Формирование гидроксиапатита путем эпитаксии на ранее образовавшихся кристаллах. В настоящее время есть все основания предполагать, что большинство кристаллов гидроксиапатита формируется путем эпитаксии на гидратной оболочке «первичного» кристалла, т.е. сформирова-

⁴ Структура, активирующая начало кристаллизации, т.е. переход кристаллообразующих ионов из растворимого состояния в нерастворимое.

рованного на органической матрице. Образование гидратного слоя обусловлено электрическим полем, возникающим вокруг минерала в связи с асимметрией ионных групп входящих в его состав. Внутри кристалла каждый катион окружен удерживающим его полем, создаваемым анионами, и, наоборот, каждый анион окружен полем, созданным катионами. Однако на поверхности кристалла возникают остаточные электрические заряды каждого находящегося в нем иона. Это приводит к тому, что вокруг кристалла в виде мозаики возникают слои адсорбированных ионов с противоположным по знаку зарядом. Последовательные слои ионов фосфата и гидратированных ионов кальция, имеют стереометрические параметры, аналогичные параметрам решетки гидроксиапатита [13]. Тем самым создаются условия для формирования новых кристаллов гидроксиапатита путем эпитаксии на ионах гидратной оболочки минерала.

Перестройка различных фаз минералов в гидроксиапатит под влиянием ионного насоса клеток остеоцитарного ряда. В процессе минерализации органического матрикса по разным причинам могут возникать отклонения в структуре минерала и для преобразования их в гидроксиапатит требуется механизм, обеспечивающий ускоренную перестройку. Этот процесс определяется действием остеоцитарного насоса, вызывающего попеременное уменьшение и увеличение в интерстициальной жидкости концентрации минералообразующих ионов (эффект «качелей»)⁵. В результате минерал то формируется, то частично рассасывается. Поэтому преобразование аморфной структуры в кристаллическую происходит благодаря постоянному химическому взаимодействию минерала с омывающей его межклеточной жидкостью [1, 4, 11].

Проследим теперь, как этот процесс приводит к "созреванию" минерала, то есть, к получению наиболее устойчивой (наименее растворимой) его формы. В основе этого лежит тот факт, что энергия отрыва иона от аморфной фазы ниже, чем от кристаллической. Поэтому, когда ионный насос обеспечивает экскрецию ионов из костной ткани и происходит растворение минерального вещества, в первую очередь удаляются ионы, входящие в состав аморфной фазы. Вероятность отрыва элемента, входящего в состав кристаллической фазы, заметно ниже. Когда же ионный насос нагнетает минералообразующие ионы в интерстициальную жидкость, их концентрация увеличивается, начинается отложение минерального вещества, и часть ионов оказывается в более устойчивом состоянии, формируя кристаллическую решетку. Следовательно, в дальнейшем вероятность их отрыва при растворении минера-

ла намного ниже. Таким образом, под действием ионного насоса происходит ускоренное преобразование аморфной фазы в кристаллическую [1].

Описанные выше физиологические механизмы обеспечивают преимущественное формирование гидроксиапатита и обладают взаимодополняющими свойствами. Однако необходимо подчеркнуть, что основополагающим элементом этого процесса все же являются стереохимические параметры органического матрикса. Остановимся на некоторых аспектах его формирования.

Взаимосвязь органического и минерального матрикса. Формирование органического матрикса начинается после внутриклеточного синтеза его компонентов и продолжается после их секреции во внеклеточную среду, где процесс организации органических структур идет путем самосборки. Одним из его элементов является объединение молекул коллагена в протофибриллы и микрофибриллы, затем в фибриллы, а фибриллы – в волокна. Завершает этот процесс формирование волокнистого каркаса матрикса с характерной для костной ткани структурой. В эту структуру встраиваются разнообразные неколлагеновые белки [2, 3, 12, 15].

Спектр органических компонентов, синтезированных клетками остеоцитарного ряда, зависит от особенностей регуляторно-метаболического статуса организма в конкретный момент времени. Например, гормон роста и паратгормон вызывают увеличение синтеза белка, связывающего инсулинподобный фактор роста III. Концентрация инсулинподобного фактора роста I возрастает под влиянием паратгормона. Под действием 17β-эстрадиола увеличивается содержание инсулинподобных факторов роста I и II и фактора трансформации 1β [33, 34].

Таким образом, можно говорить о существовании определенной программы самосборки органического матрикса, структура которого определяется следующими условиями: совокупностью синтезируемых клетками компонентов, ионным составом среды, pH внеклеточной среды и т. д. А в связи с тем, что все эти условия определяются регуляторно-метаболическим статусом организма в момент формирования органического матрикса, то в итоге формируется наиболее вероятный в конкретных условиях вариант объединения молекул в единое целое.

Выявление же незначительных отклонений затруднительно, так как морфологическое распределение неколлагеновых белков в костной ткани известно плохо, их трудно распознать под электронным микроскопом, а количественные характеристики их состава зависят от типа кости [15]. Тем не менее, установлено, что у пациентов, страдающих болезнью Педжета, распределение остеопонтина зависит от типа и тяжести болезни. Существенные различия найдены и в распределении остеоонектина, остеокальцина и

⁵ Этот механизм обеспечивает обмен ионов Ca^{2+} между костной тканью и кровью что обеспечивает в том числе постоянство уровня кальция в крови [11].

декорина между нормальной костной тканью и синтезированной *de novo* при болезни Педжета [25]. Выявленные сдвиги отражают отклонение в их синтезе и/или инкорпорации в процессе ремоделирования кости и могут явиться следствием нарушения трансляции костного матрикса, а затем и его минерализации.

После формирования органического матрикса лаг-период до начала отложения минералов занимает около 8 суток. После инициации этого процесса образование минеральных структур протекает лавинообразно [21]. В указанный временной интервал происходит ферментное преобразование органического матрикса, включая разрушение ингибиторов минералообразования [18, 23].

По-видимому, в результате ферментного воздействия создаются определенные физико-химические условия, включая формирование структуры «каналов» для движения ионных потоков (кальция и фосфатов) в направлении центров инициации. Движение потока ионов в направлении последних определяется тем, что при формировании минерала переход ионов из растворимого в нерастворимое состояние в участке инициации вызывает локальное снижение их концентрации в растворе. В результате образуется градиент концентраций, который и определяет направление движения ионных потоков. Остеоцитарный насос обеспечивает при этом постоянное восполнение концентрации минералообразующих ионов в интерстициальной жидкости зоны зарождения кристаллов.

В связи с тем, что преобразование растворимой фазы в нерастворимую всегда происходит при участии центров инициации, последние можно разделить на две группы: обеспечивающие формирование кристаллической структуры путем эпитаксии (по-видимому, это основной вариант) и иницирующие формирование аморфной структуры. Именно количественное соотношение этих центров определяет преимущественно кристаллическую структуру большинства «первичных» минералов, а характер распределения этих центров в органическом матриксе и их пространственная ориентация обеспечивает специфику третичного и четвертичного уровней пространственной организации минеральной фазы.

Вторичная структура. Морфология кристаллов определяется их формой и размерами. В настоящее время выделено два варианта их формы: пластинчатые и стрежнеобразные (игольчатые) [9]. Проведенные в последние годы электронномикроскопические исследования изолированных кристаллов из костной ткани рыбы, цыпленка, мыши и быка выявили только кристаллы, имеющие форму очень тонких пластин [26]. Стержне- и иглообразных кристаллов не установлено ни в одном из образцов костей. Объём-

ные стереоснимки, полученные при электронной микроскопии молодых изолированных кристаллов, показали, что кристаллические пластинки апатита могут быть изогнуты, согнуты, а также свернуты на себя и на близлежащие кристаллы. В результате возникает иллюзия, что это иглоподобные (стержнеподобные) кристаллы [30]. Их ширина 3-5 нм, длина колеблется от 5-7 нм до 100-120 нм. Кристаллы же пластинчатой формы имеют средние размеры 1,5-3,5 нм × 5-10 нм × 40-50 нм (табл. 1). То есть, можно предположить, что увеличение длины иглоподобных кристаллов связано с объединением нескольких изогнутых микрокристаллов в единый комплекс.

Таблица 1

Размеры кристаллов

Исследованный образец кости	Ширина (нм)	Длина (нм)	Толщина (нм)
Бык [26]	15,8±7,2 (2,9-42,2)	27,3±7,2 (6,9-61,7)	<1,5-2
Мышь [26]	12,0±4,3 (3,9-26,5)	21,2±7,6 (6,9-50,0)	<1,5-2
Цыпленок [26]	12,2±4,8 (2,9-26,5)	23,3±8,4 (8,8-53,9)	<1,5-2
Сельдь [26]	15,4±10,0 (2,3-58,5)	37,3±19,0 (2,6-98,3)	<1,5-2
Человек [8]	7-8	13-14	2-4
По данным литературы [13]	≈7,5	≈20	3-4

Другим морфологическим параметром являются размеры кристаллов. В этой связи обращает на себя факт близости их средних значений не только у разных организмов, но и при формировании *in vitro*. Следовательно, должен существовать единый механизм, определяющий эти параметры. В последние годы дискутируется роль органических молекул в этом процессе. Это связано с тем, что стереохимические параметры белков кости создают возможность их связывания с образовавшимися кристаллами, что может обеспечивать торможение кристаллического роста в определенных направлениях.

Однако если бы этот механизм действительно определял размеры кристаллов, белки находились бы *между* кристаллами, образующими копланарные объединения. Подобное внедрение сомнительно по двум причинам. Во-первых, оно сделало бы невозможным синтез кристаллов путем эпитаксии на гидратной оболочке первичных кристаллов. Во-вторых (и это главное), применение современных технологий не выявило междокристаллического (внутрикопланарного) расположения белковых молекул.

Вернее всего, ограничение размеров кристаллов вызвано тем, что гидроксипапатит, содержащийся в костной ткани, обладает очень малой растворимостью. Как известно, при смешивании растворов соли (точка А на рис. 1) происходит некоторая агрегация ионов. Эти твердые частицы стабильны лишь в том случае,

если они очень малы. При возрастании концентрации ионов в растворе (при переходе от точки Б к точке В) состояние раствора можно считать метастабильным, так как действительная величина растворимости превышает нормальную растворимость, или растворимость «макроталлов». При таких концентрациях часть вещества может находиться в твердой фазе, но радиус частиц может варьировать только от R_1 до R_2 . Эти частицы не будут спонтанно расти, так как более крупные кристаллы растворяются лучше, чем мелкие [13]. По нашему мнению, именно этот механизм ограничивает размеры кристаллов в костной ткани, в то время как белковые ингибиторы кристаллообразования, скорее всего, влияют на параметры третичного уровня организации минерального матрикса.

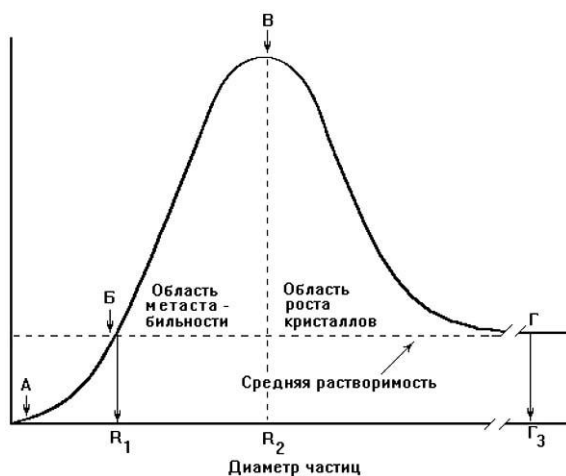


Рис. 1. Теоретическая зависимость между размером частиц и растворимостью какой-либо соли, предсказанная уравнением Кнаппа [13]

Третичная структура. При образовании новых кристаллов на гидратной оболочке ранее сформированных возникают их копланарные объединения, в которых минералы объединены конец в конец или бок в бок. При этом полного слияния кристаллических решеток микрокристаллов не происходит. Размеры копланарных объединений находятся в следующих пределах: длина 29,9-37,3 нм, ширина 18,8-21,9 нм [8]. Каков же механизм, обеспечивающий формирование подобной структуры? По-видимому, это результат рассмотренного выше процесса эпитаксии кристаллов на гидратной оболочке «первичного» кристалла, сформированного на органической матрице. Обращает на себя внимание малый разброс размеров копланарных объединений, что свидетельствует о наличии ограничительного механизма, определяющего эти размеры. С одной стороны, на это может влиять характер распределения и размеры гидрофильных и гидрофобных участков в молекулах белков в зоне роста копланарных объединений минералов. С другой стороны — распределение белковых ингибиторов роста кристаллов (о которых было сказано вы-

ше). Эти два механизма не взаимоисключают, а дополняют друг друга.

Определенную роль играет и то обстоятельство, что в органическом матриксе центры кристаллизации имеют строгую пространственную повторяемость распределения основного центра кристаллизации — костного сиалопротена [22] и соответствующее чередование гидрофильных и гидрофобных участков в коллагеновых структурах. В этих условиях рост копланарных объединений может ограничиваться расстоянием от центра инициации первичного кристалла до ближайшего гидрофобного участка. Подобный механизм базируется на ультраструктурной пространственной повторяемости элементов, формирующих органический матрикс, и поэтому определяет малый разброс размеров копланарных объединений.

Четвертичная структура. Минералы располагаются внутри коллагеновых фибрилл и внефибрилярно. В межфибрилярных пространствах копланарные объединения кристаллов, прилегающие к коллагеновым фибриллам, окружают их, формируя манжетки, и контактируют с внутрифибрилярными минеральными образованиями. На отдалении от коллагеновых фибрилл кристаллические объединения входят в состав плотных групп, в которых они размещаются в одном направлении. По отношению друг к другу такие группы расположены под разными углами. Внутрифибрилярные объединения кристаллов образуют ряд параллельных, спирально закрученных пластов [8].

Образование подобной упорядоченной структуры возможно в том случае, если основным механизмом формирования минералов является эпитаксия. В этом случае пространственное расположение центров инициации первичных кристаллов определяет направление их осей соответственно особенностям структуры органического матрикса в данном участке. Последующие кристаллы растут, формируя копланарное объединение, также путем эпитаксии на данном кристалле, протекающей в соответствии с расположением его осей. Оси очередного копланарного объединения определяются уже пространственным расположением следующего центра инициации. Следовательно, происходит некоторый сдвиг направления осей по отношению к предыдущему копланарному объединению. В результате формируется определяемый структурой органического матрикса пространственный вариант структуры минерального. По сути, последняя является запрограммированным отражением не только особенностей распределения органических молекул в костной ткани, но и особенностей их вторичного, третичного и четвертичного уровней организации, отражающих основные направления силовых линий механических нагрузок в каждом костном органе. Нарушение

функционирования любого из рассмотренных выше механизмов приведет к нарушению структуры минерального матрикса, что вызовет изменение механических свойств костной ткани в целом. Это в свою очередь вызовет нарушение

процесса механотрансдукции и нарушит равновесие между резорбцией костной ткани и ее синтезом, что мы и наблюдаем в процессе старения организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин, А. С. Гипотеза о роли клеток остеобластного ряда в формировании стабильной морфологической структуры минералов костного матрикса / А. С. Аврунин, Н. В. Корнилов, Ю. Б. Марин // *Морфология*. - 2002. - № 6. - С. 74-77.
2. Аврунин, А. С. Позиционные регуляторы костной ткани — основа ауторегуляторного механизма развития и воспроизведения остеопороза / А. С. Аврунин, Н. В. Корнилов, А. В. Суханов // *Морфология*. - 1998. - № 4. - С. 7-12.
3. Формирование остеопоротических сдвигов в структуре костной ткани / А. С. Аврунин [и др.]. - СПб. : Ольга, 1998. - 67 с.
4. Аврунин, А. С. Метод двойной фотонной рентгеновской абсорбциометрии. Ограничения при оценке состояния костной ткани / А. С. Аврунин, Н. В. Корнилов, В. Е. Каземирский // *Ортопед., травматол.* - 2002. - № 4. - С. 56-60.
5. Использование метода профилометрии для количественной характеристики микрорельефа периостальной поверхности кости / Ю. Ю. Астахов [и др.] // *Биомедицинские технологии*. - М., 1999. - Вып. 12. - С. 53-70.
6. Aho, A. Электронномикроскопическое и гистологическое изучение заживления переломов кости у молодых и старых крыс / A. Aho // *Механизмы регенерации костной ткани*. - М. : Медицина, 1972. - С. 52-85.
7. Wilhelm, G. R. К вопросу минерализации костной ткани / G. R. Wilhelm // *Механизмы регенерации костной ткани*. - М. : Медицина, 1972. - С. 189-193.
8. Ультраструктурная организация минерального компонента пластинчатой костной ткани у людей зрелого и старческого возраста / Ю. И. Денисов-Никольский [и др.] // *Морфология*. - 2002. - № 5. - С. 79-83.
9. Докторов, А. А. Структурная организация минеральной фазы костной ткани / А. А. Докторов // *Биомедицинские технологии*. - 1999. - Вып. 12. - С. 42-52.
10. Докторов, А. А. Особенности рельефа минерализованной поверхности лакун и канальцев в пластинчатой кости / А. А. Докторов, Ю. И. Денисов-Никольский // *Бюлл. эксперим. мед.* - 1993. - № 1. - С. 61-65.
11. Корнилов, Н. В. Адаптационные процессы в органах скелета / Н. В. Корнилов, А. С. Аврунин. - СПб. : МОПСАВ АВ, 2001. - 269 с.
12. Лаврищева, Г. И. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей / Г. И. Лаврищева, Г. А. Оноприенко. - М. : Медицина, 1996. - 207 с.
13. Ньюман, У., Минеральный обмен кости / У. Ньюман, М. Ньюман. - М. : Иностранная литература, 1961. - 269 с.
14. Диагностика диализной остеомалиции / В. И. Шумаков [и др.]. - М. : МВЦ-«ИБИС». — 1992. — 144 с.
15. Bonucci, E. Ultrastructure of the organic matrix of embryonic avian bone after en bloc reaction with various electron-dense 'stains' / E. Bonucci, G. Silvestrini // *Acta Anat.* - 1996. - Vol. 156, No 1. - P. 22-33.
16. Caverzasio, J. Characteristics and regulation of Pi transport in osteogenic cells for bone metabolism / J. Caverzasio, J. Bonjour // *Kidney Int.* - 1996. - Vol. 49, No 4. - P. 975-980.
17. Cuisinir F. цит. по Докторову А. А. [1999].
18. Dean, D. Matrix vesicles produced by osteoblast-like cells in culture become significantly enriched in proteoglycan-degrading metalloproteinases after addition of beta-glycerolphosphate and ascorbic acid / D. Dean, Z. Schwartz, L. Bonewald // *Calcif. Tiss. Int.* - 1994. - Vol. 54, No 5. - P. 399-408.
19. Endo, A. The effect of complexing phosphoproteins to decalcified collagen on in vitro calcification / A. Endo, M. J. Glimcher // *Connect Tissue Res.* - 1989. - Vol. 21, No 1-4. - P. 179-190.
20. Fratzl et al., цит. по Докторову А. А. [1999].
21. Frost, H. Mathematical elements of lamella bone remodeling / H. Frost. — Springfield : Thomas books, 1964. - 127 p.
22. Gamss, B. Bone sialoprotein / B. Gamss, R. H. Kim, J. Sedek // *Clin. Rev. Oral. Biol. Med.* - 1999. - Vol. 10, No 1. - P. 79-98.
23. Glimcher M. J. цит. по Wilhelm [1972].
24. Ingber, D. F. The architecture of life / D. F. Ingber // *Scientific American*. - 1998. - Vol. 1. - P. 30-39.
25. Ingram, R. Page's disease is associated with changes in the immunohistochemical distribution of noncollagenous matrix proteins in bone / R. Ingram, M. Collazo-Clavell, R. Tieg // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 1996. - Vol. 81, No 5. - P. 1810-1820.
26. Kim, H. M. Isolation of calcium-phosphate crystals of bone by non-aqueous methods at low temperature / H. M. Kim, C. Rey, M. J. Glimcher // *J. Bone Miner. Res.* - 1995. - Vol. 10, No 10. - P. 1589-1601.
27. Legros R. цит. по А. А. Докторову [1999].
28. Maitland, M. T. A correlation between the distribution of biological apatite and amino acid sequence of type I collagen / M. T. Maitland, A. L. Arsenault // *Calcif. Tiss. Int.* - 1991. - Vol. 48. - P. 341-352.
29. Age-related changes in composition and Ca²⁺-binding capacity of canine cortical bone extracts / M. R. Pinto [et al.] // *Am. J. Physiol.* - 1988. - Vol. 255, No 1. - P. 101-110.
30. Structural and chemical characteristics and maturation of the calcium-phosphate crystals formed during the calcification of the organic matrix synthesized by chicken osteoblasts in cell culture / C. Rey [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* - 1995. - Vol. 10, No 10. - P. 1577-1588.
31. Investigation of the mineral phases of bone by solid-state phosphorus-31 magic angle sample spinning nuclear magnetic resonance / A. H. Roufosse [et al.] // *Biochemistry*. - 1984. - Vol. 4, No 23. - P. 6115-6120.
32. Mineral induction by immobilized phosphoprotein / T. Saito [et al.] // *Bone*. - 1997. - Vol. 21, No 4. - P. 305-311.
33. Schmid, C. Growth hormone and parathyroid hormone stimulate IGFBP-3 in rat osteoblasts / C. Schmid, I. Schlapfer, M. Peter // *Am. J. Physiol.* - 1994. - Vol. 267, No 2 (Pt. 1). - P. E226-E233.
34. Slater, M. Modulation of growth factor incorporation into ECM of human osteoblast-like cells in vitro by 17 beta-estradiol / M. Slater, J. Patava, K. Kingham // *Am. J. Physiol.* - 1994. - Vol. 267, No 6 (Pt. 1). - P. E990-E1001.
35. Termine, J. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen / J. Termine, H. Kleinman, W. Whitson // *Cell*. - 1981. - Vol. 26, No 1. - P. 99-105.
36. Zhou, H. Stimulation by bone sialoprotein of calcification in osteoblast-like MC3T3-E1 cell / H. Zhou, H. Takita, R. Fujisawa // *Calcif. Tiss. Int.* - 1995. - Vol. 56, No 5. - P. 403-407.

Рукопись поступила 07.10.04.