

УДК 611.71.018.4+616-089.843-7:615.46-022.532](048.8)

Кісткова тканина — природна наноструктура. Погляд на проблему (огляд літератури)

І.С. Чекман¹, М.І. Корпан², О.А. Бур'янов¹, В.Ф. Шаторна³,
А.М. Дорошенко¹, М.І. Загородний¹, В. Фіалка-Мозер²

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

² Віденський медичний університет, Австрія

³ Дніпропетровська державна медична академія, Україна

Ключові слова: кісткова тканина, наноструктура, нанокompозит, колаген, імплантати, тканинна інженерія

Нанорозмірні структури широко представлено в живій природі: клітинна мембрана, АТФ, нуклеїнові кислоти, білки, амінокислоти та ін. Наноструктурну організацію мають кісткова тканина, раковини моллюсків, хлорофіл тощо [2, 3]. Нанокompозити і наноструктурні матеріали відіграють кардинальну роль в ортопедичних та травматологічних дослідженнях, тому що сама кістка є типовим прикладом нанокompозиту [5]. Унікальність різноманітних природних об'єктів завжди спонукала людину до вдосконалення створених нею структур, які сьогодні називають наноматеріалами. Такі наноматеріали органічного та неорганічного походження, як правило, мають особливі фізичні, хімічні, фізико-хімічні, фармакологічні властивості. Внаслідок зменшення розмірів наноматеріалів від 100 до 0,1 нм значно підвищується їх біологічна активність [2, 3].

Наноструктурна організація кісткової тканини

Кістка — складний орган, який виконує механічні і біологічні функції в організмі людини. Кістки беруть участь в обмінних процесах завдяки вмісту основної частини мінеральних речовин організму, створюють специфічне мікрооточення для попередників клітин крові червоного кісткового мозку. До тканин, які входять до складу кістки, належать мінералізована кісткова тканина, кістковий мозок, ендост, періост, нерви, кровonosні судини і хрящова тканина [1, 22].

Кісткова тканина має складну ієрархічну будову (рис. 1). Виділяють наступні рівні організації кістки [25]:

1) макроструктурний: губчаста і компактна кісткова тканина;

2) мікроструктурний (10–500 мкм): Гаверсова система, остеони, окремі трабекули;

3) субмікроструктурний (1–10 мкм): кісткові пластинки;

4) наноструктурний і субнаноструктурний (молекули тропоколагену, глікозаміногліканів, кристали гідроксилапатиту тощо).

Екстацелюлярний матрикс (ЕЦМ) кісткової тканини підпорядкований просторовим і часовим рівнем організації, які охоплюють декілька порядків величин від нанометрів до сантиметрів. На нанорівні ЕЦМ представлений молекулярною структурою, яка складається з трьох основних компонентів: неорганічного і органічного матриксу та води [5].

Неорганічний матрикс містить кристали мінералу апатиту, які зазвичай називають *гідроксил-апатитом*. Питання щодо складу мінералу апатиту залишається дискусійним. Попередні і теперішні спроби вивчення складу неорганічної фази із застосуванням методу рентгенівської дифракції виявили кристалічну структуру гідроксилапатиту [23, 26]. Однак С. Rey та співавт. [23], застосувавши інфрачервону спектроскопію з Фур'є перетворенням (FTIR) і ядерний магнітний резонанс (ЯМР), показали, що у складі мінералів кістки відсутні гідроксильні групи, наявні карбонатні іони і кислі фосфатні групи, що вказує на присутність *карбонат-апатиту* [23]. Досі існують різні погляди на розподіл карбонатних іонів у кристалах апатиту, але визнається, що це несправжня решітка гідроксилапатиту [34].

Кристали апатиту, які утворюються у земній корі, формують голкоподібні структури, тоді як карбонатні апатити кісткової тканини людини фор-

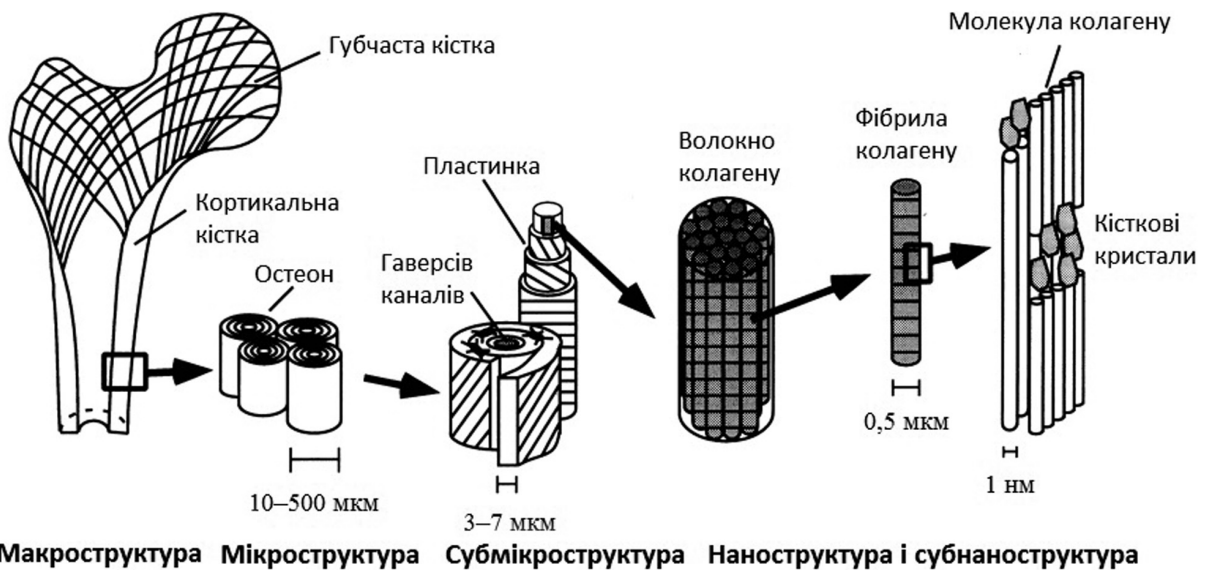


Рис. 1. Ієрархічна структурна організація кістки [25]

мують пластинчасті структури [33, 34]. Очевидно, це пов'язано з інкорпорацією карбонатних іонів у решітку апатиту, що впливає на процес мінералізації [34]. Неорганічні кристали апатиту мають в середньому 50 нм в довжину, 25 нм в ширину і 2–3 нм в товщину [25, 32, 33]. Важливу роль у стабілізації розмірів нанокристалів апатиту відіграють молекули цитрату, які було виявлено за допомогою ЯМР на поверхні кристалів у кількості 1 молекула на 2 нм². Це призводить до формування малих кристалів, які мають кращі механічні властивості, а також сприяють більш швидкій резорбції у процесі ремоделювання кістки [10].

Основною складовою **органічного матриксу** кісткової тканини є колаген I типу. Молекула колагену представлена правозакрученою потрійною спіраллю тропоколагену, яка містить переплетені два поліпептидні α_1 ланцюги і один α_2 ланцюг [20, 32]. Ці ланцюги багаті на гліцин, пролін і гідроксипролін, що забезпечує формування потрійної спіралі. Бічний ланцюг гліцину (атом водню) є єдиним достатньо малим 3-поміж усіх амінокислот структурним елементом молекули, який розташовується всередині спіралі з трьох поліпептидів. Субодиноці ланцюгів утримуються за допомогою водневих зв'язків між пептидними аміногрупами залишків гліцину і пептидними карбонільними групами сусіднього поліпептиду. Потрійна спіраль колагену має близько 300 нм в довжину і 1,5 нм в ширину. Поєднання багатьох молекул колагену призводить до утворення фібрил товщиною 50–200 нм в залежності від типу колагену. Поперечна смугастість волокна колагену обумовлена періодично перетворювальними ділянками (67 нм). Вони складаються із зони проміжку

між молекулами колагену (40 нм) і зони перекриття (27 нм) [25].

Розташування кристалів апатиту відносно фібрил колагену вивчається тривалий час. Було показано, що 40-нанометрові проміжки між фібрилами колагену заповнені мінералом апатитом (рис. 2). При цьому колаген I типу виступає каталізатором відкладення кристалів апатиту *in vivo*. Загалом самозбірка фібрил колагену призводить до утворення волокнистої сітки, імпрегнованої кристалами з неорганічних речовин [12, 25].

До складу органічного матриксу кісткової тканини також входять протеоглікани (декорин, біглікан) і неколагенові білки. Найбільш поширеним неколагеновим білком ЕЦМ кісткової тканини є остеонектин, який має численні зв'язувальні ділянки (сайти) для колагену і кальцію, а також виступає нуклеатором під час утворення кристалів гідроксилапатиту [16, 38].

Інший неколагеновий білок кісткового матриксу — остеокальцин — вітамін К-залежний білок, який має афінність до кальцію і гідроксилапатиту і відіграє роль у міграції остеобластів [7]. Остеопонтин — багатофункціональний позаклітинний глікопротеїн, який бере участь у міграції клітин і регулюванні відкладення мінеральної речовини. Цей білок підтримує загальну структурну єдність кістки [6].

Не менш важливим є розуміння того, що усі процеси у кістковій тканині регулюються молекулярними наномасштабними взаємодіями. Організація клітин і відповідні властивості тканини залежать від структури ЕЦМ. Так, колаген забезпечує не лише механічну гнучкість кістки, але містить пеп-

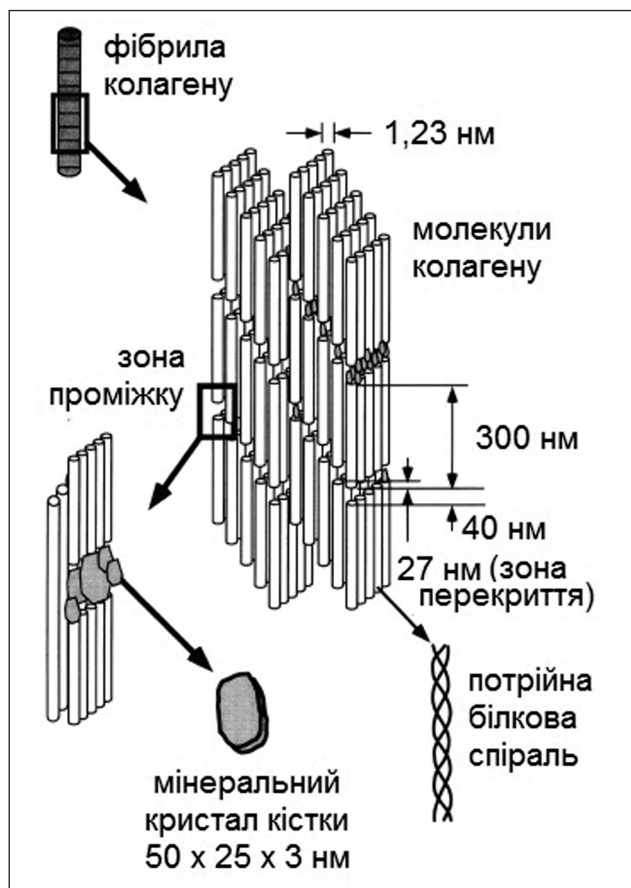


Рис. 2. Взаємне розташування молекул колагену, а також мінеральних кристалів у кістці [25]

тиди, які служать сигналами для клітин кісткової тканини. Так, пептидний залишок аспарат-гліцин-глутамат-аланін вважають зв'язувальним сайтом для інтегринів остеобластів [17].

Нанотехнології у заміщенні кісткових дефектів

Клітинам кісткової тканини притаманна взаємодія з наноструктурними поверхнями, що робить структуровані на нанорівні біоматеріали для тимчасового чи постійного заміщення структури і функцій кісткової тканини більш перспективними з біологічної точки зору [14, 29].

Тривалі терміни відновлення кісткової тканини спонукали вчених до пошуку способів заміщення кісткового дефекту з якнайшвидшим відновленням структурної цілісності і функції. На сьогодні можна виділити основні напрямки наукового пошуку в цій галузі. По-перше, це поліпшення властивостей поверхні наявних металевих імплантатів. Метали, зокрема титан, володіють значною міцністю, що сприяє розвантаженню ураженої ділянки. Однак, з іншого боку, значне розвантаження і відсутність так званої «механічної стимуляції» кісткової тканини може негативно впливати на відновлення, що зокрема проявляється зміною фенотипової поведінки

остеобластів [40]. Крім того, ці достатньо поширені у травматології і ортопедії матеріали не зазнають біологічного розпаду.

Другим напрямком є розробка імплантатів з матеріалів, наближених до кісткової тканини за механічними властивостями і здатних до біологічної деградації. З цією метою широко вивчаються кальцій-фосфатні матеріали, такі як гідроксилапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, трикальцію фосфат $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, біфазний кальцію фосфат і мультифазне біоскло [19]. Крім того, синтетичні та природні полімери (полієфіри, поліпропіленфумарат, поліетиленгліколь, поліуретани, поліангідриди, колаген тощо) вважають перспективними матеріалами для заміщення кісткових дефектів [8]. Однак вищевикладені матеріали мають недосконалі механічні властивості. Так, кераміка є крихкою, а полімери, навпаки, відносно «м'які». Щодо природних полімерів, виникають труднощі з їх отриманням і очищенням. Для максимального наближення механічних властивостей таких матеріалів до кістки, а також регулювання часу біодеградації, були запропоновані полімер-керамічні нанокомпозити [15].

Вищевикладені способи заміщення кісткових дефектів стали підґрунтям для розвитку **тканинної інженерії кісткової тканини**. Цей відносно новий напрямок виник як перспективна альтернатива традиційним імплантатам і дозволяє сподіватися на значне поліпшення результатів лікування пацієнтів із захворюваннями чи травмами кісток. У природній кістковій тканині наномасштабні взаємодії білків є ключовими для контролювання функцій клітин — проліферації, міграції і утворення ЕЦМ. Через це наноматеріали, які починають застосовувати для тканинної інженерії кісткової тканини, повинні відповідати таким основним вимогам [22]:

- 1) забезпечувати тимчасову механічну підтримку в ураженій ділянці;
- 2) виступати субстратом для відкладання кісткового матриксу;
- 3) мати пористу структуру для васкуляризації і вrostання кісткової тканини;
- 4) сприяти міграції клітин в імплантат;
- 5) підтримувати і сприяти остеогенній диференціації клітин-попередників (володіти остеоіндуктивністю);
- 6) підвищувати активність клітин кістки і остеointegraцію;
- 7) розпадатися із контрольованою швидкістю для поступового механічного навантаження новоутвореної кісткової тканини;
- 8) мати нетоксичні продукти деградації;
- 9) не викликати запальної реакції;

10) підлягати стерилізації без втрати властивостей;

11) контрольовано доставляти біологічно активні речовини чи лікарські засоби з метою прискорення відновлення і запобігання розвитку патологічних змін.

У зв'язку із значною поширеністю і біосумісністю колаген I типу і глікозаміноглікани кісткової тканини широко вивчають для створення природних та напівсинтетичних композитних матеріалів для тканинної інженерії кісткової тканини [22]. Так, в дослідженнях *in vitro* композит колагену з гідроксилапатитом підвищував адгезію і утворення ЕЦМ порівняно з контролем [28]. Білки, наприклад фібриноген і фібрин, які потрапляють у ділянку травми з кров'ю, також вивчають як можливі матеріали для тканинної інженерії. Це пов'язано з їх гемостатичними властивостями, а також здатністю зв'язувати клітини [4]. Також існує підхід, який полягає у застосуванні не цілої молекули білка, а найбільш важливих у регуляції процесу відновлення амінокислотних послідовностей — пептидів. Часто в рамках цієї стратегії застосовують пептид аргінін-гліцин-аспартат, який забезпечує взаємодію клітин з деякими білками ЕЦМ, такими як фібриноген, фібронектин, вітронектин і остеопонтин. В досліджах із введенням у склад імплантатів цієї пептидної послідовності було продемонстровано помірне покращення функціонування остеобластів і клітин-попередників остеогенезу, що проявлялося поліпшенням клітинної адгезії і міграції, мінералізації кісткового матриксу [9, 37]. Кращих результатів вдалося досягти у випадку застосування селективних пептидних послідовностей, які відповідають за адгезію остеобластів. Так, пептид гліцин-фенілаланін-гідроксипролін-гліцин-глутамат-аргінін у досліджах *in vivo* значно підвищував функції остеобластів і остеointegraцію [24].

Ще одним важливим напрямком тканинної інженерії кісткової тканини є застосування факторів росту і транскрипції. Цей підхід ґрунтується на тому, що нормальні фізіологічні процеси в кістці, зокрема, проліферація клітин-попередників, міграція у кісткову тканину, диференціація в остеогенному напрямку, відбуваються під дією специфічних поліпептидів, які експресуються у незначних кількостях і локально регулюють функції клітин [27].

Нанотехнології для поліпшення властивостей імплантатів

Введення в середовище організму чужорідної речовини неодмінно призводить до запуску компенсаторно-приспосувальних реакцій, які в цілому направлені на виведення речовини з організму або

відокремлення її від внутрішнього середовища. Як правило, це супроводжується запаленням, порушенням відновлення структури і функцій органу. Отже, постало питання: як розробити імплантат, який не викликав би реакцій відторгнення? Ідея застосування нанотехнологій для оптимізації поверхонь ортопедичних і стоматологічних імплантатів виникла завдяки розумінню нанорозмірної будови ЕЦМ. У тривимірній структурі органічні і неорганічні компоненти кісткового ЕЦМ формують середовище, наповнене інформаційними сигналами для клітин кісткової тканини. Отже, успішна розробка і впровадження у медицину стоматологічних і ортопедичних імплантатів можливо лише за умов взаємодії тканин організму із введеним матеріалом, максимально наближеної до фізіологічної. Основоположний аспект — подібність їх морфології і складу на нанорівні.

Після втілення цього положення в експерименті виявлено, що зменшення розмірів зерен кальцій-фосфатної кераміки призводить до підвищення функції клітин кісткової тканини. Зокрема, порівняно зі звичайними мікрометровими конструкціями кераміка, яка синтезована окремо із сферичних нанометрових часточок глинозему, титану і гідроксилапатиту, підвищує клітинну адгезію остеобластів *in vitro*. Здатність нанорозмірної кераміки сприяти функції клітин кістки обмежена розмірами зерен. Так, підвищену активність остеобластів зафіксовано на поверхні кераміки зі сферичними частинками меншими 60 нм [31]. Більше того, на нанорозмірній кераміці підвищення відкладення кальцію остеобластами супроводжується зростанням активності остеокластів, що сприяє прискоренню обмінних процесів у тканині [29, 30].

Вплив шорсткої керамічної поверхні на остеointegraцію імплантатів показано в роботах К.С. Рорат і співавт. [21]. Так, клітини, які вирощували на нанотубулярних поверхнях, проявляли більшу здатність до адгезії, проліферації і формування кісткового матриксу порівняно із клітинами, які культивували на рівних поверхнях. Крім того, матеріал з нанотубулярною поверхнею не викликав запалення і розвитку фіброзу [21].

Поширеним підходом, який має комерційну складову, є нанесення на поверхню стоматологічних і ортопедичних імплантатів керамічного покриття із наноструктурованого гідроксилапатиту. Це пов'язано зі значною біосумісністю і біологічною активністю цієї речовини, що забезпечує природну інтеграцію між кісткою і імплантатом. Такий принцип застосовують виробники різно-

манітних структурних біоматеріалів. Однак нанесення на поверхні імплантатів високоякісного нанокристалічного покриття з гідроксилапатиту з належними властивостями (штрихуватість, сила адгезії, структура пористості і розмір пор) — досить складне завдання. Найбільш перспективною є методика покриття ортопедичних матеріалів за допомогою електростатичного розпилювального відкладення (electrostatic spray deposition, ESD) у зв'язку із можливістю моделювання морфології і складу покриття. Через це ESD дозволяє створювати пористі покриття з більшою площею поверхні, що доступна для взаємодії з білками і для цільової доставки лікарських засобів [13].

Компанія «NanoMech» (США) запатентувала технологію нанесення покриття на титанові поверхні імплантатів під назвою «NanoSpray[®]», яка полягає у електростатичному відкладенні покриття з гідроксилапатиту і подальшому мікрохвильовому спіканні [35]. Застосування цієї технології забезпечує кращий контроль за структурою поверхні та поліпшує адгезію, біологічну сумісність і механічні властивості імплантатів [11]. Таке покриття має низку переваг:

- покращена міцність з'єднання запобігає відшаруванню імплантата;
- подібність хімічного складу покриття до натуральних тканин кістки (відношення Ca/P дуже близьке до природної кістки);
- велика ефективна площа поверхні призводить до прискорення проліферації і диференціації клітин;
- нанощорсткість і нанорозмірні пори сприяють остеоінтеграції імплантата;
- покриття з висококристалічного гідроксилапатиту зменшує розчинення мінералу у тканинах організму.

Для покращення взаємодії імплантатів з кісткою компанією «Nano Bridging Molecules[®]» (Швейцарія) запропоновано засіб для покриття стоматологічних і ортопедичних імплантатів «SurfLink[®]». «SurfLink[®]» складається з мультифосфонованих молекул, які взаємодіють з прилеглою кістковою тканиною, формуючи прямий ковалентний зв'язок між імплантатом і кісткою. Дослідження показали, що біоміметичні властивості речовини сприяють прискореному росту кістки. «SurfLink[®]» стійкий в організмі, практично не зазнає хімічної і ферментативної деградації [36].

Розробляють і інші підходи модифікації поверхні ортопедичних імплантатів. Прикладом є застосування нанокристалів гідроксилапатиту і спіральних розеткових нанотрубок, які є новим матеріалом і імітують природну наноструктуру ко-

лагену та інших компонентів кістки, для покриття титанових біомедичних виробів [39]. Позитивно впливають на остеоінтеграцію імплантатів іони магнію. Було встановлено ефективність титанових нанопористих поверхонь з інкорпорованими іонами магнію у підвищенні остеоінтеграції імплантатів у губчастій кістці кролів [18].

Висновок

Сучасні уявлення про будову кісткової тканини стверджують, що кістка — типовий приклад природного високоструктурованого наноконструктиву, у якому поєднано нановолокна і наночастинки з органічних і неорганічних речовин. Відтворення структурно-функціональних особливостей кістки на нанорівні в процесі створення імплантатів за допомогою синтетичних або напівсинтетичних наноматеріалів забезпечить максимальну взаємодію з живою тканиною, що дасть можливість значно покращити результати лікування пацієнтів із захворюваннями чи травмами кісток.

Література

1. Корж Н.А. Остеоартрозы. Консервативная терапия / Н.А. Корж, Н.В. Дедух, И.А. Зупанец. — Харьков: Флаг, 1999. — 336 с.
2. Рыбалкина М. Нанотехнологии для всех / М. Рыбалкина. — М.: Nanotechnology News Network, 2005. — 444 с.
3. Чекман І.С. Нанофармакологія / І.С. Чекман. — К.: Задруга, 2011. — 424 с.
4. Ahmed T.A. Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications / T.A. Ahmed, E.V. Dare, M. Hincke // *Tissue Eng. Part B Rev.* — 2008. — Vol. 14, № 2. — P. 199–215.
5. Nanobiomaterial applications in orthopedics / E.M. Christenson, K.S. Anseth, van J.J. den Beucken et al. // *J. Orthop. Res.* — 2007. — Vol. 25, № 1. — P. 11–22.
6. de Oliveira P.T. Nanotexturing of titanium-based surfaces up regulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells / P.T. de Oliveira, A. Nanci // *Biomaterials.* — 2004. — Vol. 25, № 3. — P. 403–413.
7. Duce P. Study of osteoblast-specific expression of one mouse osteocalcin gene: characterization of the factor binding to OSE2 / P. Duce, V. Geoffroy, G. Karsenty // *Connect. Tissue Res.* — 1996. — Vol. 35, № 1–4. — P. 7–14.
8. Hartgerink J.D. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers / J.D. Hartgerink, E. Beniash, S.I. Stupp // *Science.* — 2001. — Vol. 294, № 5547. — P. 1684–1688.
9. Porous polymer scaffolds surface-modified with arginine-glycine-aspartic acid enhance bone cell attachment and differentiation in vitro / Y. Hu, S.R. Winn, I. Krajchich, J.O. Hollinger // *J. Biomed. Mater. Res.* — 2003. — Vol. 64, № 3. — P. 583–590.
10. Hu Y.-Y. Strongly bound citrate stabilizes the apatite nanocrystals in bone / Y.-Y. Hu, A. Rawal, K. Schmidt-Rohr // *PNAS.* — Vol. 107, № 52. — P. 22425–22429.
11. Improved mechanical properties of nanocrystalline hydroxyapatite coating for dental and orthopedic implants / W. Jiang, J. Cheng, D.K. Agrawal et al. // *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* — 2009. — Vol. 1140. — Режим доступу: <http://www.mri.psu.edu/faculty/agrawal/media/185.pdf>.
12. Katz E.P. Structure and function of bone collagen fibrils / E.P. Katz, S.T. Li // *J. Molecular Biology.* — 1973. — Vol. 80,

- № 1. — P. 1–15.
13. Electrostatic spray deposition (ESD) of calcium phosphate coatings / S. Leeuwenburgh, J. Wolke, J. Schoonman, J. Jansen // *J. Biomed. Mater. Res.* — 2003. — Vol. 66A, № 2. — P. 330–334.
 14. Li W.J. Chondrocytes phenotype in engineered fibrous matrix is regulated by fiber size / W.J. Li, Y.J. Jiang, R.S. Tuan // *Tissue Eng.* — 2006. — Vol. 12, № 7. — P. 1775–1785.
 15. Liu H. Increased osteoblast functions on nanophase titanium dispersed in poly-lactic-co-glycolic acid composites / H. Liu, E.B. Slamovich, T.J. Webster // *Nanotechnology.* — 2005. — Vol. 16, № 7. — P. S601–S608.
 16. Maurer P. Extracellular calcium-binding proteins / P. Maurer, E. Hohenester, J. Engel // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 1996. — Vol. 8, № 5. — P. 609–617.
 17. A collagen peptide motif activates tyrosine kinase-dependent calcium signaling pathways in human osteoblast-like cells / T.J. McCann, W.T. Mason, M.C. Meikle, F. McDonald // *Matrix Biol.* — 1997. — Vol. 16, № 5. — P. 273–283.
 18. Osseointegration of commercial microstructures titanium implants incorporating magnesium: a histomorphometric study in rabbit cancellous bone / J.-W. Park, C.-H. An, S.-H. Jeong, J.-Y. Suh // *Clin. Oral Impl. Res.* — 2011. — doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.02144.x. [Epub ahead of print].
 19. Paul W. Ceramic drug delivery: a perspective / W. Paul, C.P. Sharma // *J. Biomater. Appl.* — 2003. — Vol. 17, № 4. — P. 253–264.
 20. Perumal S., Antipova O., Orgel J.P. Collagen fibril architecture, domain organization, and triple-helical conformation govern its proteolysis / S. Perumal, O. Antipova, J.P. Orgel // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 2008. — Vol. 105, № 8. — P. 2824–2829.
 21. Influence of engineered titanium nanotubular surfaces on bone cells / K.C. Popat, L. Leoni, C.A. Grimes, T.A. Desai // *Biomaterials.* — 2007. — Vol. 28, № 21. — P. 3188–3197.
 22. Porter J.R. Bone tissue engineering: a review in bone biomimetics and drug delivery strategies / J.R. Porter, T.T. Ruckh, K.C. Popat // *Biotechnol. Prog.* — 2009. — Vol. 25, № 6. — P. 1539–1560.
 23. Hydroxyl groups in bone mineral / C. Rey, J.L. Miquel, L. Facchini et al. // *Bone.* — 1995. — Vol. 16, № 5. — P. 583–586.
 24. Biomolecular surface coating to enhance orthopedic tissue healing and integration / C.D. Reyes, T.A. Petrie, K.L. Burns et al. // *Biomaterials.* — 2007. — Vol. 28, № 21. — P. 3228–3235.
 25. Rho J.Y. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone / J.Y. Rho, L. Kuhn-Spearing, P. Zioupos // *Medical Engineering & Physics.* — 1998. — Vol. 20. — P. 92–102.
 26. Robinson R.A. An electron-microscopic study of the crystalline inorganic component of bone and its relationship to the organic matrix / R.A. Robinson // *J. Bone Joint Surg.* — 1952. — Vol. 34-A, № 2. — P. 389–476.
 27. Solheim E. Growth factors in bone / E. Solheim // *Int. Orthop.* — 1998. — Vol. 22. — P. 410–416.
 28. Mineralization of osteoblasts with electrospun collagen/hydroxyapatite nanofibers / J. Venugopal, S. Low, A.T. Choon et al. // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* — 2008. — Vol. 19, № 5. — P. 2039–2046.
 29. Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics / T.J. Webster, C. Ergun, R.H. Doremus et al. // *Biomaterials.* — 2000. — Vol. 21, № 17. — P. 1803–1810.
 30. Enhanced functions of osteoclast-like cells on nanophase ceramics // T.J. Webster, C. Ergun, R.H. Doremus et al. // *Biomaterials.* — 2001. — Vol. 22, № 11. — P. 1327–1333.
 31. Webster T.J. Osteoblast adhesion on nanophase ceramics / T.J. Webster, R.W. Siegel, R. Bizios // *Biomaterials.* — 1999. — Vol. 20, № 13. — P. 1221–1227.
 32. Weiner S. Bone structure: from angstroms to microns / S. Weiner, W. Traub // *FASEB.* — 1992. — Vol. 6, № 3. — P. 879–885.
 33. Weiner S. The material bone: structure-mechanical function relations / S. Weiner, H.D. Wagner // *Annual Review of Materials Science.* — 1998. — Vol. 28. — P. 271–298.
 34. Wopenka B. A mineralogical perspective on the apatite in bone / B. Wopenka, J.D. Pasteris // *Materials Science and Engineering: C.* — 2005. — Vol. 25, № 2. — P. 131–143.
 35. www.nanomech.biz
 36. www.nbmolecules.com
 37. The effect of incorporating RGD adhesive peptide in polyethylene glycol diacrylate hydrogel on osteogenesis of bone marrow stromal cells / F. Yang, C.G. Williams, D.A. Wang et al. // *Biomaterials.* — 2005. — Vol. 26, № 30. — P. 5991–5998.
 38. Structure, expression, and regulation of the major noncollagenous matrix proteins of bone / M.F. Young, J.M. Kerr, K. Ibaraki et al. // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 1992. — Vol. 281. — P. 275–294.
 39. Biomimetic helical rosette nanotubes and nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium for improving orthopedic implants / L. Zhang, Y. Chen, J. Rodriguez et al. // *Int. J. Nanomed.* — 2008. — Vol. 3, № 3. — P. 323–333.