



УДК 549.01:549.02:549.752:553.086

DOI: 10.35597/2313-545X-2024-10-3-2

## НАНОКОМПОЗИЦИЯ ГИДРОКСИЛАПАТИТА КОРТИКАЛЬНОЙ КОСТНОЙ ТКАНИ

А.А. Бибко<sup>1</sup>, Д.В. Лычагин<sup>1</sup>, О.В. Бухарова<sup>1</sup>, Е.А. Коструб<sup>2</sup>, М.О. Хрущева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
пр. Ленина 36, г. Томск, 634050 Россия; bibko.geology@gmail.com

<sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Московский тракт 2,  
г. Томск, 634050 Россия

Статья поступила в редакцию 19.04.2024 г., после доработки 10.06.2024 г., принята к печати 10.07.2024 г.

**Аннотация.** Гидроксилапатит является одним из главных компонентов костной ткани. В сочетании с коллагеном он обеспечивает уникальные прочностные свойства кости. Наноструктура костной ткани (ее композиция) до сих пор является предметом дискуссий. В работе приведены результаты исследования кортикальной костной ткани крыс методами просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и рентгеновской дифракции. Методом Шеррера установлены размеры кристаллитов гидроксилапатита костной ткани  $8.8 \times 4.0$  нм. Методом ПЭМ зафиксированы таблитчатые кристаллические участки гидроксилапатита в межфибрилярном пространстве коллагена размером от  $10 \times 5$  до  $50 \times 10$  нм. Наблюдаемые в ПЭМ участки представлены кристаллическими агрегатами субблочного строения, что выражается в различной ориентации оси с. При исследовании методом нанодифракции электронов аморфное вещество в костной ткани не обнаружено.

**Ключевые слова:** гидроксилапатит, костная ткань, биоминерал, наноструктура, ПЭМ, метод Шеррера.

**Финансирование.** Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (проект № 0721-2020-0041).

**Благодарности.** Подготовка проб для ПЭМ и съемка проведены на оборудовании Центра коллективного пользования «Нанотех» Института физики прочности и материаловедения СО РАН (г. Томск). Исследования методом рентгеновской дифракции выполнены на оборудовании Томского регионального центра коллективного пользования Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск). Авторы благодарны рецензенту за конструктивные замечания, позволившие улучшить статью.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с рукописью.

**Вклад авторов.** А.А. Бибко, О.В. Бухарова – разработка концепции, исследование; Е.А. Коструб, А.А. Бибко – подготовка биологических образцов; А.А. Бибко, Д.В. Лычагин, М.О. Хрущева – аналитические и экспериментальные работы; А.А. Бибко, О.В. Бухарова, Д.В. Лычагин – написание черновика рукописи; А.А. Бибко, О.В. Бухарова – редактирование финального варианта рукописи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

**Для цитирования:** Бибко А.А., Лычагин Д.В., Бухарова О.В., Коструб Е.А., Хрущева М.О. Наноконпозиция гидроксилапатита кортикальной костной ткани. Минералогия, **10**(3), 20–31. DOI: 10.35597/2313-545X-2024-10-3-2.

## NANOCOMPOSITION OF HYDROXYLAPATITE FROM CORTICAL BONE TISSUE

A.A. Bibko<sup>1</sup>, D.V. Lychagin<sup>1</sup>, O.V. Bukharova<sup>1</sup>, E.A. Kostrub<sup>2</sup>, M.O. Khrushcheva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Research Tomsk State University, pr. Lenina 36,  
Tomsk, 634050 Russia; bibko.geology@gmail.com

<sup>2</sup>Siberian State Medical University, Moscovkiy trakt 2, Tomsk, 634050 Russia

Received 19.04.2024, revised 10.06.2024, accepted 10.07.2024

**Abstract.** Hydroxylapatite is one of the main components of bone tissue. In combination with collagen, it provides unique strength properties of the bone. The nanostructure of bone tissue (its composition) remains a matter of debate. In this work, we studied the cortical bone tissue of rats using transmission electron microscopy (TEM) and X-ray diffraction. According to the results of the Scherrer method, the size of hydroxylapatite crystallites is  $8.8 \times 4.0$  nm. The TEM showed the presence of crystalline hydroxyapatite areas in the interfibrillary space of collagen with the sizes ranging from  $10 \times 5$  to  $50 \times 10$  nm. These areas are the crystalline aggregates with a subblock structure, which is expressed in different orientations of axis *c*. No amorphous substance in bone tissue was identified using electron nanodiffraction.

**Keywords:** hydroxylapatite, bone tissue, biomineral, nanostructure, TEM, Scherrer method.

**Funding.** This work was supported by state contract no. 0721-2020-0041 of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

**Acknowledgements.** Samples for TEM and imaging were prepared using equipment of the Shared Research Center “Nanotech” of the Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Division, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). X-ray diffraction studies were carried out using the equipment of the Tomsk Regional Shared Research Center of the National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). We thank the reviewer for the constructive comments for the improvement of the manuscript.

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no conflicts of interest.

**Author contribution.** A.A. Bibko, O.V. Bukharova – conceptualization, investigation; E.A. Kostrub, A.A. Bibko – preparation of biological samples; A.A. Bibko, D.V. Lychagin, M.O. Khrushcheva – analytical and experimental work; A.A. Bibko, O.V. Bukharova, D.V. Lychagin – writing – original draft; A.A. Bibko, O.V. Bukharova – writing – review & editing. All authors approved the final version of the article before publication. All the authors approved the final version of the manuscript prior to publication.

**For citation:** Bibko A.A., Lychagin D.V., Bukharova O.V., Kostrub E.A., Khrushcheva M.O. Nanocomposition of hydroxylapatite from cortical bone tissue. *Mineralogy*, **10**(3), 20–31. DOI: 10.35597/2313-545X-2024-10-3-2

### ВВЕДЕНИЕ

Гидроксилапатит и коллаген – основные компоненты, из которых состоит костная ткань (Кораго, 1992). Коллаген – это фибриллярный белок, представляющий собой левозакрученную спираль из трех  $\alpha$ -цепей. В костной ткани молекулы коллагена располагаются в шахматном порядке на расстоянии повторения приблизительно 70 нм (Hodge, Petrushka, 1963; Orgel et al., 2006). В модели Ходжа молекулы коллагена расположены так, что между концом одной спирали и началом следующей имеется зазор длиной примерно 40 нм. Шахматный порядок расположения молекул приводит к тому, что эти зазоры выровнены по ширине, создавая зоны разрыва. Часть исследователей склонны считать, что апатит костной ткани располагается именно в

зонах разрыва молекул коллагена, иными словами, внутри фибрилл (Weiner et al., 1991; Hamed et al., 2012), другие полагают, что кристаллы гидроксилапатита присутствуют и вне фибриллярного пространства (Landis et al., 1996). При этом исследователи единодушны в том, что кристаллы гидроксилапатита ориентированы осью *c* вдоль удлинения коллагеновых фибрилл. Однако причины ориентированного роста кристаллов гидроксилапатита относительно коллагена до сих пор остаются предметом дискуссий (Olszta et al., 2007; Burger et al., 2008; Cantaert et al., 2013).

Исследователи костной ткани сходятся в том, что ориентация кристаллов гидроксилапатита диктуется, в первую очередь, самим коллагеном и, согласно популярной модели, «индивиды гидроксилапатита появляются благодаря их эпитаксиальному

росту на коллагеновых фибриллах, что позволяет формировать кристаллы уплощенной, таблитчатой формы», которые трассируют фибриллы по всей их длине (Weiner, Traub, 1986; Burger et al., 2008). Появились работы, в которых показано, что субпараллельная ориентация кристаллов гидроксилатапата, где ось *c* направлена вдоль удлинения фибрилл возникает благодаря анизотропии минералообразующей среды (точки роста связаны с особыми клетками, которые концентрируют вещество, из которого образуется гидроксилатапатит) (Nudelman et al., 2010; Xu et al., 2020;). Другим не менее важным вопросом является структурное состояние неорганических компонентов костной ткани, а, именно, присутствие в ней аморфного фосфата кальция. Долгое время считалось, что доля аморфной фазы в костной ткани составляет порядка 40 % (Miller, Schraer, 1975; Glimcher et al., 1981; Glimcher, 2006). Эти исследования опирались преимущественно на данные рентгеновской дифракции. Однако с совершенствованием приборной базы рентгеновских дифрактометров и появлением просвечивающей микроскопии высокого разрешения эти оценки не получили однозначного подтверждения. Так, в костной ткани была обнаружена фаза состава  $(Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O)$  (Brown et al., 1987; Johnsson, Nancollas, 1992), структурное состояние которой квалифицируется как промежуточное между аморфным и кристаллическим гидроксилатапатитом (Pompe et al., 2015).

Стоит отметить, что апатит костной ткани имеет чрезвычайно сложный химический состав. В нем фиксируются многочисленные замещения как в позиции катиона, так и анионов (Бибко и др., 2023). В общем виде апатит костной ткани можно назвать карбонатсодержащим гидроксилатапатитом (Frank-Kamenetskaya, 2008). Однако для простоты, в дальнейшем, мы будем называть его гидроксилатапатитом.

Таким образом, множество работ по исследованию костной ткани не дают исчерпывающего представления о композиции органо-минерального агрегата, в том числе и ее минеральной составляющей. Разработав регламент анализа кости с использованием просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и метода рентгеновской дифракции с определением областей когерентного рассеяния по методу Шеррера, авторы данной работы установили особенности строения зон кости, сложенных неорганической фазой, и ориентацию в них гидроксилатапатита, а также проанализировали наличие

аморфной фазы. Полученные данные являются основанием для последующих сопоставлений характера преобразований кости, подверженной различным заболеваниям.

## МЕТОДИКА ПОДГОТОВКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

Объектом исследования была костная ткань половозрелых крыс-самок линии Wistar. Для исследования отобраны ткани шести особей массой тела 180–230 г. Особи получены из сертифицированного питомника, где после периода карантина в течение 14 суток содержались в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме и на стандартном рационе со свободным доступом к воде и пище. Круглосуточно в виварии поддерживали относительную влажность 50–65 % и температуру воздуха 20–25 °С. Все процедуры с животными выполняли в утренние часы (с 9:00 до 11:00 местного времени) согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными, используемыми для экспериментальных и иных научных целей (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»). Животных выводили из эксперимента одномоментным декапитированием под  $CO_2$ -наркозом. После вывода из эксперимента был произведен забор бедренных костей. Бедренные кости хранились в спиртовом растворе и перед дальнейшим анализом просушивались на воздухе в течение трех часов и механически зачищались от мышечной ткани.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для съемки образцов на порошковом дифрактометре фрагменты кортикальной кости диафиза измельчали в агатовой ступке до пудры. Порошковые дифрактограммы получены на рентгеновском дифрактометре HAOYUAN DX-2700BH (Dandong Haoyuan Instrument Co, Ltd, China). В качестве эталона для сравнения был выбран чистый кристаллический гидроксилатапатит PDF-2 № 01-070-0795. Съемка проведена при нормальных условиях в геометрии Брэгга-Брентано с использованием  $CuK\alpha$  излучения с  $NiK\beta$  фильтром при напряжении на трубке 40 кВ и токе 30 мА. Рентгенограммы снимались прецизионно с шагом  $0.01^\circ$  в интервале  $24-46^\circ 2\theta$  с выдержкой 0.5 сек в каждой точке.

Дифрактограммы расшифрованы с использованием программного обеспечения PDF-4 и HighScore. Области когерентного рассеяния (размеров кристаллитов) рассчитаны по рефлексам (002) для определения их длины и (310) – для определения их ширины (Ryanskaya et al., 2019; Рянская и др., 2020) по методу Шеррера (Scherrer, 1918). Формула Шеррера имеет следующий вид:  $t = K\lambda / (FWHM \cdot \cos\theta)$ , где  $t$  – размер кристаллита в нанометрах;  $K$  – постоянная Шеррера,  $K = 2$  для рефлекса (002) и  $K = 1$  для рефлекса (310) (Dumont et al., 2011);  $\lambda$  – длина волны используемого  $CuK\alpha$  излучения ( $1.5419 \text{ \AA}$ );  $FWHM$  – полная ширина рефлекса, измеренная на уровне половины его амплитуды в радианах;  $\theta$  – половина угла дифракции рефлекса в градусах.

Метод Шеррера для расчета размера кристаллитов в костной ткани широко применяется для ископаемых останков и «свежей» кости. По этим параметрам в комбинации с данными химического состава гидроксилапатита судят о степени диагенетических изменений костной ткани (Bartsiokas, Middleton, 1992). При захоронении кости обязательно происходит деградация коллагена, что приводит к взаимодействию апатита с окружающей средой, его перекристаллизации и укрупнению (Trueman, 2013). Это фиксируется на рентгенограмме в виде уменьшения полуширины пиков (002) и (310). Для расчета кристаллитов «свежей» костной ткани методом Шеррера часто предварительно кость отжигают при высоких температурах (Atemni et al., 2023; Rabiei et al., 2020). Такой отжиг приводит не только к реорганизации структуры, что отчетливо фиксируется на дифрактограммах (Rogers, Daniels, 2002), но и к изменению ориентации кристаллов (Verezhak, 2016). Таким образом, исследуется не исходный гидроксилапатит костной ткани, а минерал, измененный в ходе термического воздействия. В нашем исследовании кость не подвергалась отжигу.

Чтобы напрямую оценить значения полученных размеров кристаллитов костного гидроксилапатита, они были также исследованы методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Для исследования изготовлен срез вдоль бедренной кости. Срез шлифовался на твердой подложке с использованием абразива SiC до достижения фиксированной толщины: до 1 мм – № 1000, до 0.4 мм – № 2500 и до 0.3 мм – № 5000. Пластины полировались на приборе Model 200 Dimpling Grinder (Fischioneinstruments, США), в результате чего с каждой стороны пластины обра-

зовывались расположенные друг напротив друга углубления, толщина материала между которыми составляла около 20 мкм. Далее образцы подвергались ионному утонению на установке Model 1051 TEM Mill (Fischioneinstruments, США) при ускоряющем напряжении 3 кВ. После этого в ранее полученных углублениях образцы перфорировались. Области, предназначенные для изучения в ПЭМ, располагались по краям отверстий. Полученные образцы исследовали с помощью ПЭМ JEM-2100 (Jeol, Япония), оснащенной приставкой для энергодисперсионного анализа (Oxford Instruments), при ускоряющем напряжении 200 кВ. Исследовано три продольных среза кортикальной костной ткани, всего проанализировано 13 участков, методом нанодифракции электронов проанализировано три участка, электронограммы получены с пяти точек в пределах каждого участка.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Методом прецизионной съемки получена дифрактограмма гидроксилапатита костной ткани (рис. 1). Дифрактограмма гидроксилапатита костной ткани отличается от эталонной фрагментами, где происходит наложение дифракционных пиков, дающих ложное их уширение. Самым ярким примером является область с дифракционными пиками, соответствующим плоскостям (300), (202), (211) и (112). Такое положение может влиять на расчет размеров кристаллитов, которые могут оказаться ложными. Это связано с получением неточных значений полуширины аналитического пика ( $FWHM$ ), которая применяется для расчета по формуле Шеррера. Рассчитанные нами по этой формуле размеры кристаллитов составили  $8.8 \pm 1.6 \text{ нм}$  в длину и  $4.0 \pm 0.6 \text{ нм}$  в ширину.

На изображениях ПЭМ в светлом поле наблюдались таблитчатые кристаллические участки гидроксилапатита (рис 2а), ориентированные субпараллельно коллагеновым фибриллам, которые, в свою очередь, направлены вдоль удлинения кости. На электронограммах фиксируется три дифракционных кольца (рис. 2б). Первое в виде двух дуг характеризует смещение положения рефлекса (002) и указывает на азимутальную разориентацию участков кристаллической фазы относительно друг друга, которая составляет порядка  $30^\circ$ . Поскольку семейство плоскостей (002) располагается перпендикулярно оси с элементарной ячейки кристалла, можно судить о положении отдельных кристаллов



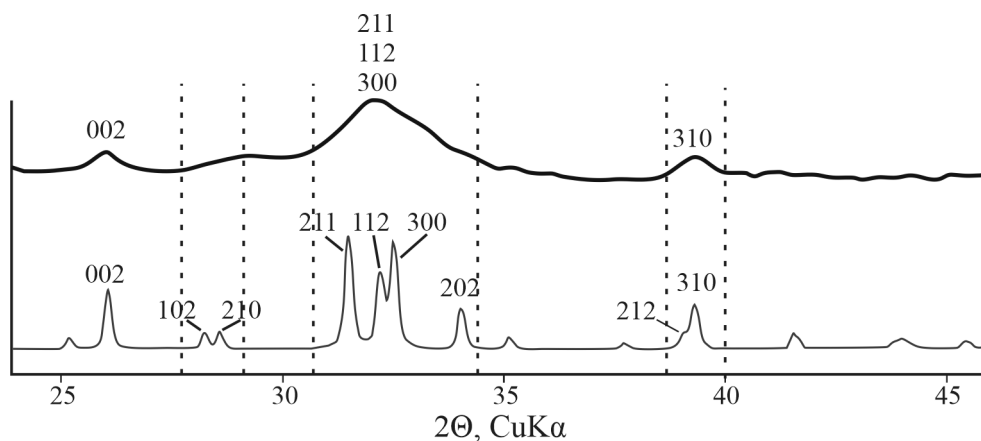


Рис. 1. Дифрактограммы гидроксилатаптита костной ткани (сверху) и эталона PDF-2 № 01-070-0795 (снизу). Пунктирными линиями указаны области соответствий.

Fig. 1. X-ray diffraction patterns of hydroxylapatite of bone tissue (top) and reference sample PDF-2 № 01-070-0795 (bottom).

Dotted lines indicate areas of peak overlap.

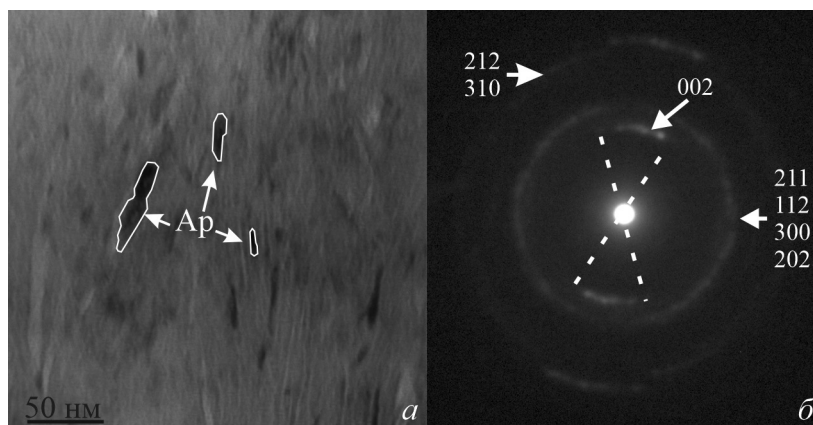


Рис 2. Азимутальная разориентация кристаллических агрегатов гидроксилатаптита в костной ткани: а – изображение в светлом поле, б – электроннограмма участка.

Fig. 2. Azimuthal misorientation of crystalline hydroxylapatite aggregates in bone tissue: а – light field image; б – electron diffraction pattern of the area.

в таблитчатом кристаллическом участке гидроксилатаптита. Вероятно, таблитчатые кристаллические участки гидроксилатаптита являются агрегатом, в котором индивиды могут не быть параллельны и способны отклоняться на угол до  $30^\circ$  относительно друг друга. Второе дифракционное кольцо образуют рефлексы (211), (112), (300) и (202), третье – (310) и (212). Плотность и частота рефлексов на окружности второго и третьего кольца указывают на вариативность положения этих семейств плоскостей. Второе и третье кольца показывают, что индивиды гидроксилатаптита в таблитчатом агрегате могут быть развернуты вокруг оси  $c$  на разные углы.

Для получения детальной информации об ориентации оси  $c$  в кристаллических агрегатах сняты серии изображений в темном поле различных участков дуги рефлекса (002). На полученных изображениях градации серого заменены градациями других цветов для простоты восприятия (рис. 3). На изображениях в темном поле видно, что ориентировка оси  $c$  в кристаллических агрегатах неодинакова по всей его площади. Так, внутри одного кристаллического агрегата могут существовать субблоки с различной ориентацией оси  $c$ . Разориентация оси  $c$  различных субблоков может достигать  $19.2^\circ$  внутри одного таблитчатого агрегата.

Полученные изображения костной ткани в темном поле с использованием картин дифракции

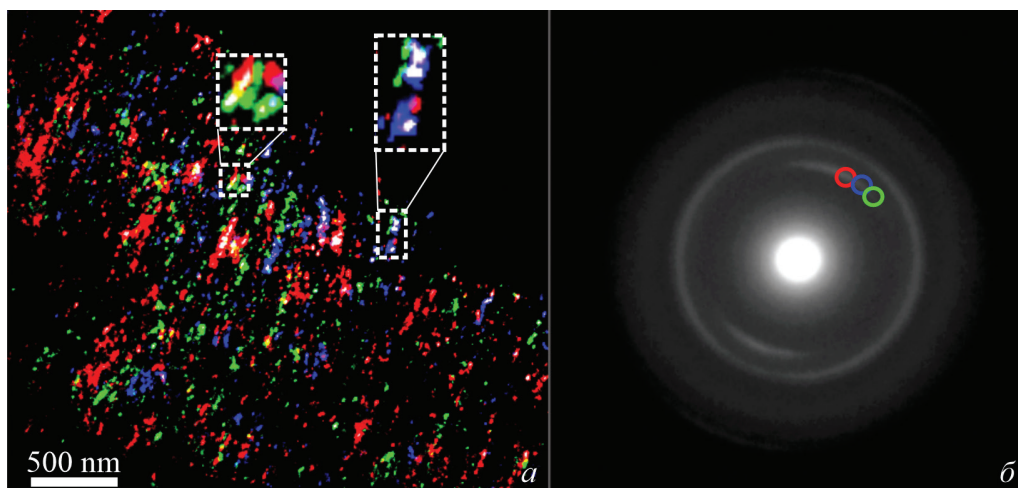


Рис. 3. Субблочная структура кристаллических агрегатов гидроксилатапата в костной ткани: а – наложенная карта изображений в темном поле рефлекса (002); б – электроннограмма участка.

Цвет области на рисунке а соответствует цвету участка на дуге (002), с которого получено изображение в темном поле на рисунке б.

Fig. 3. Subblock structure of crystalline hydroxylapatite aggregates in bone tissue: a – superimposed map of images in dark field of reflection (002), b – electron diffraction pattern of the area.

The color of the area in Figure a corresponds to that of the area on arc (002), from which the dark-field image in Figure b was obtained.

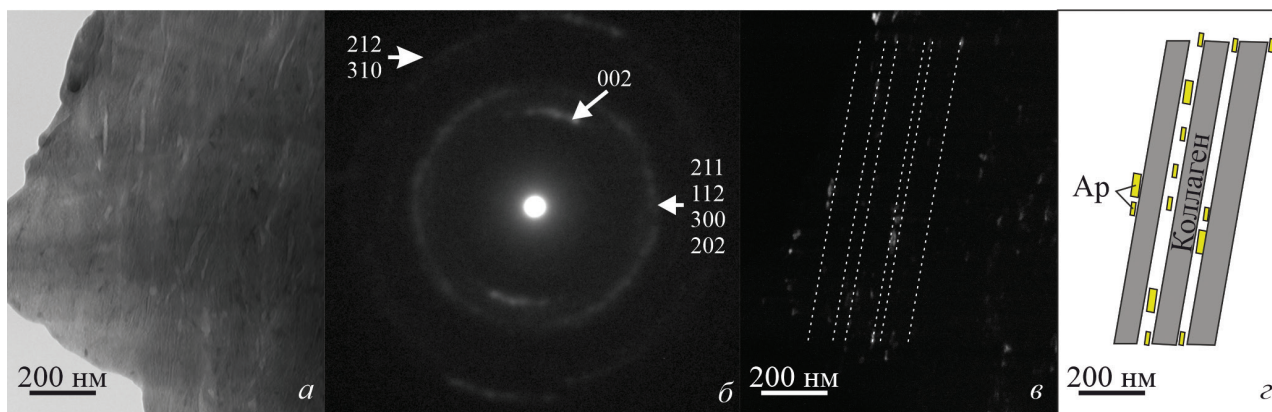


Рис. 4. Наноструктура костной ткани в сечении, параллельном росту кости (ПЭМ фото): а – изображение в светлом поле; б – электронограмма участка; в – изображение в темном поле; г – схематическая интерпретация изображения в темном поле.

Fig. 4. Nanostructure of bone tissue in section parallel to the bone growth (TEM image): a – light field image; б – electron diffraction pattern of the area; в – dark field image; г – schematic interpretation of the dark field image.

от плоскостей (002) (рис. 4в) позволили измерить фактический размер таблитчатых кристаллических агрегатов гидроксилатапата (светлые участки), который варьировал от  $10 \times 5$  до  $50 \times 10$  нм. При этом типе съемки хорошо прослеживаются темные субпараллельно вытянутые зоны, толщина которых составляет примерно 100 нм. Их ширина и выдержанность позволяют идентифицировать их как фибриллы коллагена, в межфибрилярном пространстве которых располагаются таблитчатые агрегаты гидроксилатапата (рис. 4г).

Установив размеры неорганической составляющей костной ткани и проанализировав ориентировку агрегатов и индивидов в них, мы провели нанодифракционную съемку участков, расположенных между таблитчатыми агрегатами гидроксилатапата, что позволило оценить характер кристалличности данных областей. На электроннограмме видно обилие точечных рефлексов (рис. 5б), которое указывает на то, что пространство между таблитчатыми кристаллическими агрегатами гидроксилатапата сложено наноразмерными индивидами фазы, обладающей дальним порядком.

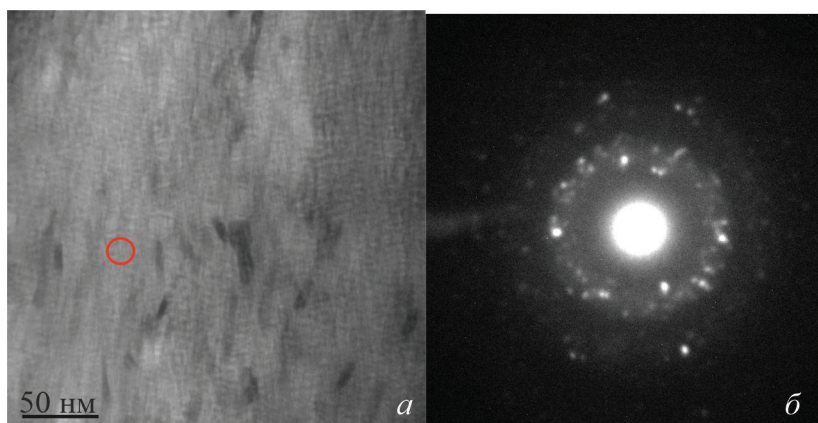


Рис 5. Пример электроннограммы, полученной методом нанодифракции: а – изображение в светлом поле; б – электронограмма области, окружающей гидроксилapatит.

Красным кругом выделен участок съемки электроннограммы.

Fig. 5. Example of electron nanobeam diffraction pattern: а – light field image; б – electron diffraction pattern of the area surrounding hydroxylapatite.

Red circle indicates the area of electron diffraction pattern.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование композиции наноразмерного органоминерального агрегата позволило получить информацию об особенностях структуры здоровой (не затронутой патологическими изменениями) костной ткани. Неорганическая кристаллическая составляющая ожидаемо располагается в межфибрилярном пространстве. Размеры участков, выполненных гидроксилapatитом, варьируют от  $10 \times 5$  нм, что соответствует данным, полученным методом Шеррера ( $8.8 \pm 1.6 \times 4.0 \pm 0.6$  нм), до  $50 \times 10$  нм. Более крупные участки представлены агрегатами, обладающими субблоковой структурой, с малой разориентацией между субблоками. В этом случае метод Шеррера позволяет оценить именно размер субблока. Однако, на этом основании нельзя однозначно утверждать, эквивалентен ли субблок отдельному индивиду, поскольку нельзя определить ориентацию осей  $a(b)$  в субблоке.

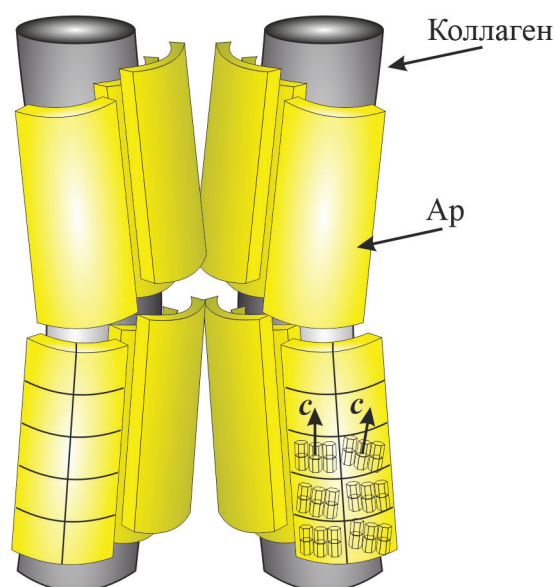
Субблочное строение участков неорганической фазы в кости впервые было показано в работе (Song, Cölfen, 2010), и надежно подтверждено позже (Schwarcz et al., 2014; Grandfield et al., 2018). На изображениях в темном поле рефлекса (002) «свежей» костной ткани выявлены картины «муаровых узоров», которые интерпретировались как «внутренние закономерные малоугловые разориентации», указывающие на субблочное строение, отвечающее мезокристаллам гидроксилapatита (Song, Cölfen, 2010). Субблочность участков гидроксилapatита была зафиксирована нами в ПЭМ (светлом поле).

Геометрия этих участков, представленных агрегатами гидроксилapatита, близка к таблитчатой. Как отмечают исследователи органоминеральных агрегатов, подобная форма минерализованных зон в кости определяется стесненными условиями роста, возникающими из-за плотно расположенных фибрилл коллагена, где образование таблитчатых кристаллических агрегатов гидроксилapatита начинается с формирования зародышей – кристаллических кластеров из аморфной фазы, имеющих гексагональную конфигурацию. Затем, в ходе ступенчатого роста в направлении удлинения коллагеновых волокон, отдельные гексагональные кластеры поглощаются другими и формируют итоговый минеральный агрегат таблитчатой формы (Lotsari et al., 2018). Другие исследователи полагают, что причиной формирования таблитчатых агрегатов является анизотропия скоростей роста зародышей в различных направлениях, которая в итоге приводит к скручиванию вокруг оси с таблитчатых кристаллических агрегатов (Xu et al., 2020). Согласно иной точке зрения, таблитчатая форма гидроксилapatита трактуется как результат наследования изначальной геометрии ранней фазы октакальцийфосфата  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  и его псевдоморфного замещения агрегатом наномерных индивидов гидроксилapatита (Brown et al., 1987). Таким образом, появление таблитчатого гидроксилapatита может быть обусловлено тремя причинами: стесненными условиями роста, наличием фазы-прекурсора и образованием нанокристаллических кластеров.



Рис 6. Схема наноструктуры костной ткани с таблитчатыми агрегатами гидроксилапатита, характеризующимися субблоковым строением и различной ориентацией оси  $c$  минерала в субблоках.

Fig. 6. Scheme of the nanostructure of bone tissue with tabular hydroxylapatite aggregates characterized by subblock structure and different orientations of axis  $c$  in subblocks.



Результаты данного исследования графически подытоживает рисунок 5, показывающий взаимное расположение таблитчатых агрегатов гидроксилапатита и коллагеновых фибрилл. Согласно данным (Burger et al., 2008; Glimcher, 2006), именно фибриллы контролируют ориентировку агрегатов фосфата Са. Несмотря на то, что причина возникновения такой ориентации остается дискуссионной, экспериментальные работы позволяют предполагать в качестве одной из них влияние собственного электрического поля коллагена (Wu et al., 2007; Ficaí et al., 2010). Эффект незначительного искажения табличек, которые закручиваются вокруг коллагеновых фибрилл в межфибрилярном пространстве, регистрируется сплошным кольцом рефлексов (211), (112), (300) и (202) на электронограммах и отражает незакономерное вращение вокруг оси  $c$  нанокристаллов гидроксилапатита в структуре агрегата (рис. 6).

Принципиально важно установить наличие аморфной фазы в составе костной ткани, поскольку ряд исследователей, моделируя механизм формирования кристаллического гидроксилапатита в костной ткани, подразумевают ее в качестве фазы-прекурсора костного апатита. В экспериментах по выращиванию гидроксилапатита неоднократно отмечено присутствие тончайшего аморфного слоя (толщиной менее 1 нм), окружающего кристаллиты гидроксилапатита (Tao et al., 2007; Bian et al., 2012; Ibsen et al., 2016). Полученные нами картины нанодифракции электронов (рис. 5б) не выявили наличия аморфного вещества между агрегатами

гидроксилапатита. Согласно нашим данным, пространство вокруг кристаллов гидроксилапатита заполняет нанокристаллическое вещество. Подобные картины дифракции интерпретируются как октакальцийфосфат, образующий наноконструкции с остеокальцином (Simon et al., 2018).

## ВЫВОДЫ

Таким образом, характер выполнения неорганической фазой структуры костной ткани, не затронутой патологическими изменениями, с одной стороны, лаконичен и полностью регламентируется органической составляющей, однако сами неорганические участки организованы не просто. Прямое наблюдение с помощью ПЭМ установило, что по форме это таблички, вытянутые вдоль коллагеновых фибрилл, размер которых варьирует от  $10 \times 5$  до  $50 \times 10$  нм. Расчетный метод Шеррера позволял зафиксировать размер отдельных кристаллитов ( $8.8 \times 4.0$  нм), что соответствует минимальному размеру участков, сложенных гидроксилапатитом, установленному при помощи ПЭМ. Прецизионный анализ таблитчатых участков дает основание считать, что они имеют субблоковое строение. Полученные картины микродифракции электронов в темном поле рефлекса (002) демонстрируют изменение ориентации оси  $c$  субблоков внутри одного таблитчатого агрегата под углом до  $19.2^\circ$ . Сплошное кольцо рефлексов (211), (112), (300) и (202) на электронограммах отражает незакономерное вращение вокруг оси  $c$  нанокристаллов гидроксилапатита, из которых



состоит таблитчатый агрегат. Присутствие аморфной фазы как фазы-прекурсора костного апатита в пространстве вокруг кристаллов гидроксилатапатита не обнаружено. Зафиксировано нанокристаллическое вещество, дифрактограмма которого подобна таковой октакальцийфосфата.

#### ЛИТЕРАТУРА

Бибко А.А., Бухарова О.В., Коструб Е.А., Мирошниченко А.Г., Коровкин М.В. (2023) Гидроксилатапатит костной ткани: динамика кристаллохимических изменений при остеопорозе. *Минералогия*, 9 (4), 75–89. <https://doi.org/10.35597/2313-545X-2023-9-4-6>.

Кораго А.А. (1992) Введение в биоминералогию. СПб, Недра, 280 с.

Рянская А.Д., Киселева Д.В., Панкрушина Е.А., Косинцев П.А., Бачура О.П., Гусев А.В. (2020) Структурные особенности биогенного апатита субфоссильных скелетных остатков (черепов и рогов) северного оленя из Арктической зоны Западной Сибири. *Труды Ферсмановской научной сессии ГИ КНЦ РАН*. Апатиты, ГИ КНЦ РАН, 477–481. <https://doi.org/10.31241/FNS.2020.17.091>.

Atemni I., Ouafi R., Hjouji K., Mehdaoui I., Ainane A., Ainane T., Taleb M., Rais Z. (2023) Extraction and characterization of natural hydroxyapatite derived from animal bones using the thermal treatment process. *Emergent Materials*, 6(2), 551–560. <https://doi.org/10.1007/s42247-022-00444-1>.

Bartsiakos A., Middleton A.P. (1992) Characterization and dating of recent and fossil bone by X-ray diffraction. *Journal of Archaeological Science*, 19(1), 63–72. [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(92\)90007-P](https://doi.org/10.1016/0305-4403(92)90007-P).

Bian S., Du L.-W., Gao Y.-X., Huang J., Gou B.-D., Li X., Liu Y., Zhang T.-L., Wang K. (2012) Crystallization in aggregates of calcium phosphate nanocrystals: a logistic model for kinetics of fractal structure development. *Crystal Growth & Design*, 12(7), 3481–3488. <https://doi.org/10.1021/cg2016885>.

Brown W.E., Eidelman N., Tomazic B. (1987) Octacalcium phosphate as a precursor in biomineral formation. *Advances in Dental Research*, 1(2), 306–313. <https://doi.org/10.1177/08959374870010022201>.

Burger C., Zhou H., Wang H., Sics I., Hsiao B.S., Chu B., Graham L., Glimcher M.J. (2008) Lateral packing of mineral crystals in bone collagen fibrils. *Biophysical Journal*, 95(4), 1985–1992. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.128355>.

Santaert B., Verch A., Kim Y.-Y., Ludwig H., Paunov V.N., Kröger R., Meldrum F.C. (2013) Formation and structure of calcium carbonate thin films and nanofibers precipitated in the presence of poly (allylamine hydrochloride) and magnesium ions. *Chemistry of Materials*, 25(24), 4994–5003. <https://doi.org/10.1021/cm403497g>.

Dumont M., Kostka A., Sander P.M., Borbely A., Kaysser-Pyzalla A. (2011) Size and size distribution of apatite crystals in sauropod fossil bones. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 310(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2011.06.021>

Ficai A., Andronescu E., Trandafir V., Ghitulica C., Voicu G. (2010) Collagen/hydroxyapatite composite obtained by electric field orientation. *Materials Letters*, 64(4), 541–544. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2009.11.070>

Frank-Kamenetskaya O.V. (2008) Structure, chemistry and synthesis of carbonate apatites – the main components of dental and bone tissues. *Minerals as Advanced Materials I*, 1, 241–252. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-77123-4\\_30](https://doi.org/10.1007/978-3-540-77123-4_30)

Glimcher M.J. (2006) Bone: nature of the calcium phosphate crystals and cellular, structural, and physical chemical mechanisms in their formation. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 64, 223–282. <https://doi.org/10.2138/rmg.2006.64.8>

Glimcher M.J., Bonar L.C., Grynaps M.D., Landis W.J., Roufosse A.H. (1981) Recent studies of bone mineral: is the amorphous calcium phosphate theory valid? *Journal of Crystal Growth*, 53 (1), 100–119. [https://doi.org/10.1016/0022-0248\(81\)90058-0](https://doi.org/10.1016/0022-0248(81)90058-0)

Grandfield K., Vuong V., Schwarcz H.P. (2018) Ultrastructure of bone: hierarchical features from nanometer to micrometer scale revealed in focused ion beam sections in the TEM. *Calcified Tissue International*, 103, 606–616. <https://doi.org/10.1007/s00223-018-0454-9>

Hamed E., Novitskaya E., Li J., Chen P.-Y., Jasiuk I., McKittrick J. (2012) Elastic moduli of untreated, demineralized and deproteinized cortical bone: validation of a theoretical model of bone as an interpenetrating composite material. *Acta Biomaterialia*, 8 (3), 1080–1092. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.11.010>

Hodge A.J., Petrushka J.A. (1963) Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen macromolecule. *Proceedings of Symposium on Aspects of Protein Structure*. London, New-York, Academic Press, 289–300.

Ibsen C.J.S., Chernyshov D., Birkedal H. (2016) Apatite formation from amorphous calcium phosphate and mixed amorphous calcium phosphate/amorphous calcium carbonate. *Chemistry-A European Journal*, 22(35), 12347–12357. <https://doi.org/10.1002/chem.201601280>

Johnsson M.S.-A., Nancollas G.H. (1992) The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 3(1), 61–82. <https://doi.org/10.1177/10454411920030010601>

Landis W.J., Hodgens K.J., Song M.J., Arena J., Kiyonaga S., Marko M., Owen C., McEwen B.F. (1996) Mineralization of collagen may occur on fibril surfaces: evidence from conventional and high-voltage electron microscopy and three-dimensional imaging. *Journal of Structural Biology*, 117(1), 24–35. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1996.0066>

- Lotsari A., Rajasekharan A.K., Halvarsson M., Andersson M. (2018) Transformation of amorphous calcium phosphate to bone-like apatite. *Nature communications*, 9(1), 4170. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06570-x>
- Miller A.L., Schraer H. (1975) Ultrastructural observations of amorphous bone mineral in avian bone. *Calcified Tissue Research*, 18, 311–324. <https://doi.org/10.1007/BF02546249>
- Nudelman F., Pieterse K., George A., Bomans P.H.H., Friedrich H., Brylka L.J., Hilbers P.A.J., de With G., Sommerdijk N.A.J.M. (2010) The role of collagen in bone apatite formation in the presence of hydroxyapatite nucleation inhibitors. *Nature Materials*, 9(12), 1004–1009. <https://doi.org/10.1038/nmat2875>
- Olszta M.J., Cheng X., Jee S.S., Kumar R., Kim Y.-Y., Kaufman M.J., Douglas E.P., Gower L.B. (2007) Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 58(3–5), 77–116. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2007.05.001>
- Orgel J.P.R.O., Irving T.C., Miller A., Wess T.J. (2006) Microfibrillar structure of type I collagen in situ. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(24), 9001–9005. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502718103>
- Pompe W., Worch H., Habraken W.J.E.M., Simon P., Kniep R., Ehrlich H., Paufler P. (2015) Octacalcium phosphate—a metastable mineral phase controls the evolution of scaffold forming proteins. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(26), 5318–5329. <https://doi.org/10.1039/C5TB00673B>
- Rabiei M., Palevicius A., Monshi A., Nasiri S., Vilkauskas A., Janusas G. (2020) Comparing methods for calculating nano crystal size of natural hydroxyapatite using X-ray diffraction. *Nanomaterials*, 10(9), 1627. <https://doi.org/10.3390/nano10091627>
- Rogers K.D., Daniels P. (2002) An X-ray diffraction study of the effects of heat treatment on bone mineral microstructure. *Biomaterials*, 23(12), 2577–2585. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00395-7](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00395-7)
- Ryanskaya A.D., Kiseleva D.V., Shilovsky O.P., Shagalov E.S. (2019) XRD study of the Permian fossil bone tissue. *Powder Diffraction*, 34(S1), S14–S17. <https://doi.org/10.1017/S0885715619000174>
- Scherrer P. (1918) Bestimmung der Grosse und inneren Struktur von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen. *Nach Ges Wiss Gottingen*, 2, 8–100.
- Schwarcz H.P., McNally E.A., Botton G.A. (2014) Dark-field transmission electron microscopy of cortical bone reveals details of extrafibrillar crystals. *Journal of Structural Biology*, 188(3), 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2014.10.005>
- Simon P., Grüner D., Worch H., Pompe W., Lichte H., El Khassawna T., Heiss C., Wenisch S., Kniep R. (2018) First evidence of octacalcium phosphate@osteocalcin nanocomplex as skeletal bone component directing collagen triple-helix nanofibril mineralization. *Scientific Reports*, 8(1), 13696. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31983-5>
- Song R., Cölfen H. (2010) Mesocrystals – ordered nanoparticle superstructures. *Advanced Materials*, 22(12), 1301–1330. <https://doi.org/10.1002/adma.200901365>
- Tao J., Pan H., Zeng Y., Xu X., Tang R. (2007) Roles of amorphous calcium phosphate and biological additives in the assembly of hydroxyapatite nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(47), 13410–13418. <https://doi.org/10.1021/jp0732918>
- Trueman C.N. (2013) Chemical taphonomy of biomineralized tissues. *Palaeontology*, 56(3), 475–486. <https://doi.org/10.1111/pala.12041>
- Verezhak M. (2016) *Multiscale characterization of bone mineral: new perspectives in structural imaging using X-ray and electron diffraction contrast*. (PhD dissertation). Grenoble, Community Université Grenoble Alpes, 227 p.
- Weiner S., Traub W. (1986) Organization of hydroxyapatite crystals within collagen fibrils. *FEBS Letters*, 206(2), 262–266. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(86\)80993-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(86)80993-0)
- Weiner S., Arad T., Traub W. (1991) Crystal organization in rat bone lamellae. *FEBS Letters*, 285(1), 49–54. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80722-F](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80722-F)
- Wu C., Sassa K., Iwai K., Asai S. (2007) Unidirectionally oriented hydroxyapatite/collagen composite fabricated by using a high magnetic field. *Materials Letters*, 61(7), 1567–1571. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.07.080>
- Xu Y., Nudelman F., Eren E.D., Wirix M.J.M., Cantaert B., Nijhuis W.H., Hermida-Merino D., Portale G., Bomans P.H.H., Ottmann C., Friedrich H., Bras W., Akiva A., Orgel J.P.R.O., Meldrum F.C., Sommerdijk N. (2020) Intermolecular channels direct crystal orientation in mineralized collagen. *Nature Communications*, 11(1), 5068. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18846-2>

## REFERENCES

- Atemni I., Ouafi R., Hjouji K., Mehdaoui I., Aina-ne A., Ainane T., Taleb M., Rais Z. (2023) Extraction and characterization of natural hydroxyapatite derived from animal bones using the thermal treatment process. *Emergent Materials*, 6(2), 551–560. <https://doi.org/10.1007/s42247-022-00444-1>
- Bartsiokas A., Middleton A.P. (1992) Characterization and dating of recent and fossil bone by X-ray diffraction. *Journal of Archaeological Science*, 19(1), 63–72. [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(92\)90007-P](https://doi.org/10.1016/0305-4403(92)90007-P)
- Bian S., Du L.-W., Gao Y.-X., Huang J., Gou B.-D., Li X., Liu Y., Zhang T.-L., Wang K. (2012) Crystallization in aggregates of calcium phosphate nanocrystals: a logistic model for kinetics of fractal structure development. *Crystal Growth & Design*, 12(7), 3481–3488. <https://doi.org/10.1021/cg2016885>
- Bibko A.A., Bukharova O.V., Kostrub E.A., Miroshnichenko A.G., Korovkin M.V. Hydroxylapatite of

- bone tissue: dynamics of crystallochemical alterations upon osteoporosis. *Mineralogiya (Mineralogy)*, 9(4), 75–89. (In Russian) <https://doi.org/10.35597/2313-545X-2023-9-4-6>.
- Brown W.E., Eidelman N., Tomazic B. (1987) Octacalcium phosphate as a precursor in biomineral formation. *Advances in Dental Research*, 1(2), 306–313. <https://doi.org/10.1177/08959374870010022201>
- Burger C., Zhou H., Wang H., Sics I., Hsiao B.S., Chu B., Graham L., Glimcher M.J. (2008) Lateral packing of mineral crystals in bone collagen fibrils. *Biophysical Journal*, 95 (4), 1985–1992. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.128355>
- Cantaert B., Verch A., Kim Y.-Y., Ludwig H., Pounov V.N., Kröger R., Meldrum F.C. (2013) Formation and structure of calcium carbonate thin films and nanofibers precipitated in the presence of poly (allylamine hydrochloride) and magnesium ions. *Chemistry of Materials*, 25 (24), 4994–5003. <https://doi.org/10.1021/cm403497g>
- Dumont M., Kostka A., Sander P.M., Borbely A., Kaysser-Pyzalla A. (2011) Size and size distribution of apatite crystals in sauropod fossil bones. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 310(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2011.06.021>
- Ficai A., Andronescu E., Trandafir V., Ghitulica C., Voicu G. (2010) Collagen/hydroxyapatite composite obtained by electric field orientation. *Materials Letters*, 64(4), 541–544. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2009.11.070>
- Frank-Kamenetskaya O.V. (2008) Structure, chemistry and synthesis of carbonate apatites – the main components of dental and bone tissues. *Minerals as Advanced Materials I*, 1, 241–252. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-77123-4\\_30](https://doi.org/10.1007/978-3-540-77123-4_30)
- Glimcher M.J. (2006) Bone: Nature of the calcium phosphate crystals and cellular, structural, and physical chemical mechanisms in their formation. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 64, 223–282. <https://doi.org/10.2138/rmg.2006.64.8>
- Glimcher M.J., Bonar L.C., Grynopas M.D., Landis W.J., Roufosse A.H. (1981) Recent studies of bone mineral: is the amorphous calcium phosphate theory valid? *Journal of Crystal Growth*, 53(1), 100–119. [https://doi.org/10.1016/0022-0248\(81\)90058-0](https://doi.org/10.1016/0022-0248(81)90058-0)
- Grandfield K., Vuong V., Schwarcz H.P. (2018) Ultrastructure of bone: hierarchical features from nanometer to micrometer scale revealed in focused ion beam sections in the TEM. *Calcified Tissue International*, 103, 606–616. <https://doi.org/10.1007/s00223-018-0454-9>
- Hamed E., Novitskaya E., Li J., Chen P.-Y., Jasiuk I., McKittrick J. (2012) Elastic moduli of untreated, demineralized and deproteinized cortical bone: validation of a theoretical model of bone as an interpenetrating composite material. *Acta Biomaterialia*, 8(3), 1080–1092. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.11.010>
- Hodge A.J., Petrushka J.A. (1963) Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen macromolecule. *Proceedings of Symposium on Aspects of Protein Structure*. London, New-York, Academic Press, 289–300.
- Ibsen C.J.S., Chernyshov D., Birkedal H. (2016) Apatite formation from amorphous calcium phosphate and mixed amorphous calcium phosphate/amorphous calcium carbonate. *Chemistry-A European Journal*, 22(35), 12347–12357. <https://doi.org/10.1002/chem.201601280>
- Johnsson M.S.-A., Nancollas G.H. (1992) The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 3 (1), 61–82. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1996.0066>
- Korago A.A. (1992) *Introduction to biomineralogy*. St. Petersburg, Nedra, 280 p. (in Russian)
- Landis W.J., Hodgins K.J., Song M.J., Arena J., Kiyonaga S., Marko M., Owen C., McEwen B.F. (1996) Mineralization of collagen may occur on fibril surfaces: evidence from conventional and high-voltage electron microscopy and three-dimensional imaging. *Journal of Structural Biology*, 117(1), 24–35. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1996.0066>
- Lotsari A., Rajasekharan A.K., Halvarsson M., Andersson M. (2018) Transformation of amorphous calcium phosphate to bone-like apatite. *Nature communications*, 9(1), 4170. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06570-x>
- Miller A.L., Schraer H. (1975) Ultrastructural observations of amorphous bone mineral in avian bone. *Calcified Tissue Research*, 18, 311–324. <https://doi.org/10.1007/BF02546249>
- Nudelman F., Pieterse K., George A., Bomans P.H.H., Friedrich H., Brylka L.J., Hilbers P.A.J., de With G., Sommerdijk N.A.J.M. (2010) The role of collagen in bone apatite formation in the presence of hydroxyapatite nucleation inhibitors. *Nature Materials*, 9(12), 1004–1009. <https://doi.org/10.1038/nmat2875>
- Olszta M.J., Cheng X., Jee S.S., Kumar R., Kim Y.-Y., Kaufman M.J., Douglas E.P., Gower L.B. (2007) Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 58(3–5), 77–116. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2007.05.001>
- Orgel J.P.R.O., Irving T.C., Miller A., Wess T.J. (2006) Microfibrillar structure of type I collagen in situ. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (24), 9001–9005. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502718103>
- Pompe W., Worch H., Habraken W.J.E.M., Simon P., Kniep R., Ehrlich H., Paufler P. (2015) Octacalcium phosphate – a metastable mineral phase controls the evolution of scaffold forming proteins. *Journal of Materials Chemistry B*, 3 (26), 5318–5329. <https://doi.org/10.1039/C5TB00673B>
- Rabiei M., Palevicius A., Monshi A., Nasiri S., Vilkauskas A., Janusas G. (2020) Comparing methods for calculating nano crystal size of natural hydroxyapatite using X-ray diffraction. *Nanomaterials*, 10(9), 1627. <https://doi.org/10.3390/nano10091627>
- Rogers K.D., Daniels P. (2002) An X-ray diffraction study of the effects of heat treatment on bone mineral microstructure. *Biomaterials*, 23(12), 2577–2585. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00395-7](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00395-7)



- Ryanskaya A.D., Kiseleva D.V., Pankrushina E.A., Kosintsev P.A., Bachura O.P., Gusev A.V. (2020) Structural features of biogenic apatite of subfossil skeletal remains (skulls and horns) of reindeer from the Arctic zone of Western Siberia. *Trudy Fersmanovskoj nauchnoy sessii GI KNC RAN (Proceedings of the Fersman Scientific Session of the Geological Institute KSC RAS)*, Apatity, SI KSC RAS, 477–481. (in Russian) <https://doi.org/10.31241/FNS.2020.17.091>
- Ryanskaya A.D., Kiseleva D.V., Shilovsky O.P., Shagalov E.S. (2019) XRD study of the Permian fossil bone tissue. *Powder Diffraction*, 34(S1), S14–S17. <https://doi.org/10.1017/S0885715619000174>
- Scherrer P. (1918) Bestimmung der Grosse und inneren Struktur von Kolloidteilchen mittels Rontgenstrahlen. *Nach Ges Wiss Gottingen*, 2, 8–100.
- Schwarzc H.P., McNally E.A., Botton G.A. (2014) Dark-field transmission electron microscopy of cortical bone reveals details of extrafibrillar crystals. *Journal of Structural Biology*, 188(3), 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2014.10.005>
- Simon P., Grüner D., Worch H., Pompe W., Lichte H., El Khassawna T., Heiss C., Wenisch S., Kniep R. (2018) First evidence of octacalcium phosphate@ osteocalcin nanocomplex as skeletal bone component directing collagen triple-helix nanofibril mineralization. *Scientific Reports*, 8(1), 13696. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31983-5>
- Song R., Cölfen H. (2010) Mesocrystals – ordered nanoparticle superstructures. *Advanced Materials*, 22(12), 1301–1330. <https://doi.org/10.1002/adma.200901365>
- Tao J., Pan H., Zeng Y., Xu X., Tang R. (2007) Roles of amorphous calcium phosphate and biological additives in the assembly of hydroxyapatite nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111 (47), 13410–13418. <https://doi.org/10.1021/jp0732918>
- Trueman C.N. (2013) Chemical taphonomy of biomineralized tissues. *Palaeontology*, 56(3), 475–486. <https://doi.org/10.1111/pala.12041>
- Verezhak M. (2016) *Multiscale characterization of bone mineral: new perspectives in structural imaging using X-ray and electron diffraction contrast*. (PhD dissertation). Grenoble, Community Université Grenoble Alpes, 227 p.
- Weiner S., Arad T., Traub W. (1991) Crystal organization in rat bone lamellae. *FEBS Letters*, 285(1), 49–54. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80722-F](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80722-F)
- Weiner S., Traub W. (1986) Organization of hydroxyapatite crystals within collagen fibrils. *FEBS Letters*, 206 (2), 262–266. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(86\)80993-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(86)80993-0)
- Wu C., Sassa K., Iwai K., Asai S. (2007) Unidirectionally oriented hydroxyapatite/collagen composite fabricated by using a high magnetic field. *Materials Letters*, 61(7), 1567–1571. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.07.080>
- Xu Y., Nudelman F., Eren E.D., Wirix M.J.M., Cantaert B., Nijhuis W.H., Hermida-Merino D., Portale G., Bomans P.H.H., Ottmann C., Friedrich H., Bras W., Akiva A., Orgel J.P.R.O., Meldrum F.C., Sommerdijk N. (2020) Intermolecular channels direct crystal orientation in mineralized collagen. *Nature Communications*, 11(1), 5068. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18846-2>

### Информация об авторах

Бибко Артем Андреевич – младший научный сотрудник, Национальный исследовательский Томский государственный университет; [bibko.geology@gmail.com](mailto:bibko.geology@gmail.com)

Лычагин Дмитрий Васильевич – доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой, Национальный исследовательский Томский государственный университет; [dvl-tomsk@mail.ru](mailto:dvl-tomsk@mail.ru)

Бухарова Оксана Владимировна – кандидат геолого-минералогических наук, доцент, Национальный исследовательский Томский государственный университет; [bukharovagetina@gmail.com](mailto:bukharovagetina@gmail.com)

Коструб Евгений Александрович – руководитель лаборатории, Сибирский государственный медицинский университет; [eugen.kostrub@gmail.com](mailto:eugen.kostrub@gmail.com)

Хрущева Мария Олеговна – кандидат геолого-минералогических наук, научный сотрудник, Национальный исследовательский Томский государственный университет; [masha2904@mail.ru](mailto:masha2904@mail.ru)

### Information about the authors

Artem A. Bibko – Junior Researcher, National Research Tomsk State University; [bibko.geology@gmail.com](mailto:bibko.geology@gmail.com)

Dmitry V. Lychagin – Doctor of Physical-Mathematical Sciences, Head of the Department, National Research Tomsk State University; [dvl-tomsk@mail.ru](mailto:dvl-tomsk@mail.ru)

Oksana V. Bukharova – Candidate of Geological-Mineralogical Sciences, Associate Professor, National Research Tomsk State University; [bukharovagetina@gmail.com](mailto:bukharovagetina@gmail.com)

Evgeny A. Kostrub – Head of the Laboratory, Siberian State Medical University; [eugen.kostrub@gmail.com](mailto:eugen.kostrub@gmail.com)

Maria O. Khrushcheva – Candidate of Geological-Mineralogical Sciences, Researcher, National Research Tomsk State University; [masha2904@mail.ru](mailto:masha2904@mail.ru)