

**CENTERS OF HUMAN TISSUE BIOMINERALIZATION
(CALCIFICATION).
PART I**

**Centra biomineralizacji (zwapnień) tkanek człowieka.
Część I.**

Maciej Pawlikowski*,

*/ AGH- Univ. Science and Technology, Cracow, Poland.

E-mail: mpawlik@agh.edu.pl

Abstract

Biom mineralization of tissues includes both mineralization processes that are necessary for the functioning of the organism and those that are harmful for it. This article discusses both types of mineralization, with particular focus on the occurrence of the so-called crystallization centers, i.e. places where the mineralization begins. Primary and secondary crystallization centers are distinguished. Characteristics of developing biomineralization and its consequences are discussed.

Key words: mineralization tissue

Streszczenia

Biomineralizacja tkanek obejmuje zarówno procesy mineralizacji niezbędnej do funkcjonowania organizmu jak też mineralizacji dla organizmu szkodliwej. W artykule omówiono oba rodzaje mineralizacji zwracając szczególną uwagę na występowanie tzw. centrów krystalizacji czyli miejsc w których mineralizacja się rozpoczyna. Wyróżniono pierwotne centra krystalizacji i centra wtórne. Scharakteryzowano tworzącą się biomineralizację i omówiono jej skutki.

Słowa kluczowe: mineralizacja, tkanki,

Prace zrealizowano w ramach grantu statutowego AGH nr 11.11.140.319

Wstęp

Zjawiska kalcyfikacji, inaczej biomineralizacji tkanek są powszechnie znane i opisywane w literaturze (Pawlikowski 1993, 1995). Jak dotychczas brak jest pełniejszej charakterystyki tego procesu od strony mineralogicznej i biochemicznej. Prezentowany artykuł ma za zadanie uszczegółowienie informacji o tych procesach.

Mineralizacja tkanek jest zjawiskiem zarówno koniecznym (kości, zęby), jak też zjawiskiem dla organizmu zabójczym (mineralizacja tętnic, elementów serca, chrząstki, mózgu, płuc, nowotworów itd.)

Dla rozwoju obu rodzajów mineralizacji tj. niezbędnej i niekorzystnej wymagane są z jednej strony substancje mineralizujące, a z drugiej centra krystalizacji czyli miejsca w których ta mineralizacja może się rozwinąć. Bez spełnienia obu tych warunków mineralizacja tkanek jest niemożliwa. Dłyczy to zarówno mineralizacji niezbędnej jak i niekorzystnej.

Celem rozpoznania mineralizacji jak też zrozumienia sposobów jej powstawania jest zapobieganie „zwapnieniom” a jeśli już się utworzą – ich rozpuszczanie. Problemu tego nie można przecenić bowiem skutkuje wieloma chorobami a w konsekwencji śmiercią.

Mineralizacja tkanek zwłaszcza ta niekorzystna może być ukryta lub jawna (Pawlikowski 1987, 1995, Pawlikowski, Ryskała 1991 a).

Mineralizacja ukryta nie manifestuje się ani makroskopowo ani mikroskopowo. Można ją wykryć wyłącznie czułymi metodami chemicznymi. Pomimo „normalnego” wyglądu tak zmineralizowane tkanki ujawniają podwyższone zawartości różnych pierwiastków. Lokują się one w strukturach biologicznych zastępując atomy w atomowych strukturach różnych związków organicznych lub lokują się w miejscach uszkodzenia tych struktur. Ten typ mineralizacji może zatrzymać się lub ewoluować przechodząc w mineralizację jawną.

Mineralizacja ta jest rozpoznawalna makroskopowo i mikroskopowo. Reprezentują ją różnego rodzaju formy takie jak ziarna mineralne, blaszki (np. miazdycowe), a nawet kryształy.

Kości

Mineralizacja kości to mineralizacja kolagenu kostnego przez fosfatazę alkaliczną wytwarzaną przez osteblasty. Kolagen kostny posiada zaprogramowane genetycznie centra krystalizacji w których z fosfatazy alkalicznej krystalizuje hydroksyapatyt węglanowy. Centra to miejsca w atomowej strukturze kolagenu w których wstępują wolne wiązania czyli ładunki elektryczne. To one powodują, że ze znajdującej się w pobliżu fosfatacy alkalicznej łączą się z kolagenem kolejne kationy i aniony budując mikrokryształy hydroksyapatytu węglanowego (Fig. 1). Obsadzanie wszystkich centrów krystalizacji w kolagenie kostnym i pełny rozwój towarzyszący im

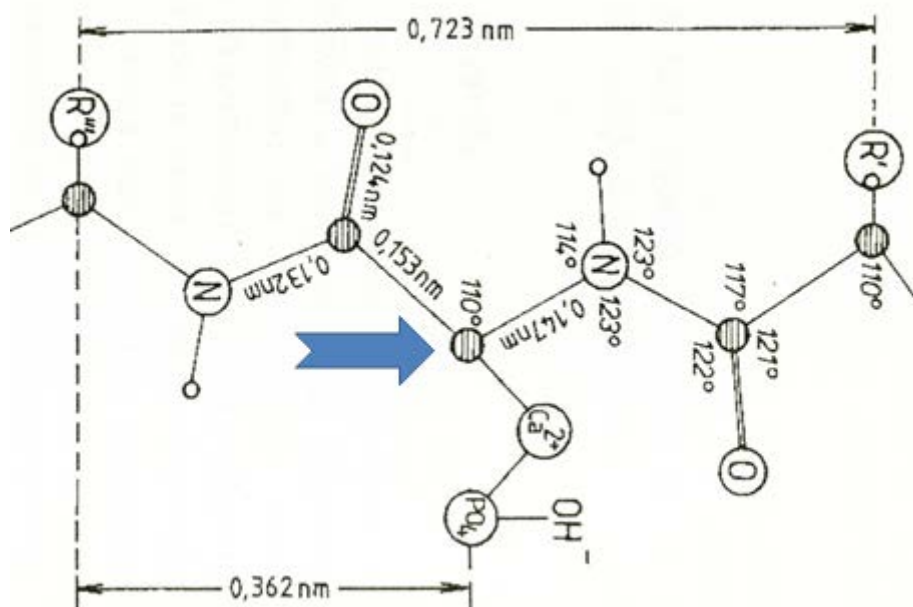


Fig. 1 Scheme showing center of crystallization of hydroxyapatite $\{Ca_5(PO_4, CO_3)_3OH, Cl, F\}$ in bone collagen (wg. Pawlikowski 1995).

centach kryształków zamuja kilkanaście lat i prowadzi do pełnego rozwoju kości. Dzięki temu procesowi kość osiąga swoje optymalne parametry wytrzymałościowe.

Poznanie wspomnianego procesu, a zwłaszcza czynnika lub czynników osteogenezy są istotne zarówno w przypadku zrostu kostnego jak i np. rozwoju nowotworów kości. Ma podstawowe znaczenie w wielu chorobach kości w tym z związanych z ich niedomineralizowaniem lub nadmierną mineralizacją. Może się ono także okazać kluczowym w walce z osteoporozą (niedźwiedzki, Pawlikowski 1990, Niedźwiedzki i in.1993b, Pawlikowski, Niedźwiedzki 2002, Pawlikowski 2014b, 2016 2016a, b. Bowiem stymulacja kości do samoodbudowywania może nie tylko zatrzymać osteoporozę ale doprowadzić ją do doskonałej kondycji. Pozytywne skutki stymulowania tego procesu są absolutnie nie do przecenienia.

Podstawowy problem do ponowne uruchomienie wytwarzania fosfatazy alkalicznej przez mitochondria osteoblastów i generowanie kolagenu z centrami krystalizacji. Stworzenie tych dwóch elementów jest podstawą osteosyntezy i np. regeneracji zniszczonych przez osteoporozę beleczek kostnych.

Omawiane zjawiska występowania centrów krystalizacji kryształów łączą się także z demineralizacją kości i zanikiem beleczek kostnych. Warunki tej destrukcji to ustalenie takiego pH by rozpuszczał się hydroxyapatyt węglanowy, który znajduje się w kolagenie kostnym. A rozpuszcza się on gdy pH jest mniejsze od 6.6 czyli gdy środowisko jest „kwaśne” (Pawlikowski, Niedźwiedzki 2002, Pawlikowski 2016). „Zakwaszone” środowiska kostnego

ma miejsce w przypadku, gdy występuje w nim nadmiar CO₂. Taka sytuacja ma miejsce np. w przypadku zatkania mikronaczyń kostnych i nieodprowadzania tego gazu, który jest produktem metabolizmu komórek kostnych. Ma one miejsce gdzie mikronaczynia kostne są „zatkane” (Pawlikowski 2016). Wówczas kryształy hydroksyapatytu węglanowego ulegają rozpuszczeniu. Powstają liki w kolagenie, który wówczas łatwiej ulega destrukcji. Skutkiem jest zanik beleczek kostnych i osłabienie fizycznych parametrów kości, a zatem większa podatność na ich łamliwość.

Tętnice i elementy serca

Mineralizacji podlegają tętnice (od małych do dużych) natomiast żyły nie są mineralizowane (Pawlikowski, Ryskała 1991, Pawlikowski, Pfitzner 1999). Wiąże się to z chemizmem krwi w jednych i drugich naczyniach. Utlenowana krew tętnicza jest lekko zasadowa, zaś krew żylna zawierająca CO₂, który łatwo tworzy kwas węglowy, ma odczyn lekko kwaśny. Ta różnica wystarcza, by fosforanami mineralizowały się tętnice a nie żyły (Pawlikowski, Pfitzner 1995 b, c, Pawlikowski i in. 1995c, 1999, 2003 bPawlikowski 1999).

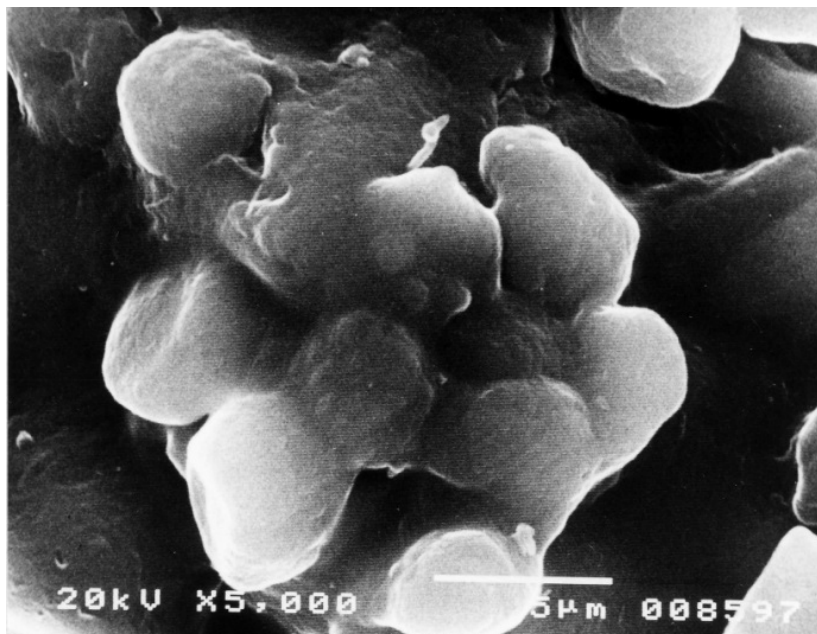
Mineralizacja tętnic obejmuje zarówno ich ścianę jak też wewnętrzną powierzchnię, która jest pokryta śródbłonkiem.

Mineralizacja tętnic może być ukryta i jawna, Prowadzi do różnego rodzaju dysfunkcji tętnic, które są niebezpieczne dla człowieka. Najczęściej reprezentują ją fosforany w tym hydroksyapatyt węglanowy, cholesterol, tłuszcze i in.

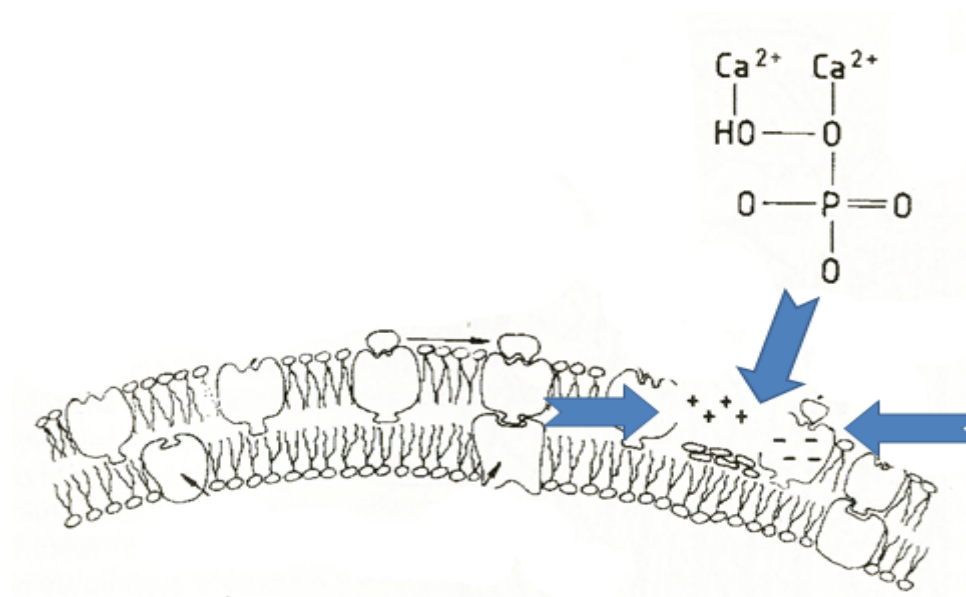
Do rozwoju mineralizacji tętnic niezbędne jest także spełnienie dwóch warunków to znaczy w krwi tętniczej musi być substancja mineralizująca, a w tętnicy muszą być centra krystalizacji.

Różne są przyczyny obecności podwyższonych ilości „mineralizatorów” i nie będą tu omawiane. Podobnie jest z centrami krystalizacji (mineralizacji) cholesterolu, zwapnień itd. Centra te czyli miejsca w których może się rozwijać np. „płytką miażdżycową” mogą mieć charakter genetyczny i być przekazywane z pokolenia na pokolenie. Mogą być także wtórne czyli być efektem mechanicznego zniszczenia tętnic w wyniku nadmiernego wysiłku fizycznego, oddziaływania chemikaliów i i cząsteczek stały dostających się z zewnątrz do organizmu (układu krwionośnego). Mogą także powstawać jako skutek przebytych infekcji. W tym wypadku czynnikiem niszczącym ścianki tętnic, ich wewnętrzną powierzchnię (intima) ale także elementy lewej części serca są toksyny powstające w wyniku metabolizmu infekujących mikroorganizmów. Właśnie te toksyny niszczą wspomniane elementy tętnic i serca. Skutki tego oddziaływania to miejsca w których zniszczeniu ulega atomowa struktura tkanek. Powstają uszkodzone miejsca, które charakteryzują się występowaniem wolnych wiązań chemicznych, które są obdarzone ładunkami elektrycznymi. Są to centra krystalizacji, w których może rozpoczynać się proces mineralizacji uszkodzonych tętnic i elementów serca (Phot. 1, Fig. 2). Centra te występują przypadkowo stąd przypadkowe jest rozmieszczenie.

Mogą się one współwystępować z centrami o innej genezie (genetycznymi, i in.) zacierając obraz pierwotnych przyczyn ich powstawania.



Phot. 1 Phosphate (apatite) crystals mineralizing the endothelium surface in the carotid. SEM.



Rys. 2 Schemat zniszczenia śródbłonna i powstania obdarzonego ładunkami elektrycznymi centrum krystalizacji, w którym jest możliwy rozwój mineralizacji np. hydroxyapatytem lecz także cholesterolem i in. (Wg. Pawlikowski 1995).

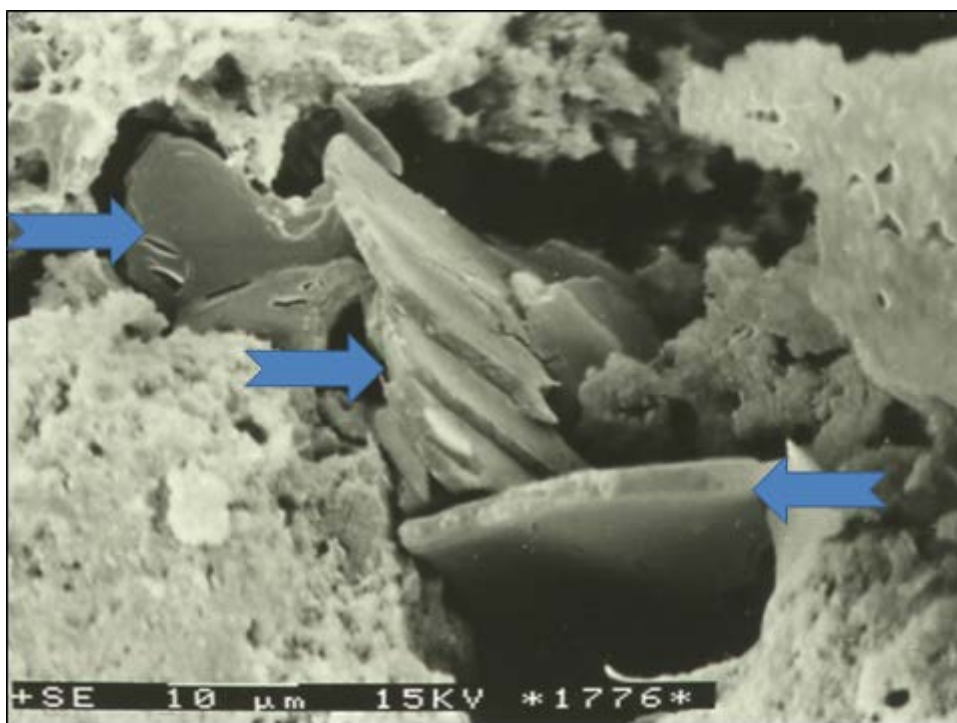
Zbliżony mechanizm ma tworzenie się centrów krystalizacji (powstawania zwapnień) w samej ścianie tętnic. Tworzące się tu defekty strukturalne w np. w mięśniówce mogą mieć podłoże zarówno genetyczne, mechaniczne jak też infekcyjne. Inicjacja krystalizacji ma miejsce właśnie w tych miejscach. Jej

skutki są powszechnie znane. Często w badanych tętnicach współwystępują ze sobą oba rodzaje mineralizacji tzn. na śródbłonku i w ścianie. Ich rozlokowanie jest związane z lokalizacją uszkodzeń tkanek i ma charakter przypadkowy. Może obejmować zarówno duże jak i małe tętnice choć te ostatnie ze względu na małe średnice wydają się predysponowane do szybszej mineralizacji.

Interesującym zjawiskiem jest mineralizacja (krystalizacja) rozwijająca się w tkankach z punktu widzenia iloczynów rozpuszczalności różnych substancji. Żadna z substancji mineralizujących tkanki nie występuje w tych tkankach lub płynach ustrojowych w ilościach przekraczających ich iloczyn rozpuszczalności. Przekroczenie tych wartości (ilości „mineralizatorów”) oznaczałoby bowiem zagładę organizmu, a jednak krystalizacja tkanek odbywa się jest zjawiskiem powszechnym.

Badania wskazują, że mineralizacja tkanek odbywa się dzięki prądom jonowym, a nie przekroczeniu iloczynu rozpuszczalności. Zjawisko to można opisać następująco. W centrum krystalizacji, w związku ze zniszczeniami atomowych struktur biologicznych występują ładunki elektryczne, które są „magnesem” wychwytyjącym przepływające, naładowane elektrycznie jony. Wychwycone jony, nie tylko w określony sposób wiążą się ze zdeformowaną strukturą, lecz same posiadając ładunki elektryczne wyłapują kolejne jony. Tym sposobem rozpoczyna się i jest kontynuowany proces powstawania kryształów, konkrementów, płytki miażdżycowej itd.

Interesującym jest, że skutkiem tak rozwijającej się mineralizacji jest powstawanie w tętnicach i elementach serca nie tylko kryształów nieorganicznych (np. hydroxyapatytu) czy cholesterolu, który jest też substancją krystaliczną choć organiczną. W wyniku tego procesu mogą powstawać kryształy mieszane organiczno-mineralne lub mineralno - organiczne o różnych proporcjach obu komponentów (Fot. 2). Ma to miejsce wówczas gdy we krwi tętniczej występują podwyższone ilości obu składników tzn. wapnia, fosforu i cholesterolu. Jest to nie tylko naukowo interesujące lecz stwarza dodatkowe, poważne problemy w podejmowaniu prób rozpuszczania tak powstałych substancji mineralno-organicznych (Pawlikowski 1999).



Fot. 2 Kryształy cholesterolu zawierające domieszkę fosforanów (kryształy o mieszanej budowie organiczno-nieorganicznej) krystalizujące w centrum krystalizacji tj. zniszczonym stanem zapalnym płatków zastawki aortalnej. SEM.

Płuca

Zwapnienia czyli mineralizacja płuc – podobnie jak innych tkanek rozwija się szczególnie po infekcjach. Mikroorganizmy wywołujące infekcje i stany obejmują płuca zwłaszcza gdy do infekcji dochodzi drogą wziewną. Namnażające się w płucach, w trakcie infekcji mikroorganizmy (bakterie, wirusy, grzyby, i in.) wydzielają, jako produkty ich metabolizmu różnego rodzaju toksyny. Ilość tych toksyn i ich oddziaływanie m.in. na pęcherzyki płucne zwiększa się w miarę zwiększania się namnażania się mikroorganizmów infekujących płuca i cały organizm. W tym etapie infekcji wzrasta destrukcyjne oddziaływanie wspomnianych toksyn na płuca, ale też na inne organy, bowiem toksyny krążą w układzie krwionośnym po całym organizmie.

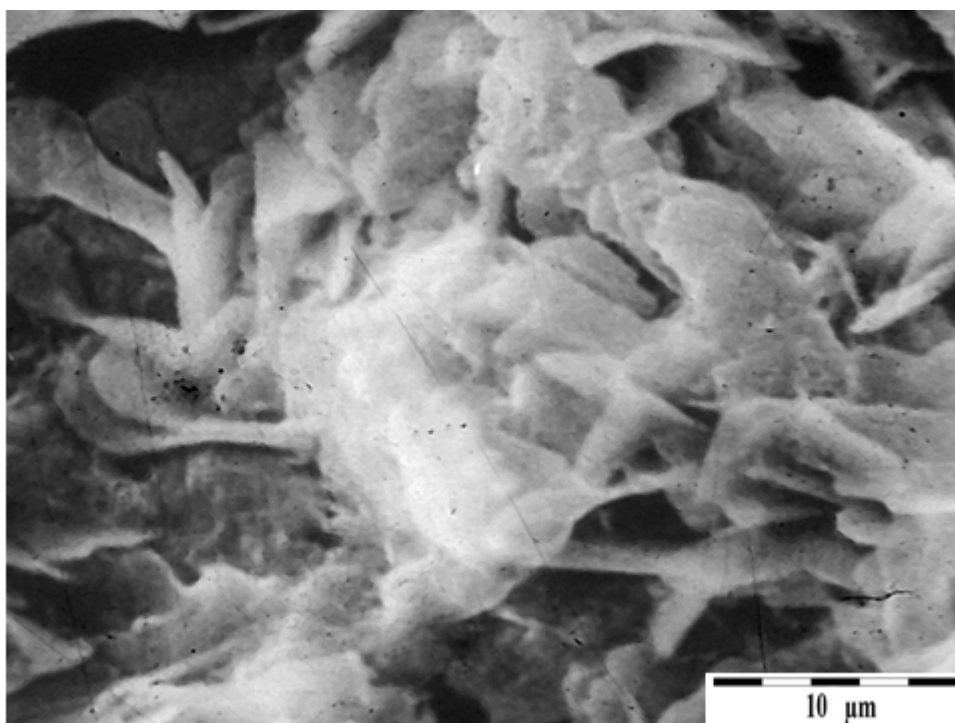
Ten etap rozwoju choroby to rozwój procesu destrukcji tkanek w płucach i powstawania centrów przyszłej krystalizacji.

Płuca są miejscem szczególnym w którym następuje wymiana znajdującego się we krwi żyłnej CO_2 na tlen krążący w krwi tętniczej. Ta wymiana powoduje zmianę pH z lekko kwaśnego – w krwi żyłnej, na lekko zasadowe w krwi tętniczej. W związku z tym procesem zmiany warunków chemicznych powstaje możliwość powstawania zwapnień (mineralizacji) w tętnicach transportujących w płucach utlenioną krew. W zdrowym, nie zainfekowanym, organizmie nie ma jednak centrów krystalizacji (zniszczonych tkanek) i zwapnienia nie powstają.

Z punktu widzenia fizykochemii środowiska (krystalizacja jest niemożliwa. Nie powstają one także w fazie rozwoju infekcji bowiem toksyny wytwarzane przez mikroorganizmy mają odczyn kwaśny (CO_2 , kwasy organiczne i in.) i uniemożliwiają krystalizację fosforanów – głównych komponentów zwapnień.

Sytuacja ulega zmianie w momencie zdrowienia organizmu, gdy w organizmie są systematycznie likwidowane infekujące mikroorganizmy. „Środowisko” płuc z zainfekowanego i „zakwaszonego” wraca do normalnych pierwotnych warunków. Wartość pH wzrasta do lekko alkalicznej i pojawiają się chemiczne warunki do krystalizacji fosforanów wapnia (zwapnień – Fot 3). Dodatkowo po infekcji w płucach są miejsca zniszczone przez toksyny infekujących mikroorganizmów czyli centra krystalizacji. Rozpoczyna się proces krystalizacji zwapnień w płucach, który potem możemy oglądać rentgenologicznie. Powstanie zwapnień bez wątpienia pogarsza wymianę gazową w płucach jest więc zjawiskiem niekorzystnym.

Czy można ograniczyć proces powstawania zwapnień w płucach i całym organizmie?. Bez wątpienia sposobem jest ograniczenie ilości centrów krystalizacji, czyli ograniczenie ilości toksyn wytwarzanych przez infekujące mikroorganizmy. Sposobem jest szybkie wstrzymanie namnażania się infekujących mikroorganizmów poprzez stosowanie odpowiednich leków w tym antybiotyków.



Fot. 3 Agregat fosforanowo – cholesterolowy w zwapnieniu płuca. SEM.

Nowotwory

W tkankach nowotworowych notuje się podwyższone zawartości pierwiastków (Pawlikowski 1991c, 1993a, 2011, 2013 a, 2017b) oraz intensywny rozwój naczyń krwionośnych (Harper , Moses 2006, (Eicholz i in. 2010, Shahnah i in. 2013, Wietechaa i in. 2013, Kurzyk 2014a, Pawlikowski 1017a). Przeważnie mineralizacja ma charakter ukryty, a ich ilości są niewielkie w związku z czym można je oznaczyć wyłącznie czułymi metodami chemicznymi. Niekiedy jednak w guzach nowotworowych pojawiają się masywne „zwapnienia”. Jest to najczęściej mineralizacja fosforanami wapnia.

Wykonane badania wskazują, że mineralizacja miejsc objętych procesem nowotworowym może mieć dwojaka genezę.

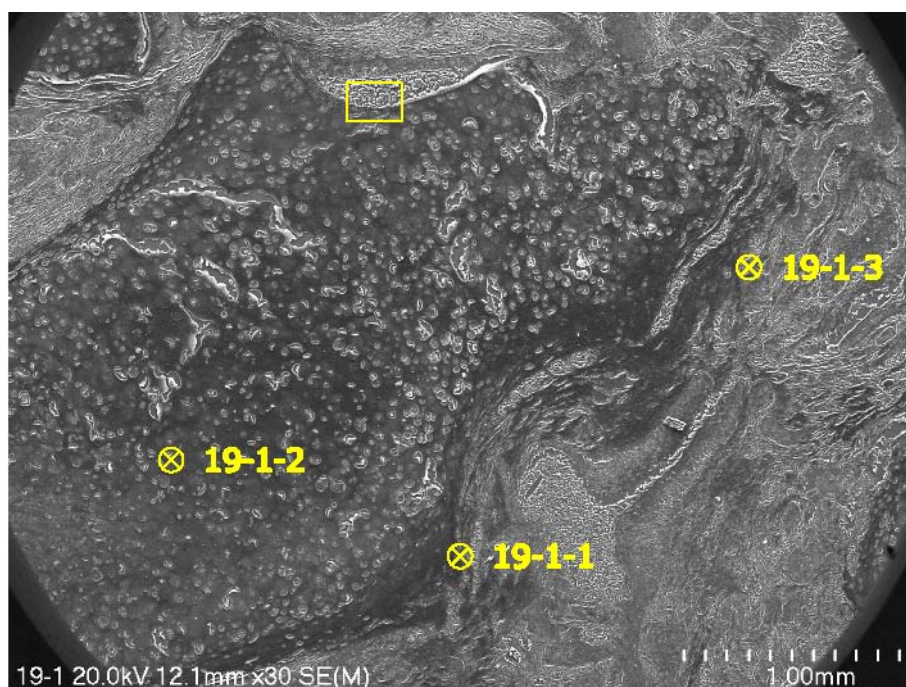
Pierwsza faza mineralizacji to faza w której mineralizowane są płyny ustrojowe w tkankach. W płynach pojawiają się nie tylko podwyższone ilości kationów i anionów (głównie Ca, P ale także innych) ale występują także podwyższone, choć nieznacznie ilości obdarzonych ładunkami cząsteczek (kancerogennych – smółki z papierosów, azbest, itd.).

Zarówno znajdujące się w tych płynach jony jak i związki stają się zagrożeniem i mogą mineralizować DNA w momencie mnożenia się komórek (komórki). W tym momencie ma miejsce także podział komórkowego DNA. W DNA różne jego części decydują o różnych procesach życiowych komórki. Jest w nim także fragment decydujący za częstości prokreacji komórki. Jego zdefektowanie może zadecydować o przyspieszeniu mnożenia się komórki.

Jeśli podział komórki i DNA ma miejsce w środowisku w którym znajduje się zbyt mało lub zbyt dużo „mineralizujących” substancji istnieje możliwość powstania defektu strukturalnego w całym DNA w tym także w odcinku szczególnym to jest w odcinku DNA odpowiedzialnym za częstość mnożenia się komórki.

Istnieje możliwość wystąpienia tego defektu w różnych miejscach odcinka odpowiedzialnego za mnożenie się komórki. DNA. Ponadto możliwe jest także przyłączenie do tego fragmentu DNA różnych substancji, które znajdują się w miejscu mnożenia się komórki.

Dodatkowo zdefektowanie DNA może mieć miejsce w komórkach różnych tkanek. Z tych powodów wynika bogactwo i różnorodność nowotworów zaś cały proces z punktu widzenia mineralogii można określić procesem biomineralizacji DNA, która w tym wypadku prowadzi do rozwoju procesu nowotworowego czyli raka (Fot. 4, Tab. 1).



Fot. 4. Carcinoma planoepitheliale 1.3.1 wg WHO. Punkty zaznaczone na żółto – miejsca wykonania analiz chemicznych metodą EDS. Mikroskop skaningowy, powiększenie wg skali (Pawlikowski 2013a).

Tab. 1

**Wyniki analizy chemicznej próbki w punkcie
19-1-1 (Fot. 4 - (Pawlikowski 2013a).**

pierwiastek	zawartość (% wag.)
Na	0
Mg	0
Al	0
Si	0
Ca	4,34
Fe	0,67
Sn	0,59
P	3,58
S	2,89
K	0
Cl	0
N	0

Prowadzone badania tkanek nowotworowych wskazują dodatkowo, że także one same (namnażające się komórki) w dalszych etapach procesu nowotworowego mogą być nadal mineralizowane. Sugeruje to zdolność komórek nowotworowych (prawdopodobnie nie wszystkich rodzajów nowotworów) do zmiany chemizmu lokalnego środowiska rozwijającego się guza. (Pawlikowski 1991c, 1993a, 2011, 2013a, 2017b).

Powyższe procesy nakładając się na siebie tworzą wyjątkowo skomplikowany i trudny do rozwikłania obraz. Zwłaszcza, że biomineralizacja nowotworów, którą obserwujemy radiologicznie lub histopatologicznie często nie ujawnia śladowych, subtelnych i tak istotnych zmian chemizmu tkanek.

Mamy bowiem do czynienia:

- z pierwotną mineralizacją płynów ustrojowych (spowodowaną różnymi czynnikami)
- z biomineralizacją DNA (w różnych miejscach) w trakcie podziału komórki
- z wtórną mineralizacją nowotworu (np. przestrzeni międzykomórkowych) przez substancje wydzielane przez komórki nowotworowe

Dodatkowo proces nowotworzenia może być zatrzymany na każdym z tych etapów.

Wszystkie wspomniane zjawiska prowadzące do powstawania nowotworów decydują o ogromnej złożoności procesów ich leczenia.

Podsumowanie

Zaprezentowano wiedzę i poglądy na powstawanie i biomineralizację centrów krystalizacji w wybranych tkankach człowieka. Otrzymane wyniki badań mogą posłużyć jako podstawa dalszych badań dotyczących m.in. osteoporozy, prawidłowej mineralizacji kości, walki z miażdżycą poprzez blokowanie centrów krystalizacji w tętnicach jak też przeciwdziałania mineralizacji DNA w procesach rozwojowych nowotworów.

Literatura

Eichholz A., Merchant S., Gaya A.. Anti-angiogenesis therapies: their potential in cancer management. *Onco. Targets Therapy* (2010) 3: 69-82.

Harper J., Moses M.A.. Molecular regulation of tumor angiogenesis: mechanisms and therapeutic implications. *EXS* (2006) 96: 223-268.

Kurzyk A. Angiogenesis - possibilities, problems and perspectives. *Postępy biochemii* (2014a) 61: 25-34.

Pawlikowski M., Mineralizacja organizmu człowieka żyjącego. (Mineralization of human living organism). *Prace Mineral.* (1987) 79: 121.

Niedźwiedzki T, Pawlikowski M. Zmiany mineralogiczne zachodzące w obszarze gojenia złamań kości długich. (Mineralogical phenomena observed at healing part of broken bones). *Chirurgia Narz. Ruchu i Ortop. Pol.* (1990) T. LV: 277-281.

Pawlikowski M, Ryskala Z., Charakterystyka mineralogiczno-chemiczna fosforanowej mineralizacji wybranych naczyń tętniczych człowieka. (Mineralogical - chemical characteristic of phosphate mineralization of human arteries). Roczniki Nauk.- Dyd. WSP w Krakowie Prace Fizjologiczne (1991a): 81-104.

Pawlikowski M., Mineralizacja pęcherzyka żółciowego (Mineralization of gallblader). W: Biomineralizacja i biomateriały. PWN, Warszawa (1991b),: 84-92.

Pawlikowski M., Mineralizacja nowotworowa (Mineralization cancer). W: Biomineralizacja i biomateriały. PWN, Warszawa (1991c),: 84-92.

Pawlikowski M. Kryształy w organizmie człowieka. (Crystals of human organism). Secesja. (Atlas) (1993a):132.

Niedźwiedzki T, Dąbrowski Z, Miszta H, Pawlikowski M. Bone healing after bone marrow stromal cell transplantation to the bone defect. Biomaterials 14 (1993b): 115-121.

Pawlikowski M., Sekrety mineralizacji tkanek (Secret of tissue mineralization). PAN, Kraków (1995a) :97 p.

Pawlikowski M. Preliminary results of dissolution of substances mineralizing human arteries. Arch. Mineralog (1999) 52: 195-210.

Pawlikowski M, Pfitzner R. Zastosowanie metod mineralogicznych w badaniach tkanek człowieka. I. Sposoby badania mineralizacji. (Mineralogical methods useful for examination of human tissues). Przegl. Lekarski (1995b) 52: 119-123.

Pawlikowski M, Pfitzner R Zastosowanie metod mineralogicznych w badaniach tkanek człowieka. II. Mineralizacja struktur serca. (Mineralogical methods useful for examination of human tissues. Mineralization of heart structures). Przegl Lekarski (1995c) 52: 24-27.

Pawlikowski M, Pfitzner K., Skinner C. Cholesterol-mineral concentrations of the aneurysmatic wall. Acta Angiologica (1995d) Supl. 1: 15.

Pawlikowski M., Pfitzner R. Mineralizacja serca i dużych naczyń. (Mineralization of heart and big blood vessels). Wyd. IGSMiE PAN Kraków (1999): 142 p.

Pawlikowski M., Niedźwiedzki T., Mineralogia kości. (Mineralogy of bones). Wyd. PAN Oddział w Krakowie (2002): 128.

Pawlikowski M., Minerals in human blood vessels and their dissolution in vitro. In: Skinner HCW, Berger AW, Geology and health. N.Y. – Oxford. Oxford University Press (2003b) pp.155-158.

Pawlikowski M. Biomineralization of cancer tissues. 20th Int. Symp. Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism. Cracow. Ed. H. Lach. Wyd. Abaton. Kraków (2011):190-191.

Pawlikowski M, Kwinta A, Zwolinska B, Kwinta K., Green fiber lasers in urology. Folia Med. Cracov (2013), 53(2): 23-34.

Pawlikowski M., Mineralizacja guzów nowotworowych płuc. (Mineralization of lung cancer tumors. Auxiliary sciences in archaeology, preservation of relicts and environmental engineering (2013a) CD -no 15, Ed. M. Pawlikowski.

Pawlikowski M. Osteoporosis as a source of tissue mineralization. Research on osteoporosis therapy and dissolution of arterial mineralization. Jour Life Science 8 (2014b): 610-625.

Pawlikowski M. Biomineralogy of osteoporosis. Academia Journal of Biotechnology 4 (2016): 138-144.

Pawlikowski M., Biomineralogical investigation of apatite piezoelectricity. Traumatologia i ortopedia Rosiji (2016a) – 2 (80): 58-63.

Pawlikowski M., Electric phenomenon in bones as a result of piezoelectricity of hydroxyapatite (2016b) Arch. Clin. Biomed. Res. 2017; 1 (3): 132-139

Pawlikowski M., Biomineralogy of angiogenesis. Arch. Clin. Biomed. Res. (2017a); 1 (4): 161-167

Pawlikowski M., Miler M., Biomineralogy of selected skin cancer. SM Dermatolog J. (2017b); 3(3): 1017

Shahneh F.Z., Baradaran B., Zamani F., Aghebati-Maleki L., Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapies. *Hum Antibodies* 22 (2013): 15-19.

Wietecha MS, Cerny WL, DiPietro LA. Mechanisms of vessel regression: toward an understanding of the resolution of angiogenesis. *Curr. Top Microbiol Immunol* 367 (2013): 3-32