

RESULTS OF BIOMINERALOGICAL INVESTIGATION OF PROSTATE

Wyniki badań biomineralogicznych prostaty

Andrzej Broszkiewicz*, Maciej Pawlikowski**, Adam Kwinta***, Katarzyna Chyła****

*/ Międzywydziałowego Instytutu Biomateriałów i Biotechnologii, Akademii Górniczo-Hutniczej, Kraków

**/ Katedra Mineralogii, Petrografii i Geochemii, Akademia Górniczo-Hutnicza Kraków

***/ Chirurgia Jednego Dnia, Szpital Bonifratrów, Kraków

****/ Faculty of Mechanical Engineering, University of Technology, Cracow

Streszczenie

Wykonano badania mineralogiczne i chemiczne fragmentów prostaty usuniętej podczas zabiegów operacyjnych. Stwierdzono w zmienionych i powiększonych gruczołach prostaty występowanie podwyższonych ilości niektórych pierwiastków co związane jest z tzw. ukrytą mineralizacją tkanek. Mineralizacja ta wydaje się być związana z chemizmem moczu przepływającego przez prostatę i prawdopodobnie może sprzyjać powstawaniu zmian chorobowych prostaty.

Słowa kluczowe: prostata, mineralizacja, analizy chemiczne

Abstract

Mineralogical and chemical investigation of prostate glands removed after surgical operation were performed. Higher concentration of some elements were determined at changed larger prostate glands. This phenomenon is result of substitution of elements into biological structures of glans because mineral grains or crystals were not observed. Mentioned mineralization is probably the result of higher mineralization of urine flow through prostate.

Key words: prostate mineralization, chemical analysis

Badania częściowo finansowane z badań statutowych AGH nr 11.11.140.319.

Wstęp i cel pracy

Mineralizacja tkanek miękkich jest procesem dotyczącym ludzkiego ciała. Wielokrotnie doniesiono o występowaniu zmian mineralnych różnych tkanek, włącznie tkanki nowotworowej (1,2). Do zajścia patologicznej krystalizacji musi zostać spełniony szereg wymagań, w tym dostatecznie długi okres czasu. Obserwuje się korelację pomiędzy wiekiem człowieka a zapadalnością na choroby prostaty. Powszechnie znane urologii występowanie kamieni sterczowych przyczyniło się do obrania tego kierunku badań (3). Kamienie sterczowe w 30% rozpoznawane są na podstawie badań USG, w 7% na podstawie preparatów histologicznych, a 20% rozpoznań dają autopsje (4).

Pierwotne (endogenne) kamienie stercza powstają z jego wydzieliny. Tzw. czyste endogenne złoże zbudowane są z apatytu i whitlockitu. Wtórne (egzogenne) kamienie tworzą się w przewodach stercza z kwasu szczawowego lub moczanów, a ich otoczka zewnętrzna składa się z apatytu (5). Krystalograficzna analiza kamieni sterczowych wykazuje podobieństwa do kamieni dróg moczowych (5,6). Kamica stercza ma powstawać na bazie przewlekłych procesów zapalnych (7,8). Niektórzy autorzy zwracają uwagę na wpływ złogów sterczowych na rozwój BPH, a nawet raka stercza (9). Pomimo szerokiego piśmiennictwa na temat kamicy stercza, panuje szereg niejasności i różnych nie potwierdzonych do końca hipotez dotyczących jej wpływu na rozwój chorób prostaty. Rozpoznania bazują głównie na wynikach badań transrektalnego USG (4,10,11).

To skłoniło autorów do podjęcia badań biomineralogicznych materiału tkanek stercza uzyskanych w trakcie TURP. Praca miała dać próbę odpowiedzi na 2 pytania:

1. Czy w tkankach stercza zachodzą zmiany o charakterze mineralizacji ukrytej lub jawnej związanej z BPH ?

oraz

2. Czy badania biomineralogiczne są przydatnym narzędziem do identyfikacji zmian zachodzących w sterczu u chorych na BPH ?

2. Przygotowanie materiału badawczego

Materiał do badań został pobrany operacyjnie metodą przezcewkowej resekcji gruczołu krokowego (TURP), od 10 pacjentów chorych na łagodny przerost prostaty. TURP jest zabiegiem endoskopowym wykonywanym przez cewkę moczową z wykorzystaniem resektoskopu (12).

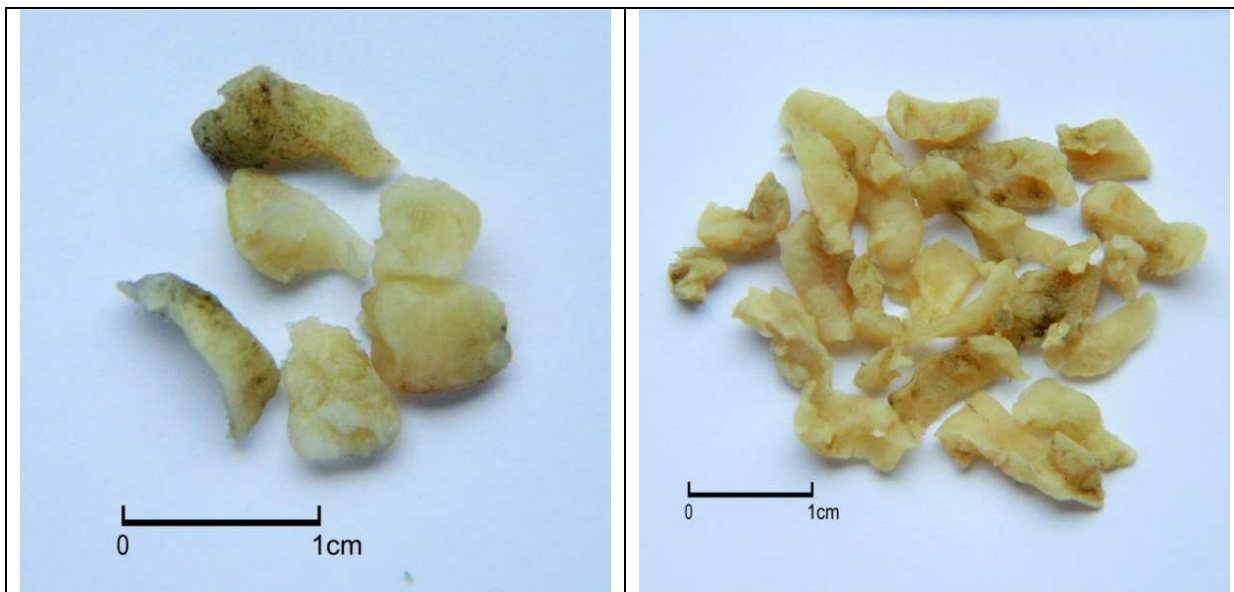
Uzyskane cienkie skrawki stercza zanurzono w roztworze formaldehydu w celu konserwacji. Wiek pacjentów, od których pozyskano preparaty, oscyluje

między 47 a 70 rokiem życia. Dla pacjentów oznaczono stężenia PSA (swoistego antygenu sterczowego) w surowicy (3). Próbkom nadano nazwy dla czytelniejszej analizy, co zestawiono wraz z danymi w Tab.1.

Tab.1 Zestawienie badanych preparatów prostaty

Numer preparatu	Nazwa preparatu	Wiek dawcy [lat]	Poziom PSA [ng/ml]	Wielkość [cm ³]
1	Próbka-1	—	—	—
2	Próbka-2	68	4,2	52
3	Próbka-3	70	11,2	178
4	Próbka-4	67	0,47	60
5	Próbka-5	63	0,75	30
6	Próbka-6	67	4,6	89
7	Próbka-7	—	—	—
8	Próbka-8	47	1,3	35
9	Próbka-9	65	4,2	60
10	Próbka-10	—	—	—

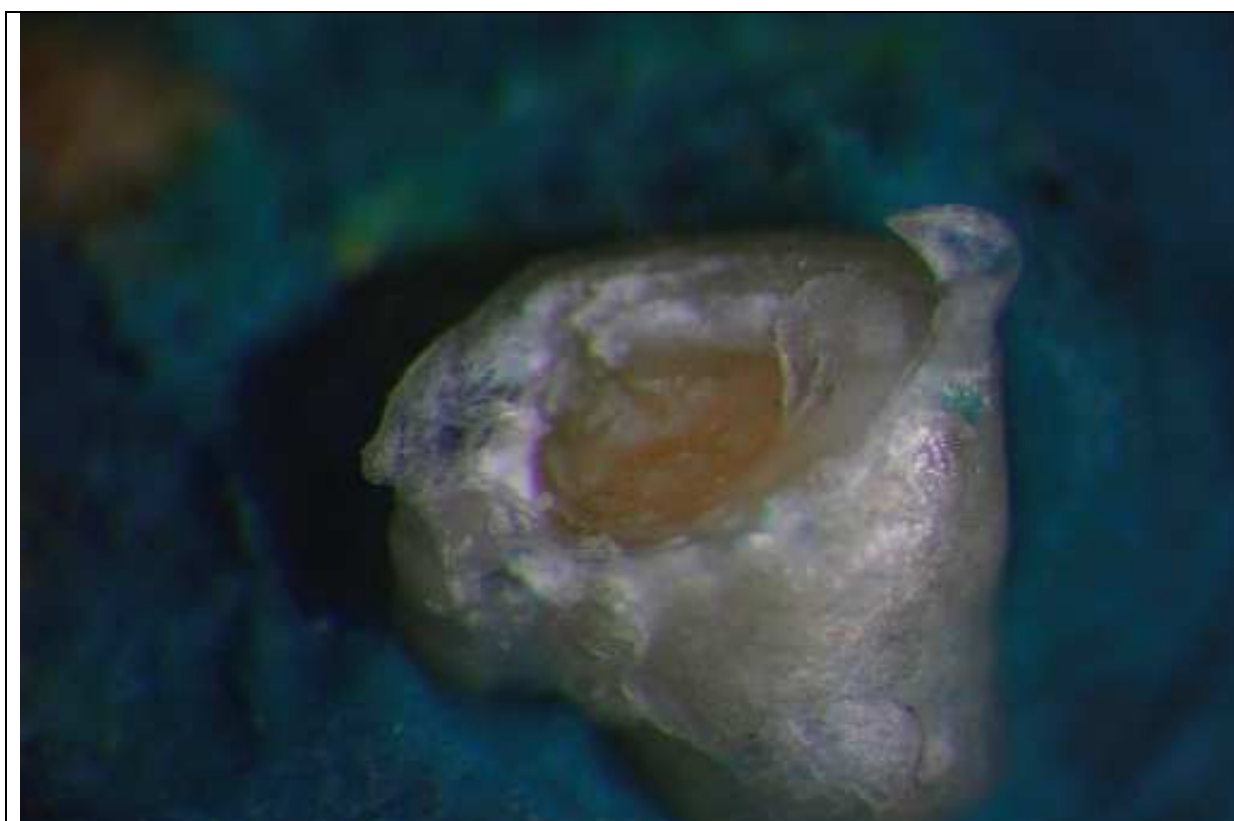
Wykonano zdjęcia preparatów. Konsystencja każdej próbki jest twarda i sprężysta. Kolor większości preparatów jest szaro-różowy, z widocznymi ciemnymi plamkami, znajdującymi się po jednej stronie skrawków.



Fot.1 Fotografia makroskopowa Próbk-1

Fot.2 Fotografia makroskopowa Próbk-2

Kamień sterczowy wydzielono z Próbk-2 preparatu prostaty. Kamień rozcięto nożem i wykonano zdjęcia przełomu z wykorzystaniem lupy binokularnej Zeiss produkcji niemieckiej.



Fot.11 Fotografia przełomu kamienia sterczowego, lupa binokularna, pow. 35x.

Na zdjęciu Fot.11 obserwuje się przełom kamienia sterczowego o budowie zonalnej. Wewnętrzna część koloru brunatnego posiada kolisty kształt. Część zewnętrzna koloru szaro-białego w pełni otacza rdzeń.

3. Opis aparatury

Wykonano charakterystykę mineralogiczną i chemiczną morfologii wybranych preparatów stercza wykorzystując elektronowy mikroskop skaningowy JEOL 5400, współpracujący z analizatorem EDS. Próbki-2,-6,-9 wstępnie płukano w wodzie destylowanej aby pozbyć się nadmiaru roztworu formaliny i innych niepożądanych dodatków. Kolejnym krokiem było próżniowe napylenie wybranych preparatów węglem, co w zupełności wystarczyło do podjęcia analizy SEM/EDAX.

Przełom kamienia sterczowego również napyłono próżniowo węglem i poddano analizie SEM/EDAX.

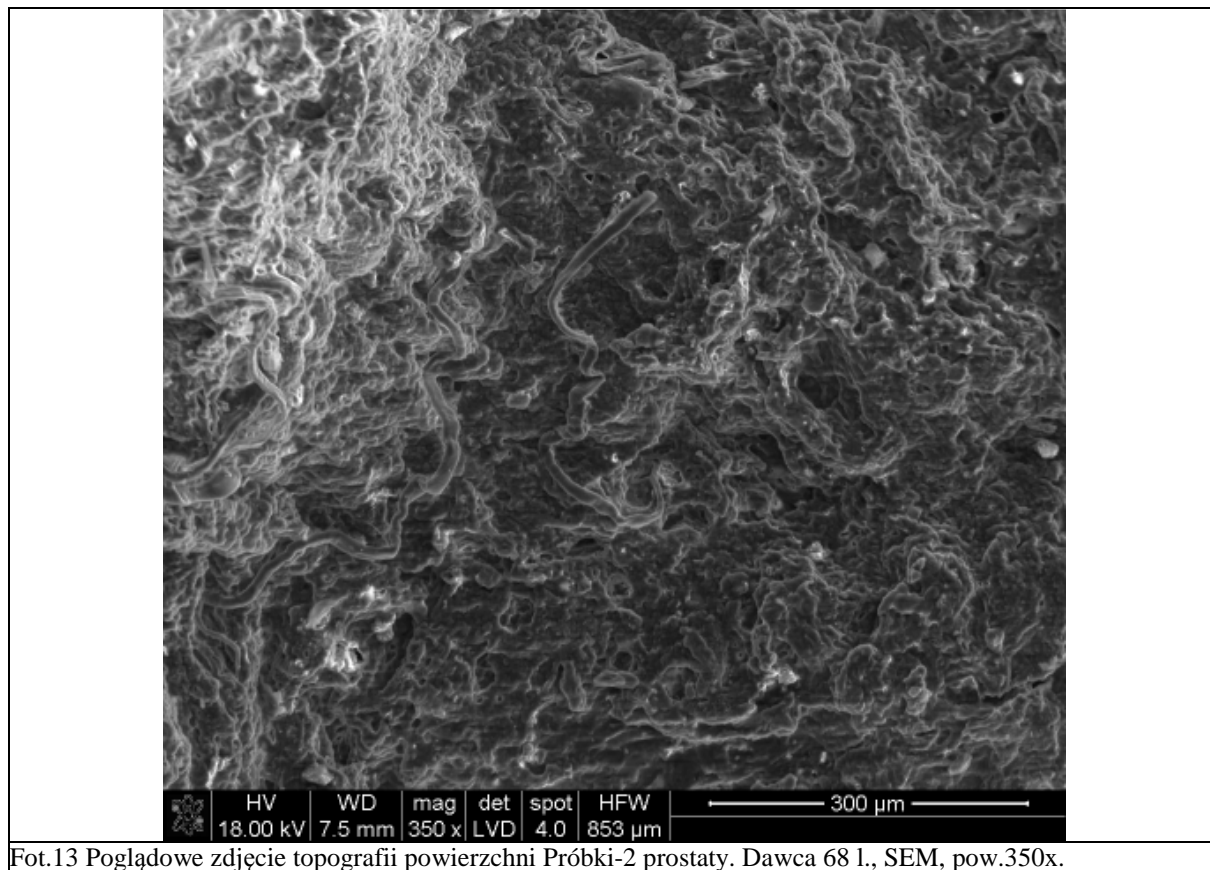
Wykonano także szczegółowe badania ziarna wydzielonego ze stercza. Badania prowadzono w szeregu obszarach analizowanych próbek.

4. Wyniki badań

a) preparaty prostaty

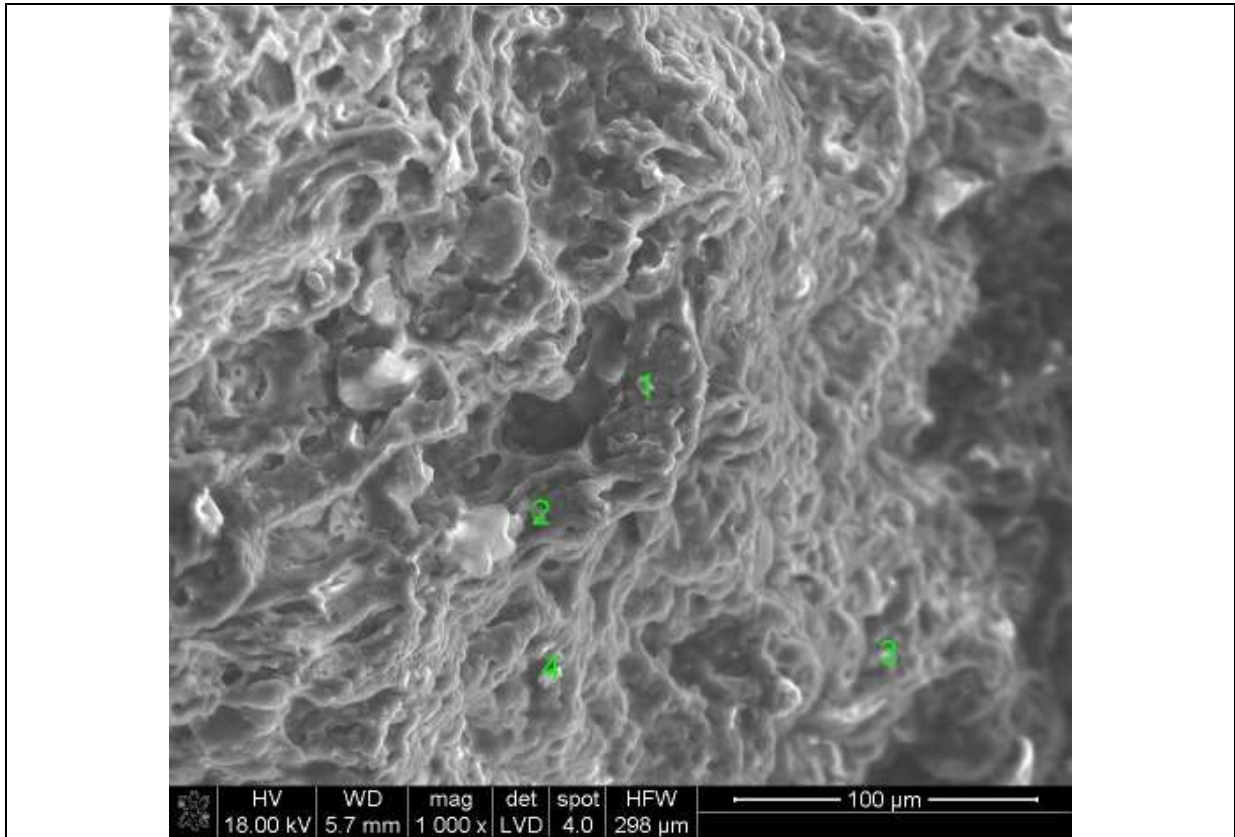
Wykonano zdjęcia pogładowe topografii powierzchni wybranych skrawków preparatów prostaty (Próbki-3, Próbki-6 i Próbki-9) z wykorzystaniem mikroskopii skaningowej – Fot.13, Fot.17, Fot.23. Dodatkowo dla każdego skrawka preparatów (Próbka-3, Próbka-6 i Próbka-9) zrealizowano obrazowanie SEM 3–4 obszarów z kilkupunktową analizą pierwiastkową EDAX.

I. Próbka-2, Dawca 68 I

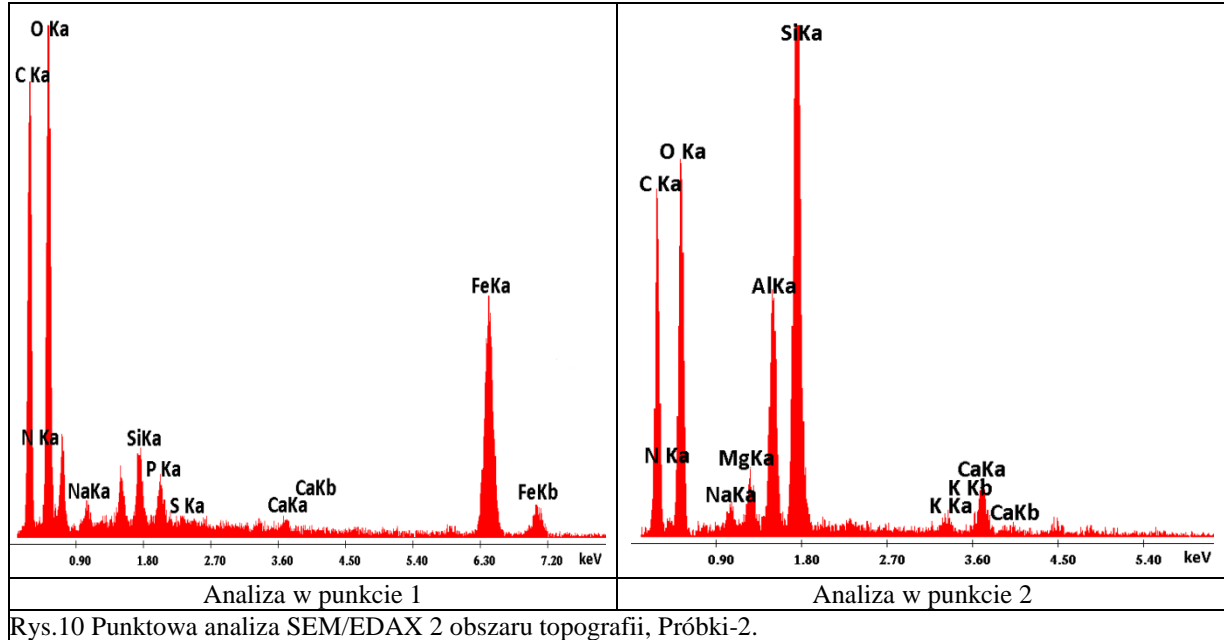


Fot.13 Poglądowe zdjęcie topografii powierzchni Próbki-2 prostaty. Dawca 68 l., SEM, pow.350x.

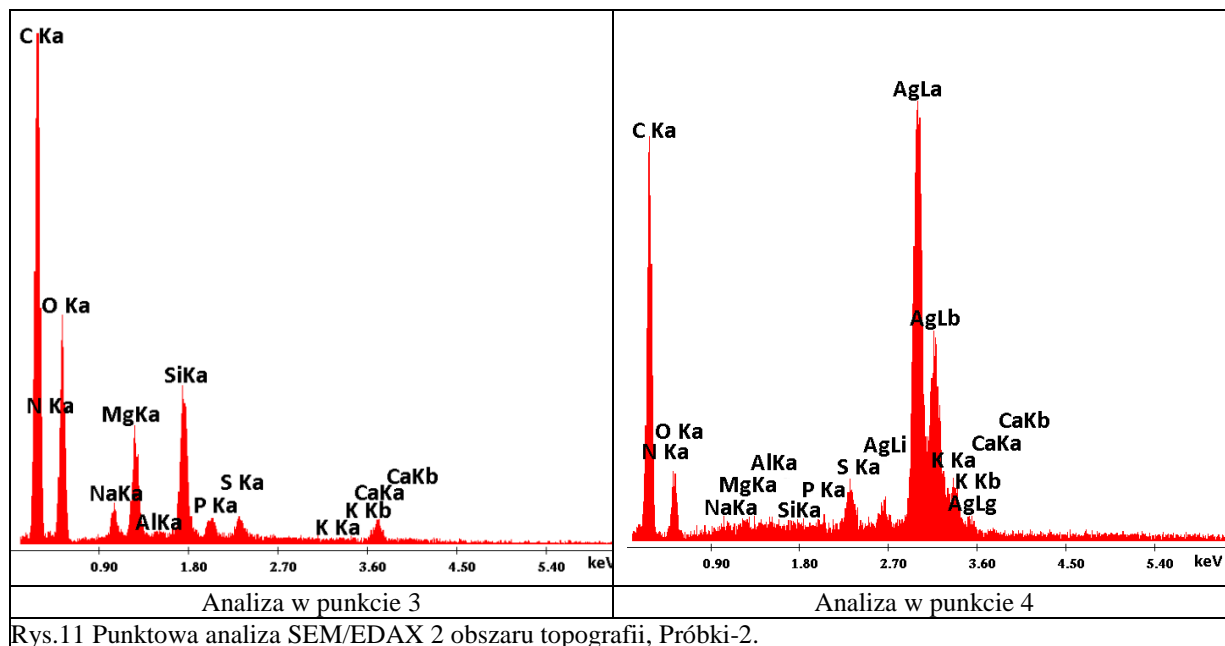
➤ Analiza obszaru 2, Próbka-2



Fot.15 Zdjęcie 2 obszaru topografii powierzchni Próbkki-2 prostaty. Dawca 68 l., SEM, pow.1000x.



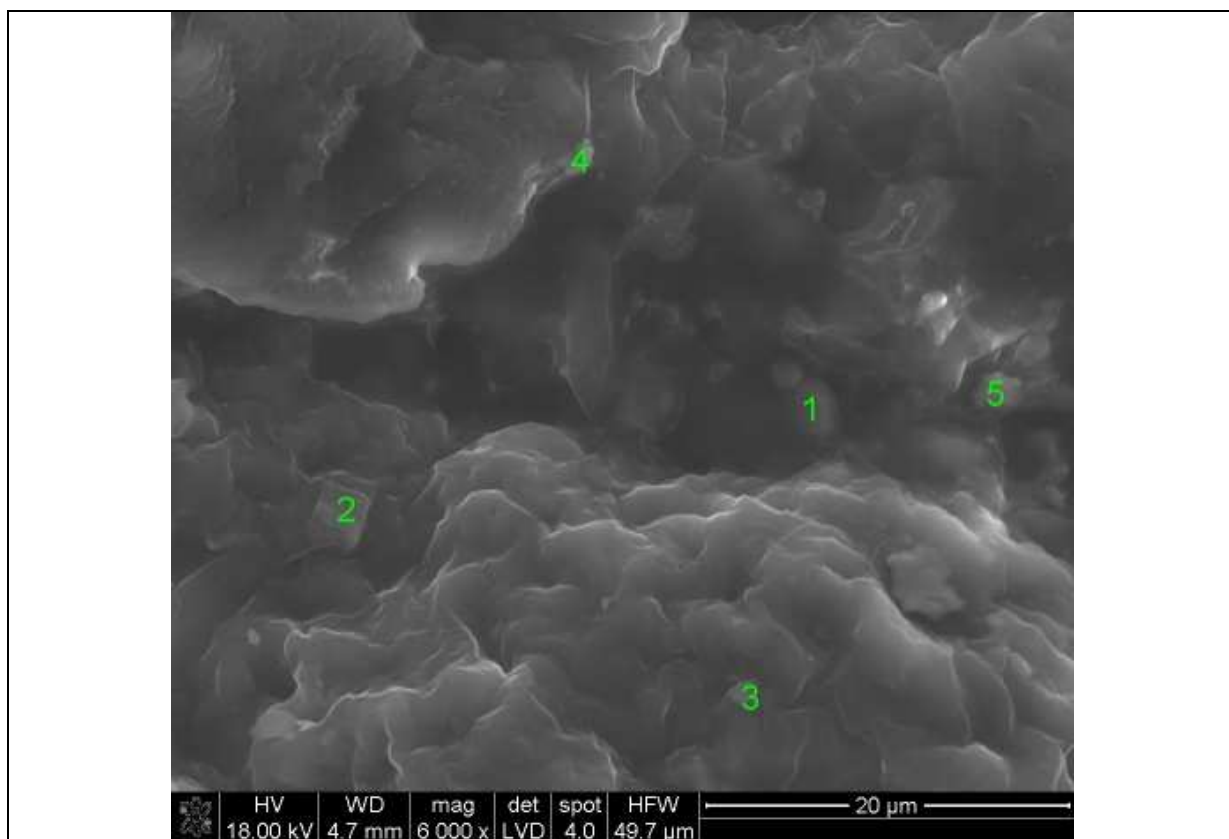
Rys.10 Punktowa analiza SEM/EDAX 2 obszaru topografii, Próbkki-2.



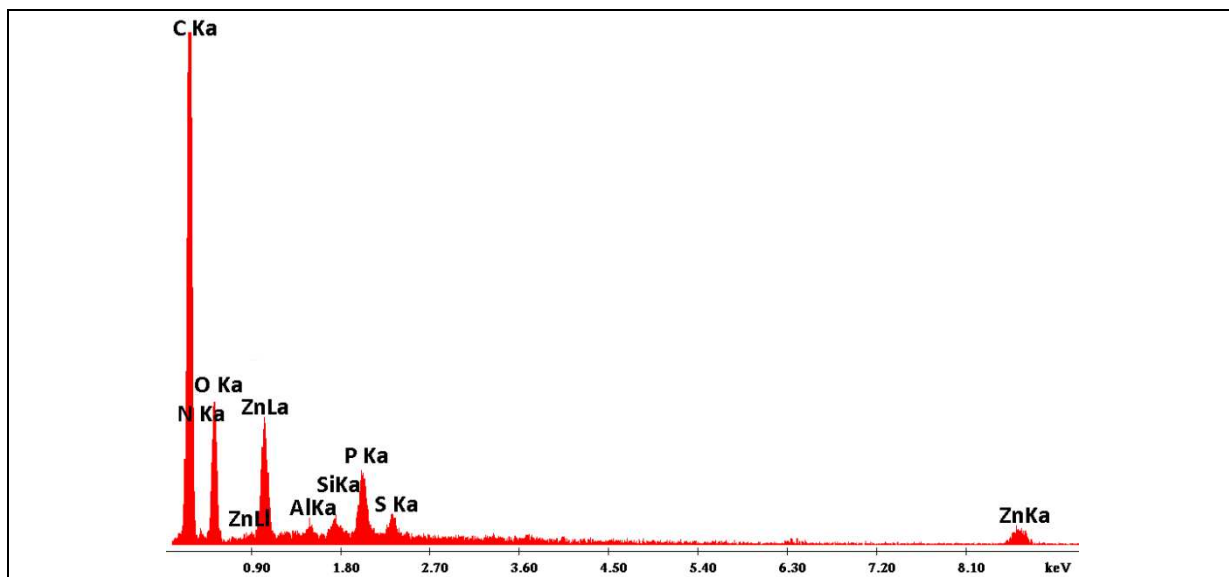
Rys.11 Punktowa analiza SEM/EDAX 2 obszaru topografii, Próbk-2.

Obserwacje 2 obszaru skrawka Próbk-2 uwiarydwiły bogato rozwiniętą powierzchnię tkanki ze sporą ilością niewielkich wytrąceń mineralnych (10–50 μ m), bezpośrednio „wlepionych” w jej strukturę. Analiza EDAX wykazała obecność pierwiastków Na, Mg, Al, Si, P, Ca, K, Fe, która świadczy o przesyconiu obszaru tkanki składnikami mineralnymi, wykazującymi potencjał mineralizacji. Znotowano wysoką zawartość Mg, Al, Si i Fe. Obecność S związana jest z występowaniem aminokwasów siarkowych. Obecność Ag prawdopodobnie wynika z przedostania się składników kleju, służącego do przytwierdzenia preparatu, w pole analizy.

➤ Analiza obszaru 3, Próbk-2

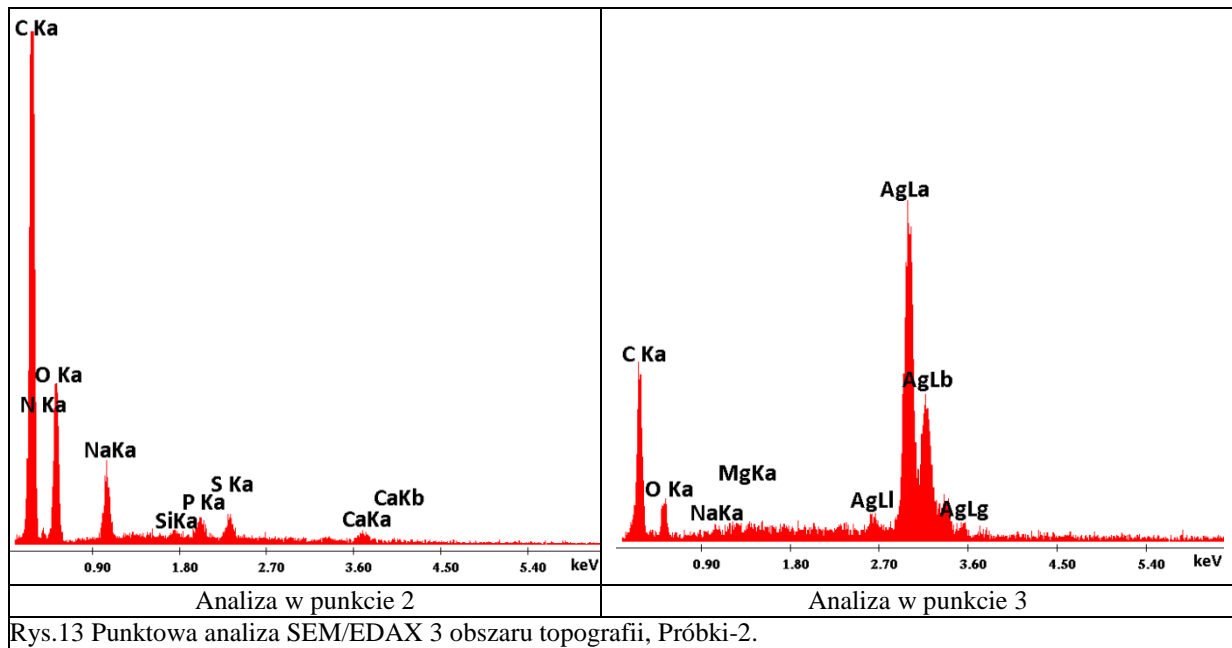


Fot.16 Zdjęcie 3 obszaru topografii powierzchni Próbki-2 prostaty. Dawca 68 l., SEM, pow.6000x.

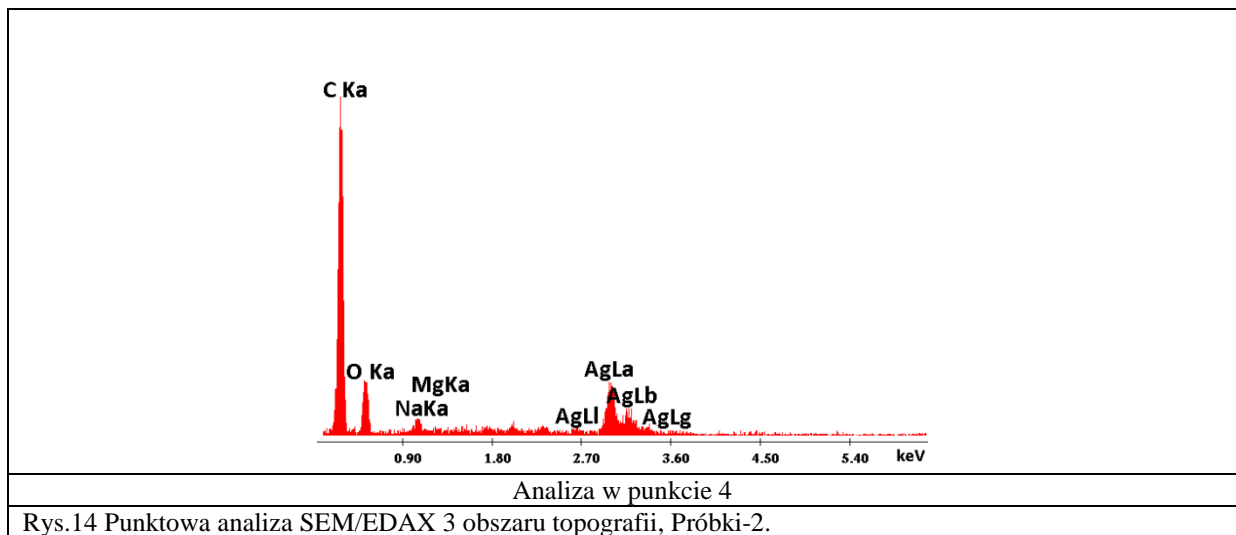


Analiza w punkcie 1

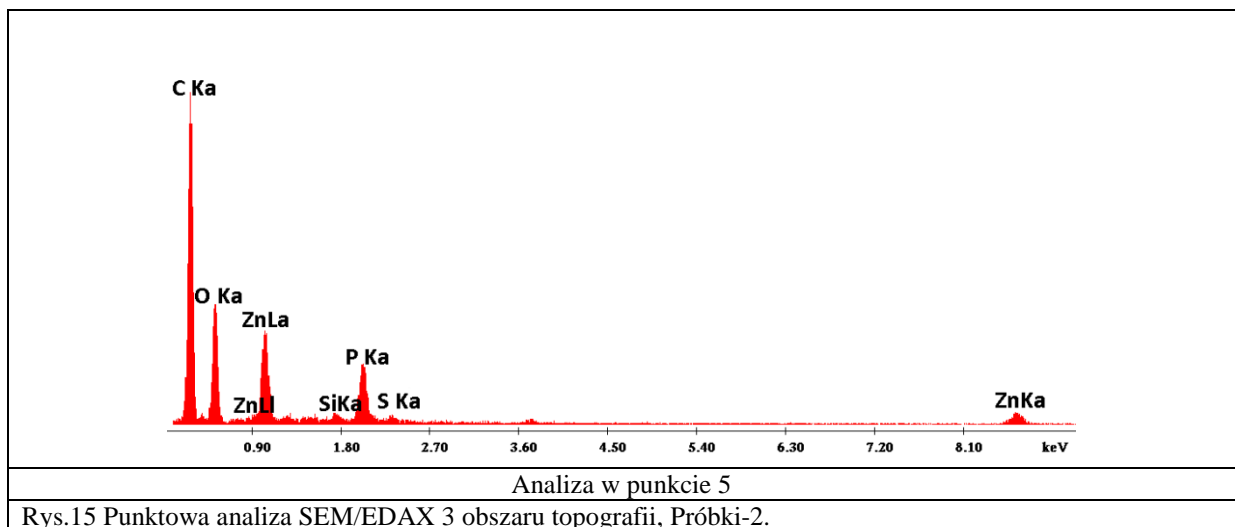
Rys.12 Punktowa analiza SEM/EDAX 3 obszaru topografii, Próbki-2.



Rys.13 Punktowa analiza SEM/EDAX 3 obszaru topografii, Próbk-2.



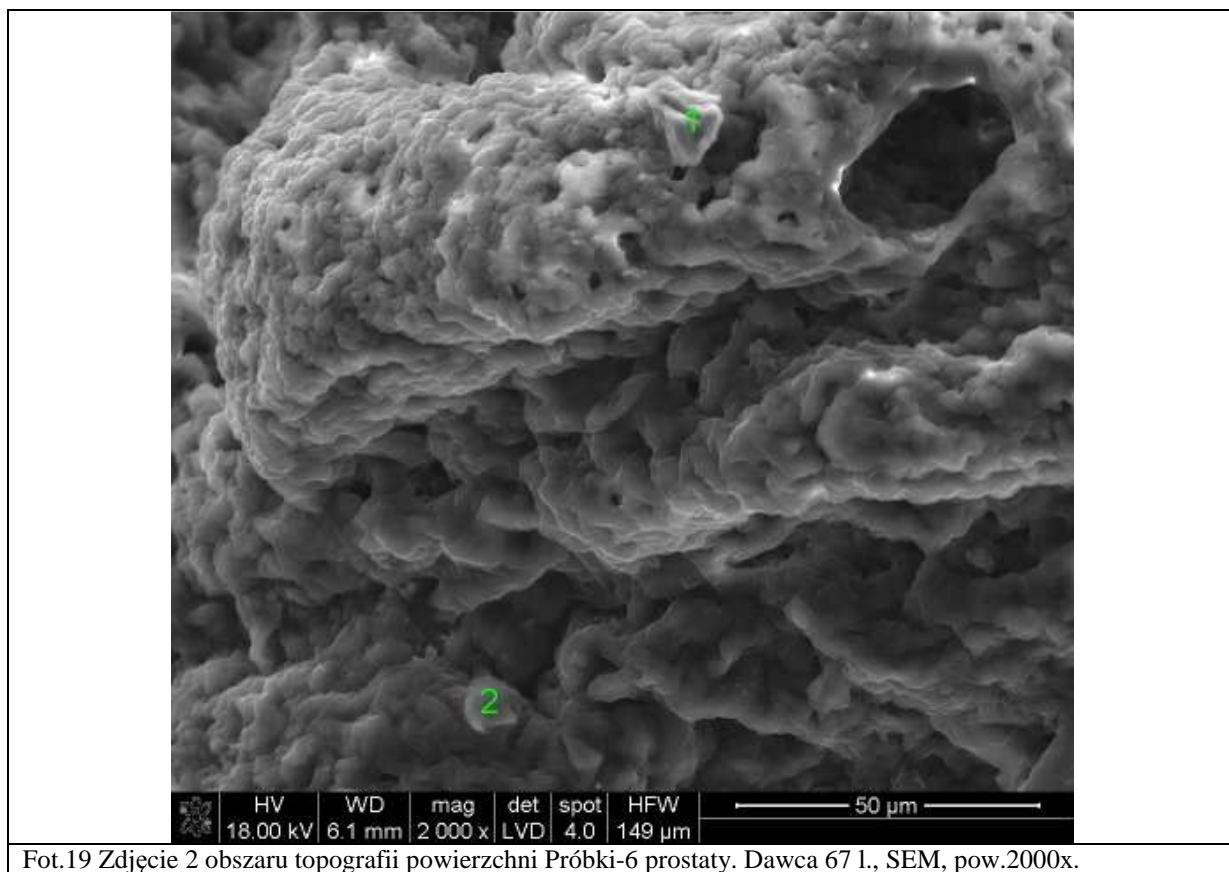
Rys.14 Punktowa analiza SEM/EDAX 3 obszaru topografii, Próbk-2.



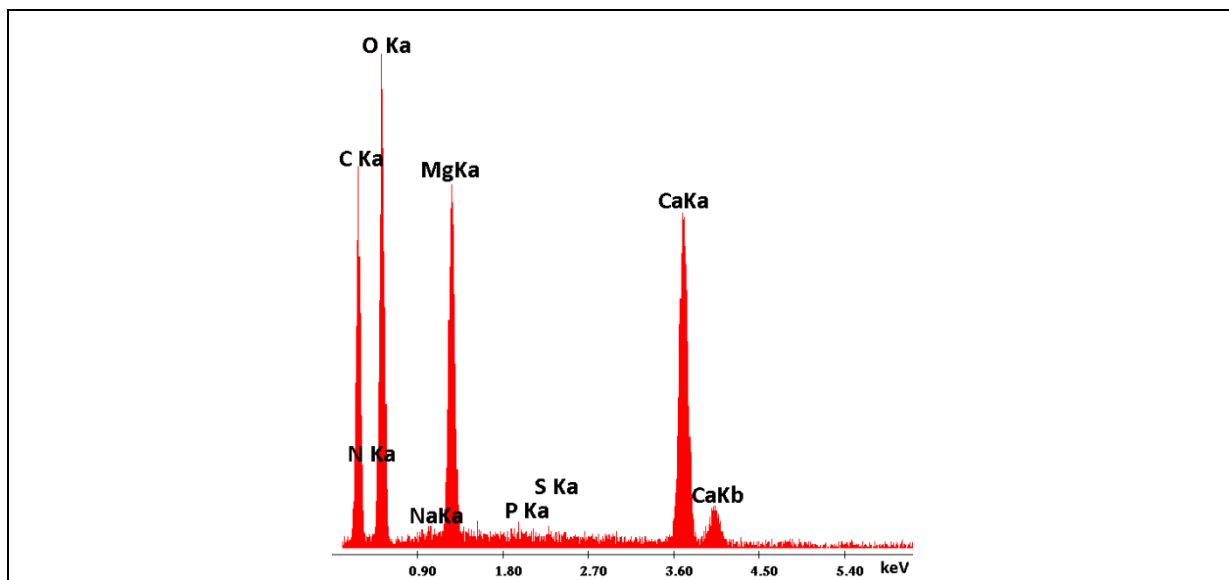
Rys.15 Punktowa analiza SEM/EDAX 3 obszaru topografii, Próbk-2.

Obserwacje 3 obszaru skrawka Próbki-2 pod dużym powiększeniem uwidoczniły niewielkie wytrącenia mineralne (3–8 μ m), które znajdują się bardzo blisko siebie, co świadczy o dużym zagęszczeniu wydzieleń mineralnych w tkankach stercza. Analiza EDAX wykazała obecność pierwiastków Na, Mg, Al, Si, P, Ca, Zn, która świadczy o przesyleniu obszaru tkanki składnikami mineralnymi, wykazującymi potencjał mineralizacji. Zanotowano wysoką zawartość Na, P, Zn. Obecność S związana jest z występowaniem aminokwasów siarkowych. Obecność Ag prawdopodobnie wynika z przedostania się składników kleju, służącego do przytwierdzenia preparatu, w pole analizy.

➤ Analiza obszaru 2, Próbka-6

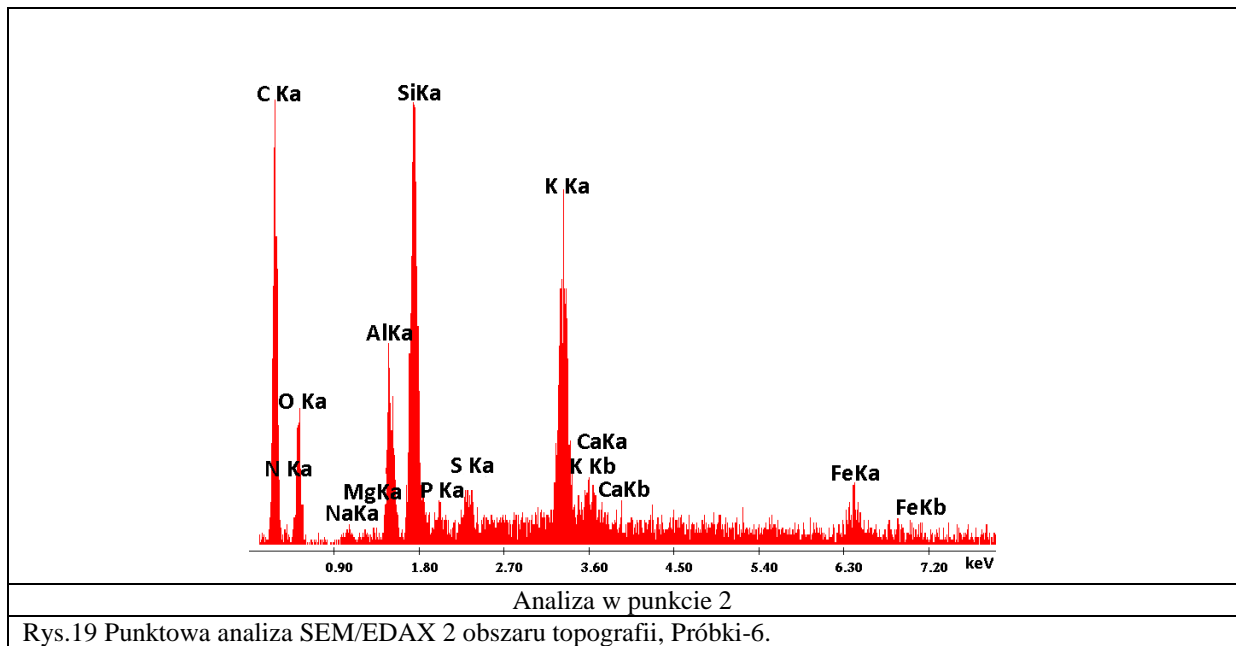


Fot.19 Zdjęcie 2 obszaru topografii powierzchni Próbkki-6 prostaty. Dawca 67 l., SEM, pow.2000x.



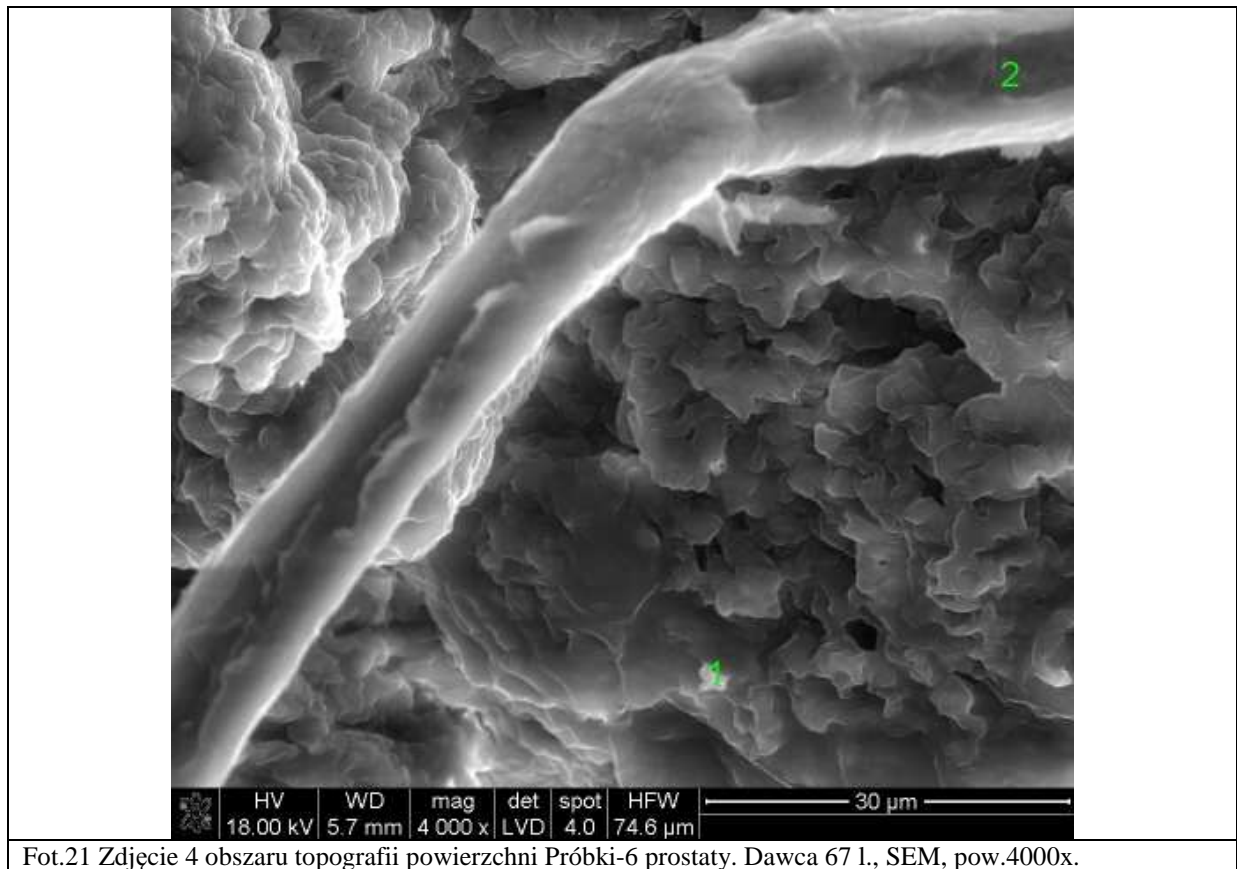
Analiza w punkcie 1

Rys.18 Punktowa analiza SEM/EDAX 2 obszaru topografii, Próbkki-6.

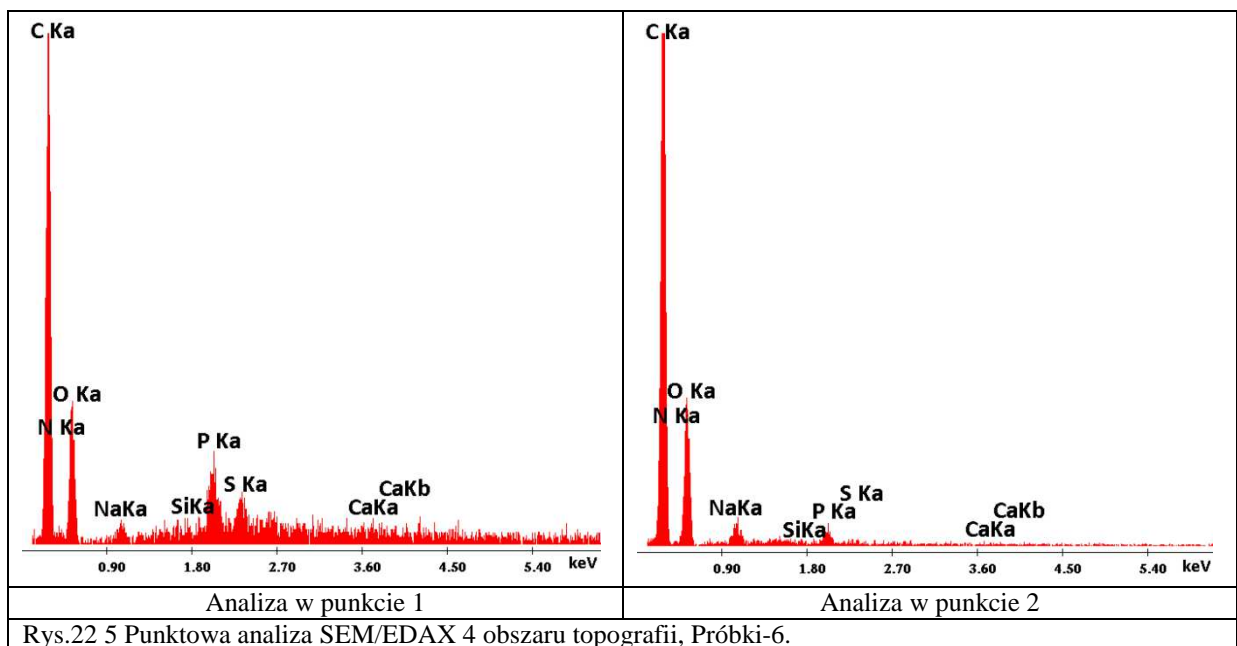


Obserwacje 2 obszaru skrawka Próbkki-6 uwiarydowiły bogato rozwiniętą powierzchnię tkanki z kilkoma wytrąceniami mineralnymi (10–15µm), wystającymi nieco ponad jej zwartą strukturę. Analiza EDAX wykazała obecność pierwiastków Na, Mg, Al, Si, P, Ca, K, Fe, która świadczy o przesyleniu obszaru tkanki składnikami mineralnymi, wykazującymi potencjał mineralizacji. Obecność S związana jest z występowaniem aminokwasów siarkowych. Zauważono wysoką zawartość Mg, Si, Al, Ca, K, co częściowo wskazuje na występowanie wytrąceń fosforanowych. Analiza w obu punktach świadczy o znacznej różnorodności pierwiastków wchodzących w skład wytrąceń.

➤ Analiza obszaru 4, Próbka-6



Fot.21 Zdjęcie 4 obszaru topografii powierzchni Próbki-6 prostaty. Dawca 67 l., SEM, pow.4000x.

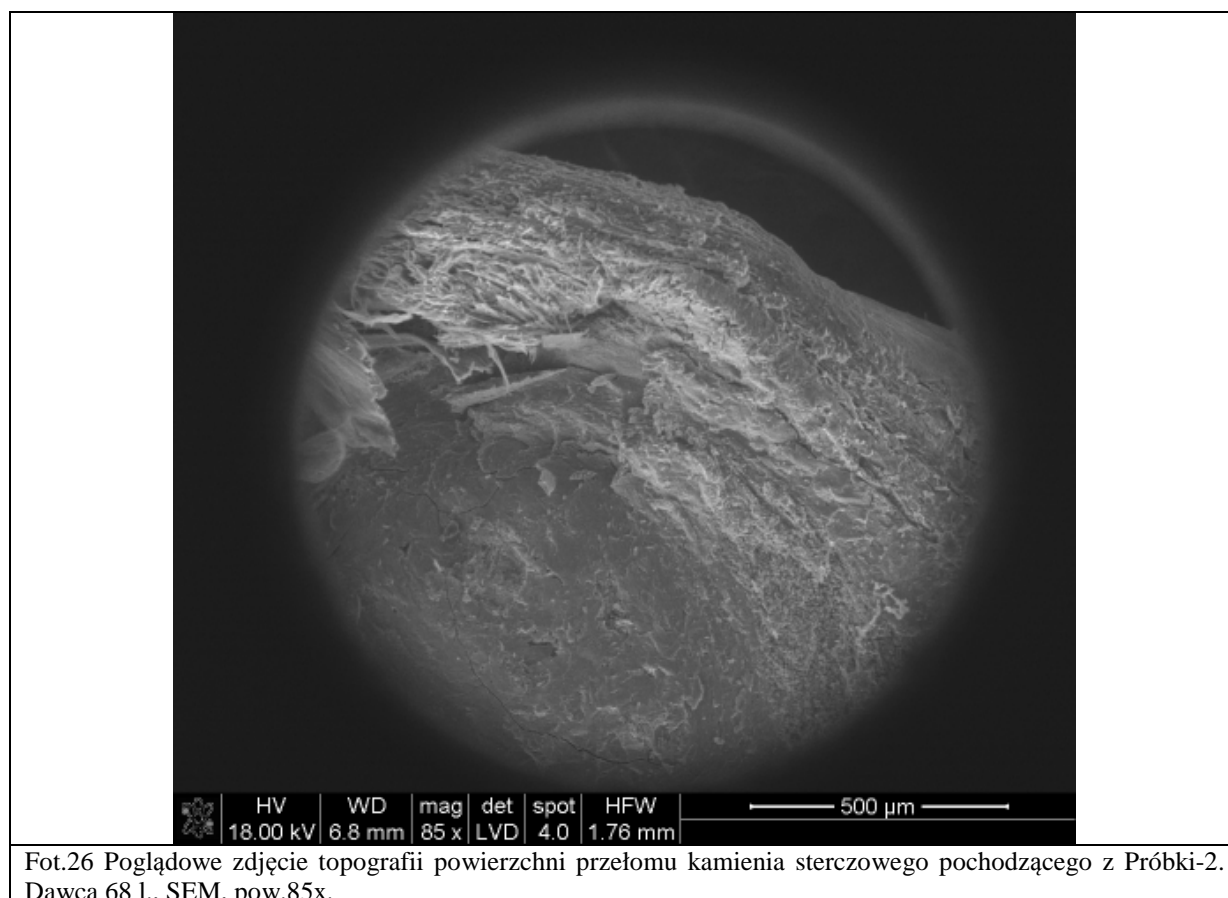


Rys.22 5 Punktowa analiza SEM/EDAX 4 obszaru topografii, Próbki-6.

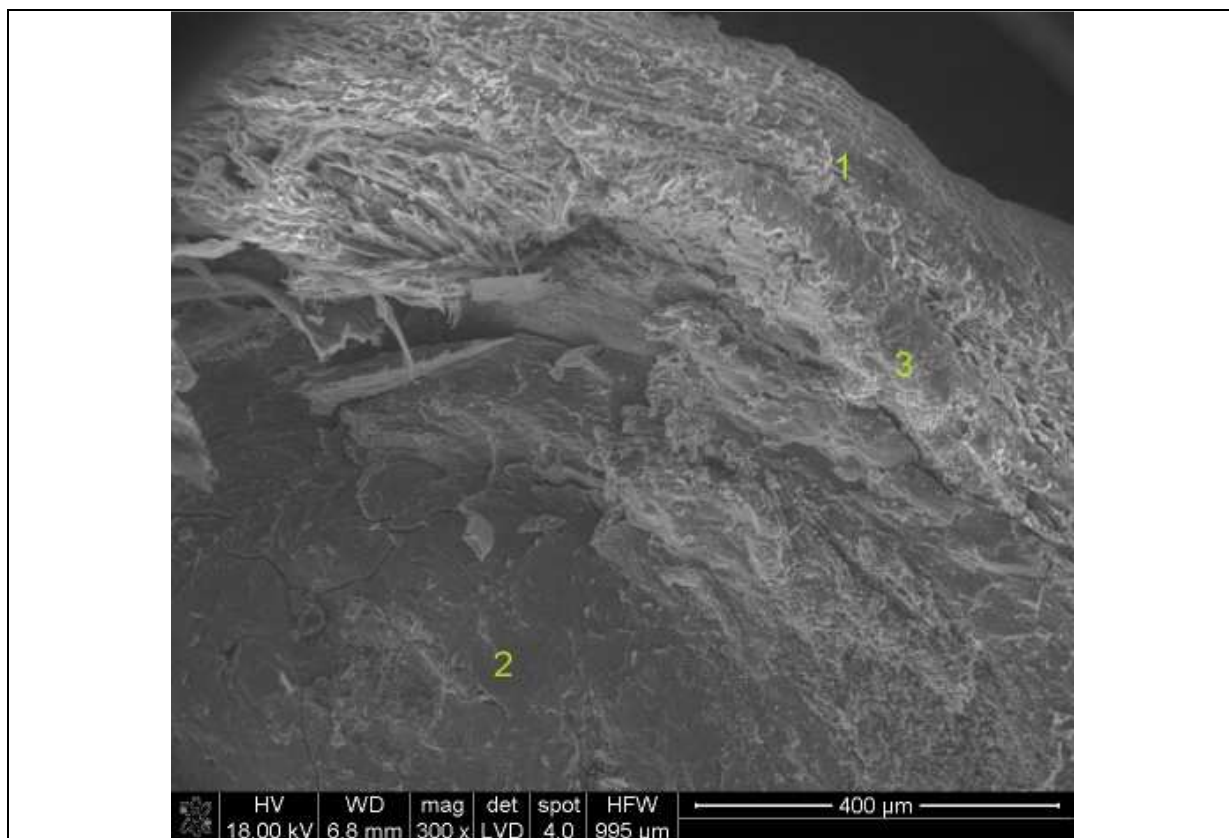
Obserwacje 4 obszaru skrawka Próbkki-6 pod dużym powiększeniem uwidocznily złożoną strukturę powierzchni tkanki z centralnie widoczną strukturą włóknistą oraz wytrącenia o małym zagęszczeniu w stosunku do badanego 3 obszaru Próbkki-2 (Fot.16). Analiza EDAX wykazała obecność pierwiastków Na, Si, P, Ca, która świadczy o przesyleniu obszaru tkanki składnikami mineralnymi, wykazującymi potencjał mineralizacji. Zanotowano wysoką zawartość P. Obecność S związana jest z występowaniem aminokwasów siarkowych.

b) Kamień sterczowy

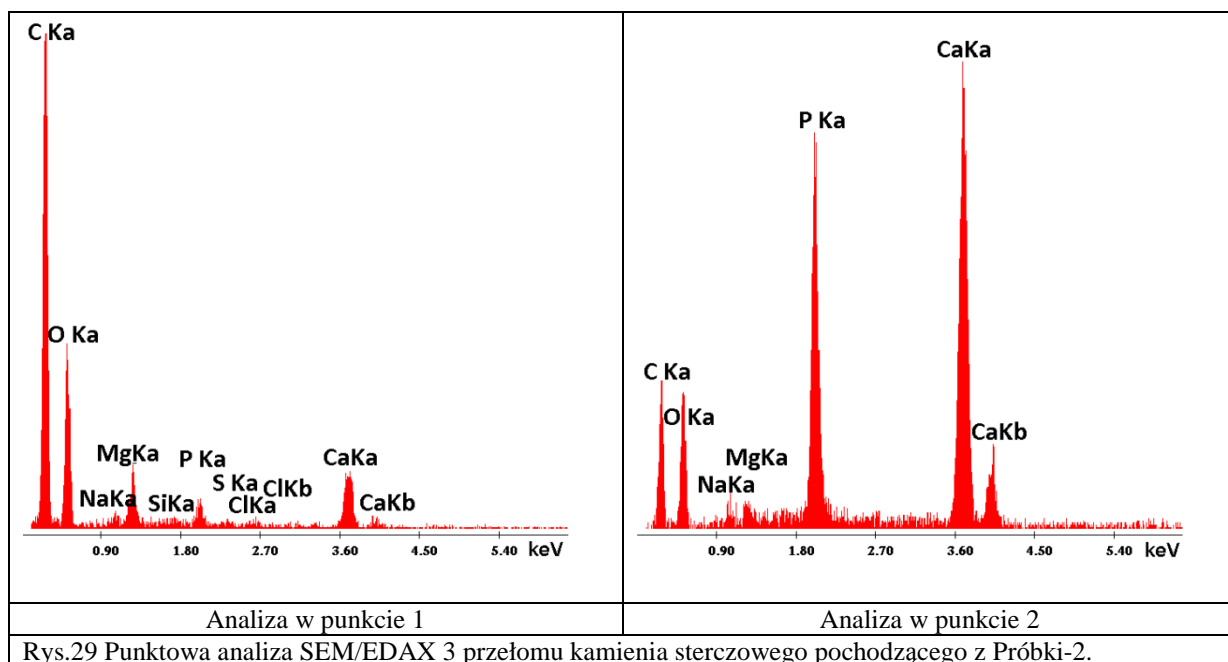
Wykonano zdjęcia poglądowe topografii przełomu kamienia sterczowego z wykorzystaniem mikroskopii skaningowej – Fot.26. Dodatkowo dla przełomu kamienia sterczowego zrealizowano obrazowanie SEM (Fot.27) z 3-punktową analizą pierwiastkową EDAX.



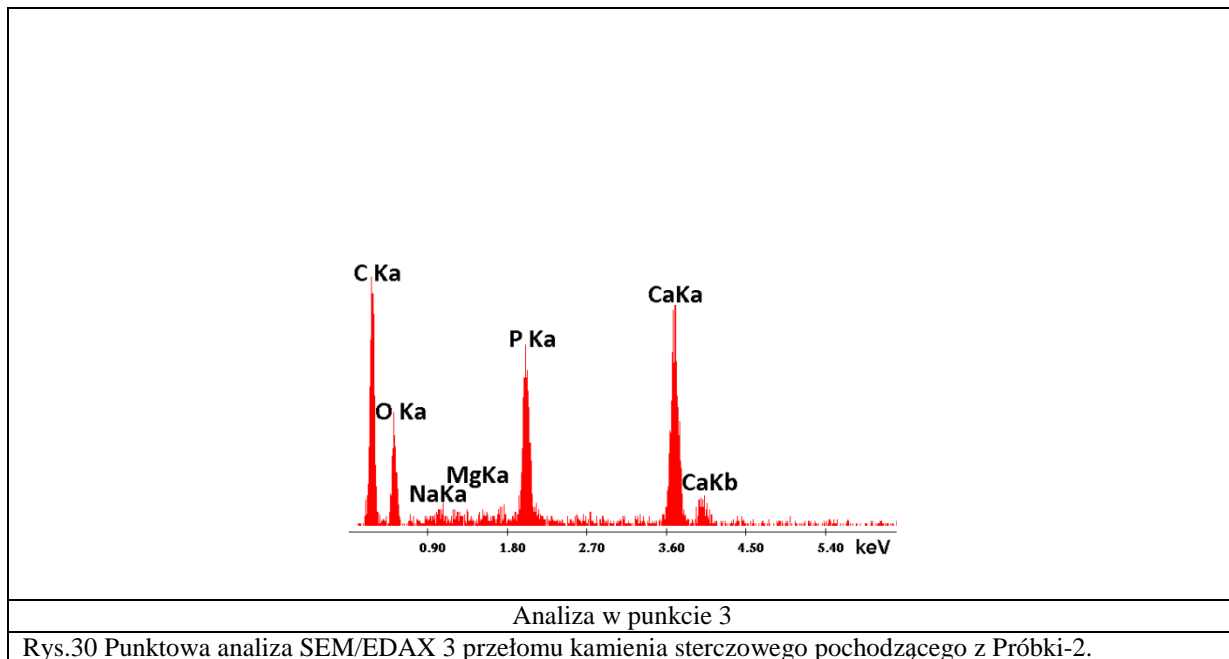
Fot.26 Poglądowe zdjęcie topografii powierzchni przełomu kamienia sterczowego pochodzącego z Próbkki-2. Dawca 68 l., SEM, pow.85x.



Fot.27 Zdjęcie topografii powierzchni przelomu kamienia stercowego pochodzącego z Próbkki-2. Dawca 68 l., SEM, pow.300x.



Rys.29 Punktowa analiza SEM/EDAX 3 przelomu kamienia stercowego pochodzącego z Próbkki-2.



Na zdjęciu Fot.27 widoczne są dwa obszary o różnej morfologii. Obszar z analizą w punkcie 2 przedstawia wewnętrzną część kamienia sterczowego, która wykazuje uporządkowaną, jednolitą strukturę złożoną z bardzo ciasno ułożonych, krystalicznych form fosforanowych, stanowiącą względnie gładką powierzchnię. Przesuwając się od środka na zewnątrz obserwuje się znaczną zmianę morfologii. Pojawiają się liczne struktury o przestrzennej budowie w charakterze warstw, wskazujące na cykliczną mineralizację części zewnętrznej. Ponadto, obserwuje się skupienia zmineralizowanych włóknistych struktur, mogących świadczyć o obecności złożeń organicznych i ich znaczącym wpływie na proces mineralizacji. Analiza EDAX wykazała obecność pierwiastków Na, Mg, Si, P, S, Cl, Ca. Wysoka zawartość Ca, Mg, P w obu obszarach świadczy o występowaniu fosforanów jako podstawowego wydzielenia mineralnego.

5. Dyskusja wyników

Tkanka prostaty ulega mineralizacji ukrytej i jawnej, podobnie jak inne tkanki miękkie, w tym nowotworowa, co dowiedziono we wcześniejszych badaniach przeprowadzonych pod kątem mineralizacji tkanek miękkich (2). Skład pierwiastkowy wytrąceń jest częściowo zgodny z teorią zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej (13), jednakże wykazano obecność innych faz bogatych w Mg, Si, Al, Zn, Fe jak też niewielkie ilości Na i K.

Zn jest uważany za najistotniejszy mikroelement płodności męskiej. Powszechnie wiadomo, że stercz i sperma bogate są w Zn (14,15), tymczasem

jego zwiększone ilości mogą oddziaływać toksycznie na okoliczne tkanki (15), tj. wydzielenia w postaci mikroziaren.

Zaobserwowane wytrącenia bogate w Fe w preparatach stercza mogą świadczyć o nadmiarze tego pierwiastka w przerośniętych tkankach prostaty, ponieważ stercz nie jest typowym narządem pełniącym rolę magazynu Fe (15). Nadmiar Fe oddziałuje toksycznie na okoliczne tkanki i może powodować występowanie nowotworów (16).

Zwiększoną zawartość Mg i Zn w tkance prostaty dotkniętej łagodnym przerostem dowiedziono już wcześniej korzystając z metod analiz histochemicznych i biochemicznych (17). Ocena danych uzyskanych dzięki tamtym badaniom, w połączeniu z wynikami badań mineralogicznych, pozwala na stwierdzenie, iż mineralizacja tkanki prostaty jest charakterystyczna dla patologicznego procesu jej przerostu i może być przyczyną powstawania BPH

Przeprowadzone badania tkanki stercza dotkniętej rakiem, z wykorzystaniem spektroskopii FTIR (ang. Fourier transform infrared) oraz technik SRIXE (ang. synchrotron radiation induced X-ray emission), wykazały zwiększoną zawartość Ca i Fe oraz zmniejszoną zawartość Zn względem tkanki zdrowej (18). Obecność fosforanów wapnia zaobserwowano również w guzach nowotworowych (13). Badania mineralogiczne tkanki prostaty wykazały, że najczęściej występującą fazą w wytrąceniach mineralnych jest fosforan wapnia, co jednoznacznie potwierdza zależność między występowaniem faz mineralnych, a procesem patologicznego nowotworzenia.

Do obecności Al i Si w tkance prostaty, którą ujawniły badania mikrostruktury SEM/EDAX, należy podejść ostrożnie, ponieważ istnieje ryzyko, że drobiny zawierające te pierwiastki znalazły się w preparatach w wyniku ich zanieczyszczenia, pomimo kilkukrotnego płukania. Jednakże, gdyby okazało się, że ich obecność miałaby związek z procesem mineralizacji tkanki miękkiej, można by było wskazać Al jako czynnik powstawania nowotworów stercza (19).

Obserwacja powierzchni preparatów prostaty uwidoczniała włókniste struktury biologiczne, które wykazywały częściową mineralizację. Włókna występujące w organizmie składają się głównie z kolagenu. Zawartość kolagenu w sterczu jest wysoka (20), a na domiar tego pełni on rolę matrycy w procesie mineralizacji kości (21). Włókniste struktury biologiczne bogate w kolagen zapewniają dogodne warunki do mineralizacji stercza.

Mikrostruktura przełomu kamienia sterczowego jest różnorodna. Rdzeń kamienia jest jednolity, z czego można wnioskować, że powstał w wyniku mineralizacji ciągłej złogów białkowych lub pochodzących z moczu (3). Profil przełomu zmienia się w części zewnętrznej. Obserwuje się zmianę morfologii

z jednolitej na warstwową o cechach włóknistych, co świadczy o mineralizacji cyklicznej, charakterystycznej dla innych kamieni występujących w ciele człowieka (2). Przewlekły stan zapalny z udziałem ciała obcego skutkuje powstaniem tkanki włóknistej wokół ciała, która zawiera duże ilości kolagenu (22). Kolagen stanowi przyjazne otoczenie w procesie mineralizacji zachodzącej w ciele człowieka (23), dlatego w przypadku zewnętrznej części kamienia sterczowego, doszło do cyklicznej mineralizacji z udziałem kolagenu i innych substancji białkowych

Min Seek Lim i wsp. u 328 chorych z objawami LUTS stwierdzili w 69,8% obecność złogów mineralnych w sterczu. Badacze ci wykazali iż znacznie większe dolegliwości występują u chorych, u których złogi znajdowały się w okolicy przycewkowej (24). Potwierdzają to prace Burzyńskiego i wsp (10).

Kamienie sterczowe są zwykle małe – w granicach 3-5mm (7). Wyjątkowo opisywane są przypadki usunięcia kamieni o łącznej masie nawet 59g (25). Obecność większych kamieni kojarzy się u chorych z nasileniem objawów LUTS oraz ma wpływ na skalę IPSS (9). Sondergaard i wsp. na podstawie 300 autopsji stwierdzili obecność kamieni w 99% badanych prostat. Ilość zwapnień wzrastała wraz z wiekiem. Lokalizacja zwapnień była głównie w strefie podtorebkowej między płatami środkowym i bocznymi. Natomiast nigdy nie stwierdzano zwapnień w III cim płacie, ani nie wykryto zależności ze zmianami chorobowymi. Patolodzy traktują to jako normalne zjawisko występujące wraz z wiekiem (26). Również Hwang i wsp. Nie stwierdzili bezpośredniej korelacji między kamica stercza, a ryzykiem przemiany nowotworowej (27). Nie stwierdzano również związku między obecnością zwapnień w sterczu a poziomami PSA (28). Nie można jednak wykluczyć wpływu na procesy chorobowe stercza - stwierdzanego w skrawkach TRU-CUT monoclearnego odczynu zapalnego wokół ognisk mikrozwapnień w prostacie (29,30)

Główną fazą mineralną występującą w kamieniu sterczowym jest fosforan wapnia, zgodnie ze wcześniejszymi doniesieniami na temat zwapnień złogów organicznych. (3)

Dla uzupełnienia informacji o charakterze wytrąceń występujących w tkankach stercza konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych badań, pozwalających na określenie parametrów komórki elementarnej badanych faz mineralnych, jak również jednoznaczne określenie składu wydzielen. Dodatkowe badania należałoby przeprowadzić w odniesieniu do tkanki zdrowej, co jednoznacznie określiłoby właściwe stanowisko między występowaniem chorób stercza a procesem mineralizacji.

Podsumowując, przeprowadzone badania mikrostruktury preparatów prostaty z powodzeniem ujawniły mineralizację jawną i ukrytą. Jest ona prawdopodobnie związana z chemizmem moczu przepływającego przez prostatę. Można także przypuszczać, że stwierdzona mineralizacja ma wpływ na rozwój zmian chorobowych gruczołu prostaty poprzez wpływ na strukturę DNA. Może to mieć miejsce zwłaszcza w procesach podziału komórkowego w środowisku o podwyższonej, zawartości pierwiastków (zmineralizowanym). Hipoteza ta wymaga jednak dalszego udokumentowania badaniami.

Piśmiennictwo

1. Brancaccio D., Cozzolino M., 2005 The mechanism of calcium deposition In soft tissues. *Contrib. Nephrol.*, 149, 279-86.
2. Pawlikowski M., 1993 *Kryształy w organizmie człowieka*. Wydawnictwo Secesja Kraków.
3. Zieliński J., Leńko J., *Urologia*, 1993 Warszawa PZWL, Tom 2, 317.
4. Kirby R.S., Lowe D., Bultitude M.I., Shuttleworth K.E.D., 1982 Intraprostatic urinary reflux: an aetiological factor in abacterial prostatitis. *Br. J. Urol.*, 54, 729-731.
5. Ramirez C.T., Ruiz J.A., Gomez A.Z., 1980 A crystallographic study of prostatic calculi. *J. Urol.*, 124, 840-843
6. Pawlikowski M., Kwinta A., 2006 Urolithiasis as continuous process of crystallization and dezintegration of crystals – biomineralogical evidences. *Urol.Pol.*, 59, 4, 290-293.
7. Smith V., 1965 Prostatic corpora amylaceas and their calcification. *Surg. Forum*, 16, 501-502.
8. Sfanos K.S., Wilson B.A., De Marzo A.M., Isaacs W.B., 2009 Acute inflammatory proteins constitute the organic matrix of prostatic corpora amylacea and calculi in men prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106 , 3443-3448.
9. Geramoutsos I., Gyftopoulos K., Perimenis P., Thanou V., Liagka D., 2004 Clinical correlation of prostatic lithiasis with chronic pelvic pain syndromes in young adults. *Eur. Urol.* 45, 333-357.
10. Burzyński K., Jeromin L., Prelich A., Salagierski M., 1991 Endosonograficzny obraz przewlekłego zapalenia gruczołu krokowego. *Urol. Pol.*, 44, 1, 263-265.

11. Jakubowski W., Chodkowski M., Bażko E., Musierowicz A., 1984 Transrektalne badania ultradźwiękowe gruczołu krokowego. *Pol. Przeg. Rad.*,48,407.
12. Mauermayer W., 1981 *Transurethrale Operationen*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York.
13. Pawlikowski M., 1987 *Mineralizacja organizmu człowieka żyjącego*. Wrocław, Zakład Narodowy im. Ossolińskich.
14. Ciborowska H., Rudnicka A., 2009 *Dietetyka – żywienie zdrowego i chorego człowieka*. Warszawa, PZWL.
15. Zdrojewicz Z., Wiśniewska A., 2005 Rola cynku w seksualności mężczyzn. *Advances In Clinical and Experimental Medicine*, 14, 6, 1295-1300.
16. Kwiatek W., Banaś A., 2005 Iron and Rother elements studien In cancerous and non-cancerous prostate tissues. *Journall of Alloys and Compounds.*, 401, 178-183.
17. Gyorkey F., Min K., 1967 Zinc and Magnesium in Human Prostate Gland : Normal, Hyperplastic and Neoplastic. *Cancer Research*, 27 , 1348-1353.
18. Paluszkiewicz C., Kwiatek W., 2001 Analysis of human cancer prostate tissues using FTIR microspectroscopy and SRIXE techniques. *Journal of Molecular Structure*, 329-334.
19. Exley C., Charles L., et al. 2007 Aluminium in human breast tissue. *Journal of Inorganic Biochemistry.*, 101, 1344–1346.
20. Senkus-Konefka E., 2007Apoptoza w komórkach nabłonkowych stercza. *Przeg. Urol.*, 46, 11-16
21. Landis WJ: The strength of a calcified tissue depends in part on the molecular structure and organization of its constituent mineral crystals in their organic matrix. *Bone* 1995, 16, 533–544.
22. Adwent M., Cieślik-Bielecka A., 2007 Wszczepy PGLA+HAP w badaniach in vivo - obserwacje roczne. *Inżynieria Biomateriałów*, 61, 2-5.
23. Rigo J, Pieltain C, et al. 2007 Enteral calcium phosphate and vitamin D requirements and bone mineralization in preterm infants. *Acta Peadiatr*, 96, 969-97.
24. Lim S.M., Chun I.I., Park C.H., Chang H.S., 2008 The clinical significance and reionship of medical therapy for prostate stone with Lower urinary tract symptoms. *Korean J.Urol.*,49, 992-996.

25. Shah S.K., Minh-Hang C.T., Schnepfer G.D., Paul D. Lui P.D., 2007 Open prostatolithotomy for the management of giant prostatic calculi. *Urology*, 1008-1010.
26. Sondergaard G., Venter M., Christensen P.O., 1987 Prostatic calculi. *Acta Patologica, Microbiologica et immunologica Scandinavica*, 95, 141-145.
27. Hwang E.C., Choi H.S., Im C.M., Jung S.I., Kim SO, Kang T.W., 2010 Prostate calculi in cancer and BPH in a cohort of Korean men: Presence of calculi did not correlate with cancer risk. *Asian.J.Androl.*,12, 215-220
28. Lee S.E., KU H., Park H.K., Jeong C.H.K., Seung Hyup Kim S.J.,: 2003 Prostatic calculi do not influence the level of serum prostate specific antigen in men without clinically detectable prostate cancer or prostatitis. *Journal of Urology* 170, 745-748
29. Muezzinoglu B., Gurbuz Y., 2001 Stromal microcalcification in prostate. *Malays J. Pathol.* 23, 31-33
30. Mandel N.S., Madel G.,S 1982 Structure of crystals that provoke inflammation. *Advances in Inflammation Research*. Raven Press, New York 73-94