

**OSTEOPOROSIS AS A SOURCE OF TISSUES MINERALIZATION.  
RESULTS OF RESEARCH ON OSTEOPOROSIS THERAPY AND DISSOLUTION OF  
ARTERIES MINERALIZATION**

**Osteoporoza jako źródło mineralizacji tkanek.  
Wyniki badań nad osteoporozą i rozpuszczaniem mineralizacji tętnic**

*Maciej Pawlikowski*

*Lab. Biomineralogy Department of Mineralogy, Petrography and Geochemistry, Faculty of  
Geology, Geophysics and Environmental Protection, AGH University of Science and  
Technology: , al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland  
e-mail: [mpawlik@uci.agh.edu.pl](mailto:mpawlik@uci.agh.edu.pl)*

**Streszczenie**

Na podstawie badań prowadzonych przez autora w ostatnich 30. latach przedstawiono fizyko-chemiczne mechanizmy procesu osteoporozy, transportu substancji powstających w jej wyniku oraz zjawisk mineralizacji tkanek będącej przynajmniej częściowo skutkiem osteoporozy.

**Słowa kluczowe:** osteoporoza człowieka, fizyko-chemiczne procesy, mineralizacja tkanek

**Abstract**

Proposed article as the result of 30 years of investigation presents physics - chemical mechanism of process of osteoporosis, transport of created various substance as well as secondary mineralization of various tissues being the result of osteoporosis.

**Key words:** human osteoporosis, physics - chemical processes, mineralization of tissues

**Badania częściowo finansowane z badań statutowych AGH nr 11.11.140.319.**

**Introduction**

Jest powszechnie wiadomym, że osteoporoza jest procesem destrukcyjnym powodującym niszczenie struktury kości (Glimcher1962, Dickenson et al. 1981, Kita, Pawlikowski 1983, 1993, 1994, 2004 , Badurski et al. 1994, Buckvalter et al. 1995a, b. Mack et al.. 1996, Miller et al. 2000). To zjawisko poprzez wyprowadzanie pierwiastków z kości i zanik beleczek

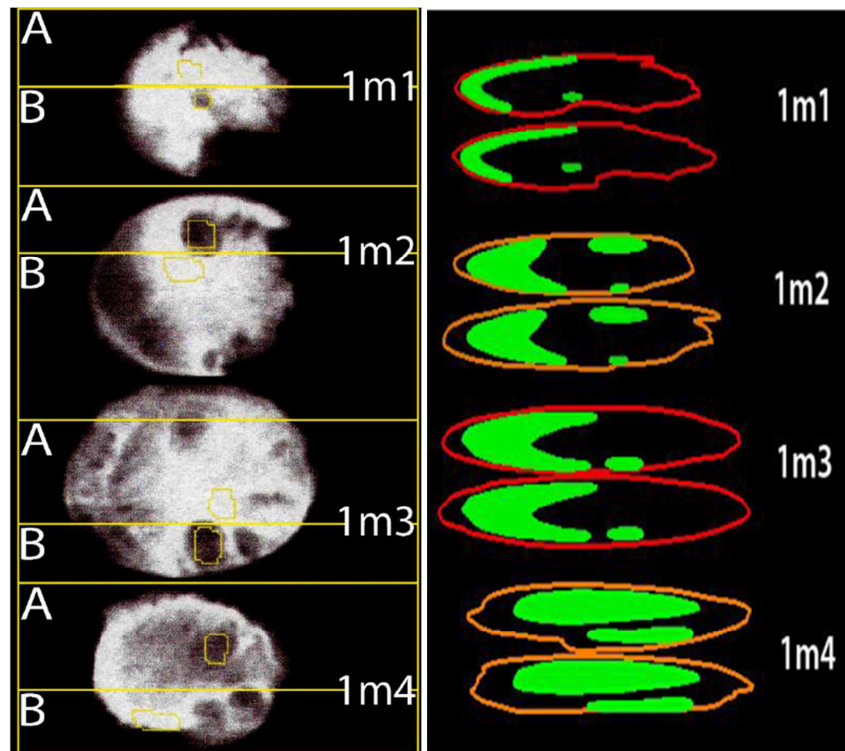
kostnych powoduje obniżenie jej parametrów wytrzymałościowych i większą podatność na złamanie (Burstein et al. 1976, Dickenson et al. 1981, Pawlikowski 1987, 1991a, Yamauchi et al. 2011). Mniej znane są natomiast zjawiska dotyczące dalszej historii pierwiastków wyprowadzanych z kości zwłaszcza jonów uwolnionych po rozpuszczeniu apatytu kostnego. Prowadzone od wielu lat badania sugerują, że przynajmniej część z tych pierwiastków może tworzyć fazy o zmiennej krystaliczności (Pawlikowski 1987, Yoder 2012) w różnego rodzaju tkankach i narządach (Pawlikowski Ryskała 1991, Pawlikowski, 1991b, 1994, 1995, Pawlikowski, Pfitzner 1992, 1999, Blacher et al. 2001, Niedźwiedzki et al. 1987a, b, 1995, 1993, Pawlikowski, Niedźwiedzki 2002, Bieniek et al. 2011, Fehervari et al. 2013, Shidyapina et al. 2014). Wydaje się to być ogólnie potwierdzone przez fakt, że wraz z postępującą z wiekiem osteoporozą podwyższa się stopień mineralizacji („zwapnienia”) wielu tkanek i narządów (Mongiorgi et al. 1983, Pawlikowski. 2011b, Pawlikowski et al. 1995, 1996, Pfitzner et al. 2003, Veis, Dorvee 2013).

Zatem rozpoznanie relacji osteoporoza - zwapnienia związana z postępującym wiekiem tkanek ma bardzo istotne znaczenie dla zrozumienia wielu zjawisk, w tym rozwoju różnego rodzaju chorób prowadzących w efekcie do śmierci. Poznanie tych zjawisk może stanowić także podstawę do poszukiwań metod zwalczania osteoporozy jak i mineralizacji, tętnic (Pawlikowski, Pfitzner 1999, Lipnicka et al. 2003, Kim et al. 2012, Krieger, Bushinsky 2013, Lei et al. 2013, zastawek serca (Pawlikowski et al. 1994, Pawlikowski, Pfitzner 1992, 1995 a, b, Pfitzner et al. 2003) chrząstki (w różnych lokalizacjach) i wielu innych narządów (Pawlikowski 1991c, 1993, Zamorska et al. 2001, Scuhurgers et al. 2010). w tym także prawdopodobnie tkanek nowotworowych (Pawlikowski, 1991d, 1993, Pawlikowski 2011a, 2013).

W artykule zostaną omówione zagadnienia mineralogiczno-biochemiczne związane z osteoporozą i mineralizacją tkanek i próbami jej rozpuszczania.

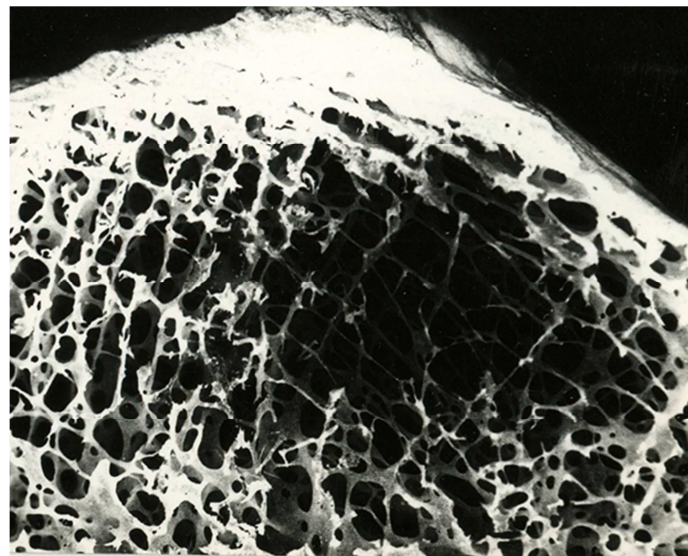
### **Zjawisko osteoporozy – zjawiska biomineralogiczne**

Zjawiska destrukcji struktury kostnej i obserwowane są między innymi densytometrycznie. Najczęściej są prowadzone przyżyciowo i obejmują całą kość (na przykład przedramienia). Badania szczegółowe densytometryczne badania osteoporozy wykonano na centymetrowej grubości plastrach uzyskanych z pociętych głów kości udowej. Głowy te pozyskano po totalnej alloplastyce stawu biodrowego Wykonane badania wskazują, że osteoporoza w poszczególnych plastrach jest różnie rozwinięta (przykład – Photo. 1A, B, Pawlikowski et al. - in print). Pojawia się w kości gąbczastej gdzie występują obszary o silnej demineralizacji i zaniku beleczek kostnych oraz obszary niemal nie objęte osteoporozą (Photo 1C)



A

B



C

Photo 1 A - Obraz densytometrii plasterów pociętej głowy kości usuniętej w wyniku totalnej alloplastyki stawu biodrowego. B - komputerowy model stref występowania osteoporozy w plasterach pokazanych na fot. 1A. C – obraz zaawansowanej osteoporozy w kości gąbczastej głowy kości udowej. Powiększenie 2 x.

Szczegółowe badania prowadzone przy pomocy SEM połączone z analizami chemicznymi wykonanymi metodą EDS dowodzą, że zjawisko osteoporozy obserwowane jako zanik beleczek kostnych polega nie tylko na rozpuszczaniu apatytu kostnego ale także na zaniku włókien kolagenowych zmineralizowanych apatytem (Fot. 2). Zatem osteoporoza jest

zjawiskiem nie tylko wyprowadzania z kości jonów  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{PO}_4^{3-}$  oraz pochodnych po rozpadzie apatyty, ale także elementów pochodnych po rozpadzie kolagenu (Pawlikowski 1995, Eyrie, Weis 2013). Oznacza to, że przy walce z osteoporozą nie wystarczy dostarczać organizmowi jonów do krystalizacji apatyty, ale należy wykreować kolagen z centrami krystalizacji w których ten apatyt wykrystalizuje.

Interesującym jest, że klasyczna osteoporoza obserwowana jest niemal wyłącznie w kościach w pełni wykształconych objętych pełną mineralizacją. Oznacza to, że mechanizmy fizykochemiczne prowadzące do destrukcji (osteoporozy) rozwijają się dopiero w całkowicie wykształconych i zmineralizowanych kościach.

Proces rozwoju prowadzący do pełnego wykształcenia kości prowadzi do systematycznego wzrostu ilości apatyty kostnego mineralizującego włókna kolagenu, w zaprogramowanych centrach krystalizacji (Glimcher 1992, Pawlikowski 1999).

Proces pełnej mineralizacji kości czyli mineralizacji kolagenu kostnego, prowadzący do wzrostu zawartości apatyty kostnego jest połączony z redukcją ilości komórek kostnych oraz biologicznych elementów łatwo przepuszczalnych dla kostnych płynów ustrojowych (Pawlikowski, Niedźwiedzki 2002). Tym sposobem we w pełni wykształconej i zmineralizowanej kości wymiana substancji między komórkami kostnymi a systemem krwionośnym jest znacznie trudniejsza niż w okresach poprzednich czyli takich gdy kości nie są w pełni zmineralizowane i bardziej przepuszczalne dla płynów kostnych.

Zatem sytuacja wytworzona we w pełni rozwiniętych i zmineralizowanych kościach powoduje, że trudniejsze jest zarówno odżywianie komórek kostnych przez system krwionośny jak też usuwanie produktów ich metabolizmu do systemu mikrożył występujących w kościach.

Wydaje się, że o ile utrudnienia w dostarczaniu substancji odżywczych do komórek kostnych nie pociągają za sobą istotnych następstw biochemiczno-biomineralogicznych środowiska kostnego, to utrudnienia w „odstawie” do krwi żyłnej produktów metabolizmu zachodzącego w komórkach kostnych zmieniają środowisko kostne, kolagenowo-mineralne w beleczkach kostnych.

W celu zrozumienia zjawiska wymiany wszystkich składników między systemem krwionośnym i komórkami kostnymi należy zwrócić uwagę na mechanizm tej wymiany. Zarówno substancje odżywcze jak i tlen, wędrują z układu tętniczego płynami kostnymi do komórek. Także produkty metabolizmu komórek wędrują do systemu żylnego. Migracje w obie strony odbywa się zgodnie z regułą wyrównywania stężeń.

W związku ze stałą dostawą przez system krwionośny ilość substancji odżywczych i tlenu w pobliżu mikrotętnic tkwiących w kanałach Havers'a jest wysoka. Postępując od tych tętnic w kierunku komórek kostnych ich ilość spada. Wiąże się to ze stałym zużywaniem tych substancji w procesach życiowych przez komórki kostne. Tym sposobem od tętnic do komórek wytwarza się gradient stężeń substancji odżywczych i tlenu, który powoduje, że wspomniane składniki są transportowane z tętnic do komórek kostnych (Fig. 1 a).

Komórki kostne przetwarzając substancje odżywcze i tlen w ich procesach metabolizmu wytwarzają głównie dwutlenek węgla, wodę i nieco innych związków. Tym sposobem na zewnątrz aktywnych komórek jest podwyższona ilość głównie dwutlenku węgla, ale także innych składników, reszt kwasowych i wolnych protonów powstałych po przetworzeniu węglowodanów, cukrów itd.

Wspomniane produkty metabolizmu w tym zwłaszcza  $\text{CO}_2$  oraz protony mają istotny wpływ na środowisko w pobliżu komórek. Obniżając lokalnie pH powodując jego zakwaszenie. Zakwaszenie to jest skutkiem reakcji  $\text{CO}_2$  z lokalną wodą znajdującą się w płynach kostnych, a dokładniej tworzeniem się w pobliżu komórek kwasu węglowego łatwo dysocjującego na  $\text{H}^+$  oraz  $\text{CO}_3^{2-}$ .

W związku z dużą ilością produktów metabolizmu komórkowego w beleczkach kostnych wytwarza się gradient stężeń powodujący ich transport. Wysokie koncentracje  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_3$  i in. w rejonie komórek i niskie w rejonie mikrożył kostnych (gdzie produkty metabolizmu komórkowego wchłaniane są do systemu krwi żyłnej). Powodują powstanie gradientu i przepływ składników metabolizmu komórek kostnych w kierunku od tych komórek do mikrożył (Fig. 1b).

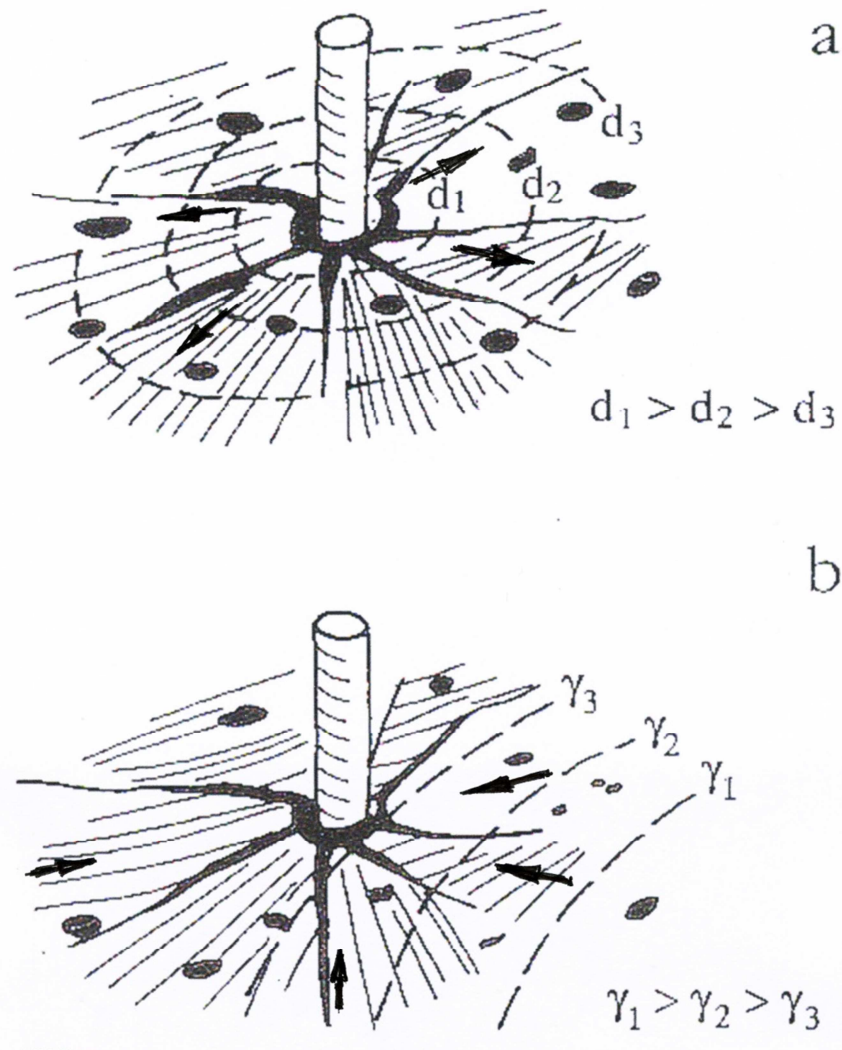


Fig. 1

**a** – schemat migracji substancji odżywczych w kości z krwi tętniczej do komórek kostnych zgodnie z zasadą wyrównywania stężeń:  $d_1$  - najwyższe stężenie tych substancji,  $d_3$  - najniższe stężenie tych substancji. Strzałki pokazują kierunki migracji substancji odżywczych.

**b** - schemat migracji produktów metabolizmu komórek kostnych z rejonu tych komórek do naczyń żylnych zgodnie z zasadą wyrównywania stężeń:  $\gamma_1$  - najwyższe stężenie substancji,  $\gamma_3$  - najniższe stężenie substancji. Strzałki pokazują kierunki migracji produktów metabolizmu.

Apatyt kostny jest trwały, czyli nie rozpuszcza się nawet w środowisku słabo alkalicznym, natomiast w środowisku lekko kwaśnym ( $\text{pH} < 6,6$ ) się rozpuszcza (Fig. 2). Zatem kwasowość środowiska w pobliżu komórek kostnych spowodowana obecnością znacznych ilości metabolicznych  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_3$  jak i wolnych protonów, powoduje, że apatyt wcześniej wykrystalizowany na włóknach kolagenowych jest w tych warunkach niestabilny i zaczyna się rozpuszczać. Jony uwalniane w tym procesie z apatytu kostnego przechodzą do płynów obecnych w pobliżu w komórek kostnych. Z stąd na zasadzie wyrównywania gradientu

stężeń migrują razem z innymi produktami metabolizmu komórkowego do krwi żyłnej (Fig. 1b). Występowanie tego typu zjawiska zostało potwierdzone eksperymentalnie (Currey et al. 1996, Camisa et al. 2004, Castro-Cesena et al. 2011).

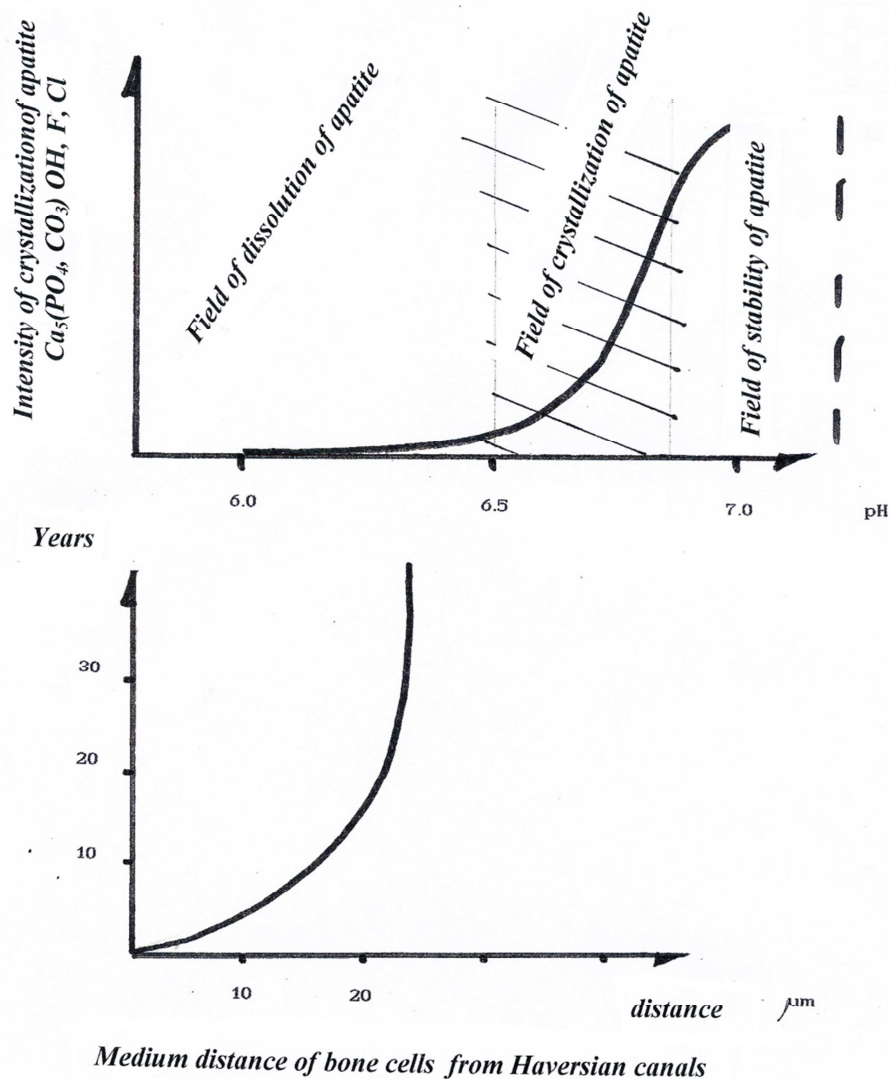


Fig. 2 Diagramy. Górny - pokazuje obszary stabilności i rozpuszczania apatyty kostnego w zależności od pH środowiska. Dolny - pokazuje średnią odległość komórek od kanałów Havers'a w zależności od wieku i stopnia mineralizacji kości.

Należy zauważyć, że tempo transportu produktów metabolizmu komórek kostnych do krwi żyłnej jest po osiągnięciu pełnej dojrzałości kości spowolnione w stosunku do okresu poprzedniego. Wiąże się to z trudniejszą migracją tych produktów przez obszary beleczek kostnych zabudowane zmineralizowanym apatytem. Spadek wspomnianego tempa odprowadzanych metabolitów pociąga za sobą stabilizację obniżonego pH czyli warunków sprzyjających rozpuszczaniu apatyty. Natomiast w miarę rozwoju demineralizacji kolagenu u



zaniku beleczek kostnych i w związku z postępującą coraz lepszą przepuszczalnością już zdegradowanych beleczek proces osteoporozy nabiera tempa. Stąd też w pierwszym okresie rozwoju osteoporozy destrukcja kości i mineralizacja tkanek jest niewielka, Natomiast w miarę starzenia się organizmu osteoporoza jak i mineralizacja (zwapnienia tkanek) przyspiesza.

W czasie rozpuszczania apatyty i niszczenia centrów krystalizacji w kolagenie kostnym destrukcji podlegają także same włókna kolagenowe. Zjawisko to obserwowane jest sumarycznie podczas badań różnymi metodami jako zanik beleczek kostnych czyli osteoporoza (Fot. 2).



Photo 2 Strefa rozwijającej się osteoporozy w beleczce kości gąbczastej. Widoczne strefy rozrzedzenia i „rozsunięcia” demineralizowanych włókien kolagenowych. SEM. powiększenie 2000 x.

Jony uwolnione w opisanym procesie z apatyty kostnego wraz z produktami metabolizmu komórek kostnych po dostaniu się do naczyń żylnych transportowane są do płuc i innych narządów. W płucach, we krwi, podczas wymiany gazowej  $\text{CO}_2$  na  $\text{O}_2$  następuje zmiana pH krwi z kwaśnego na zasadowe. Jest to spowodowane wydzieleniem z krwi  $\text{CO}_2$  zakwaszającego krew żylną (w formie kwasu węglowego). Zastąpienie dwutlenku węgla tlenem wpływa na to że w utlenionej krwi tętniczej (przy pH nieznacznie przekraczającym 7) pojawiają się warunki sprzyjające krystalizacji fosforanów w głównie tym apatyty. Ta sytuacja skutkuje tym, że jednym z pierwszych miejsc narażonych na mineralizację (powstanie zwapnień) są właśnie płuca (Pawlikowski 1993).

Aby doszło do krystalizacji apatyty w tkankach muszą być spełnione dwa warunki. Muszą występować centra krystalizacji oraz jony fosforanowe i wapniowe. Jony te znajdują się we krwi. Ich część może pochodzić z kości, które ulegają osteoporozie, a część może pochodzić z diety. Oznacza to, że „materiał” do powstawania zwapnień występuje w krwi tętniczej i



przy pH powyżej 7 może krystalizować. Krystalizacja może jednak się odbywać pod warunkiem, że w strukturach tkankowych występują miejsca nadające się do krystalizacji. Miejsca te to centra krystalizacji czyli miejsca w których rozpoczyna się koncentrowanie jonów mineralizujących tkanki.

### **Centra krystalizacji.**

Centra krystalizacji są to miejsca w różnego rodzaju tkankach (i nie tylko), w których występuje pole elektryczne pozwalające „wychwycić” z krwi i płynów ustrojowych wędrujące jony fosforanowe, wapniowe i in. Jony obdarzone ładunkami elektrycznymi (czyli w formie jonowej) wiązane są w centrach krystalizacji przez wolne wiązania (także obdarzone ładunkami) atomów budujących tkanki. Centra krystalizacji mogą mieć różną genezę (Anderson, Erikson 1968, Pawlikowski 1994, Pawlikowski, Pfitzner 1999, Pawlikowski, Niedźwidzki 2002, Ueland et al. 2010, Yourbrough et al. 2010). Prowadzone przez autora badania pozwalają na wstępną genetyczną klasyfikację centrów krystalizacji występujących w tkankach człowieka.

#### **Centra genetyczne (pierwotne)**

Centra te to zdefektowane miejsca w różnych strukturach tkankowych, w których występują ładunki elektryczne czyli wolne wiązania jonowe. Ich występowanie w tkankach jest skutkiem błędu genetycznego powtarzającego się w organizmach kolejnych pokoleń.

#### **Centra powstające mechanicznie (wtórne)**

a. Są to miejsca w tkankach w których dochodzi do zniszczenia struktur biologicznych w wyniku nadmiernego ich eksploatacji – wysiłku fizycznego. Są to obszary w których ma miejsce zerwanie wiązań międzyatomowych w strukturach biologicznych

b. Są to centra będące wynikiem mechanicznego oddziaływania substancji dostających się do organizmu z zewnątrz (Fig. 3). Czynnikiem powodującym powstawanie centrów mogą być drobiny mineralne lub syntetyczne wnikające do organizmu z powietrzem, pokarmem i płynami. Działając mechanicznie na tkanki mogą powodować ich zniszczenie, a w efekcie tworzenie się miejsc obdarzonych ładunkami elektrycznymi.

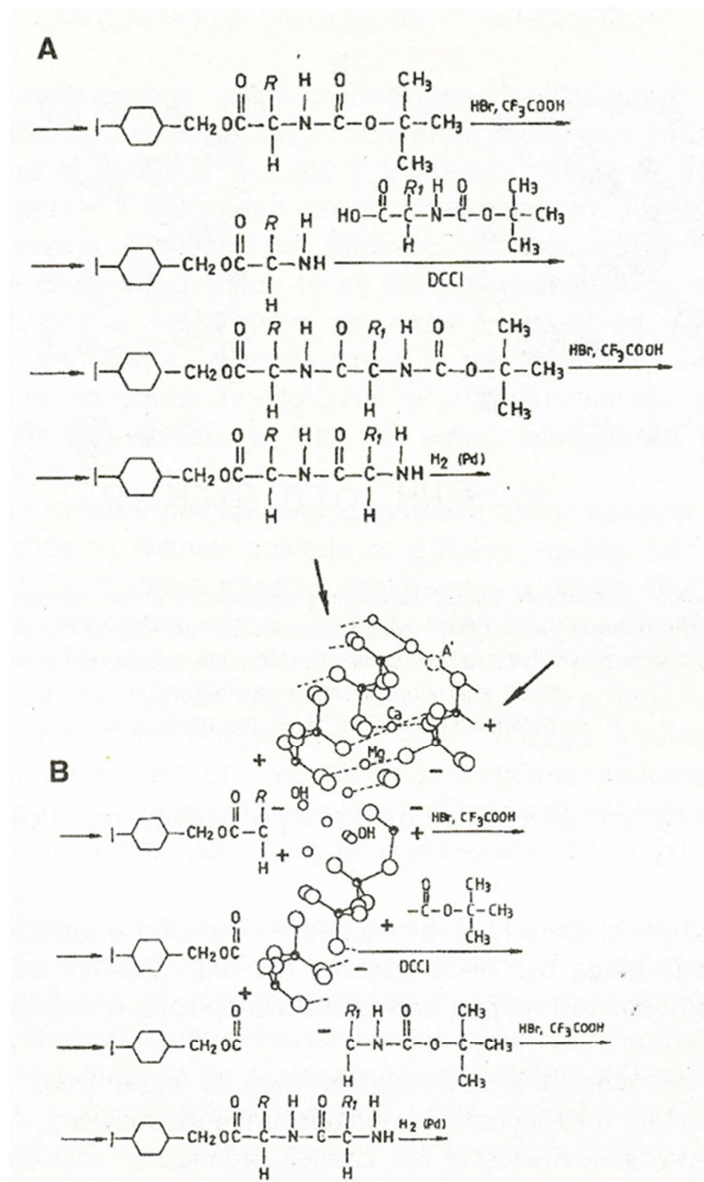


Fig. 3 Przykład centrum krystalizacji powstające mechanicznie (wtórnie) w wyniku zniszczenia struktury polipeptydu przez drobinę pochodzenia mineralnego (w tym wypadku włókno azbestowe).

**A** - struktura polipeptydu przed zniszczeniem przez włókno azbestowe,

**B** - struktura polipeptydu po zerwaniu w nim wiązań międzyatomowych przez wbite włókno azbestu aktynolitowego. Strzałki pokazują utworzone centra krystalizacji obdarzone ładunkami elektrycznymi w których może krystalizować apatyt i inne substancje np. cholesterol.

### Centra powstające na drodze chemicznej (wtórne)

a. Centra związane z oddziaływaniem chemikaliów dostających się do organizmu z powietrzem, płynami i pokarmami. Chemikalia te to zarówno związki czysto chemiczne pochodzenia przemysłowego jak i niektóre np. konserwanty środków spożywczych, stabilizatory, środki ochrony roślin i in. Do czynników sprzyjających niszczeniu tkanek w

tym także powstawaniu centrów należy zaliczyć niektóre używki jak np. alkohol, niektóre kosmetyki, i in. Czynniki te działając na tkanki niszczą je powodując powstawanie centrów, w których następnie może dojść do krystalizacji i mineralizacji.

b. Centra powstające w związku z różnego rodzaju infekcjami. Organizmy infekujące organizmy takie jak bakterie, wirusy, grzyby i in. wytwarzają w procesach życiowych różnorodne toksyny. Niektóre z nich są bardzo agresywne i powodują nie tylko chorobowe dolegliwości ale wręcz mogą niszczyć tkanki. Wszystkie miejsca zniszczenia tkanek przez wspomniane toksyny to centra krystalizacji, bowiem w miejscach zniszczeń występują zerwane wiązanie międzycząsteczkowe obdarzone ładunkami elektrycznymi.

Każdy ze wspomnianych rodzajów centrum krystalizacji może występować sporadycznie lub masowo. Mogą także występować centra jednego rodzaju na przykład genetyczne lub mogą występować w tkankach równocześnie wszystkie wymienione rodzaje centrów. Jednych centrów może być więcej, a innych niewiele.

Każdy z wymienionych rodzajów centrów krystalizacji, które obdarzone jest ładunkami elektrycznymi może być objęte mineralizacją. O stopniu tworzącej się mineralizacji tkanek decyduje głównie wielkość centrum czyli ilość wolnych wiązań, które mogą zostać obsadzone, przez przemieszczające się w pobliżu jony.

Na podstawie powyższego opisu różnego rodzaju centrów krystalizacji łatwo można się domyślać które z organów i tkanek będą preferowane w rozwijającej się mineralizacji. U jednej osoby będą to np. naczynia wieńcowe (centra genetyczne), a u innej osoby płuca (po przebytych infekcjach). Choć będą także osoby u których mineralizacja (np. zwapnienia) rozwiną się równocześnie lub stopniowo się w wielu miejscach, w wielu różnego rodzaju centrach krystalizacji.

### **Mineralizacja centrów krystalizacji (tkanek)**

Jak wspomniano do mineralizacji tkanek niezbędne są dwa elementy: substancja mineralizująca i centra krystalizacji. Nie dojdzie do mineralizacji tkanek gdy występują centra krystalizacji, a brak jest substancji mineralizującej. Mineralizacja nie rozwinie się także gdy mamy pod dostatkiem jonów, które mogłyby mineralizować tkanki, a brak jest centrów krystalizacji. Obserwowano kilka etapów mineralizacji tkanek poza układem kostnym.

### **Mineralizacja ukryta**

Jest to mineralizacja wczesna podczas której centra krystalizacji zostają obsadzone niewielką ilością kationów i anionów. Nie manifestuje się ona obecnością w tkankach ziarn czy kryształów. Ujawnia się natomiast w wynikach analiz chemicznych tkanek jako podwyższone zawartości niektórych pierwiastków. Mineralizacja ta może zatrzymać się na poziomie mineralizacji ukrytej lub w wyniku ewolucji i dalszych etapów krystalizacji może przekształcić się w mineralizację jawną. Mineralizacja ukryta nie powoduje zasadniczych zmian wyglądu makroskopowego zmineralizowanych tkanek. Jednak poprzez obecność

jonów w strukturach biologicznych (w centrach krystalizacji) w różnym stopniu zmienia właściwości tkanek. Na przykład chrząstka stawowa objęta ukrytą mineralizacją jest nieco twardsza, mniej elastyczna i bardziej podatna na ścieranie i deformacje. Jej skutki obserwowano m.in. w chrząstce i funkcjonowaniu stawów biodrowych. (Photo 3).



Photo 3 Mineralizacja ukryta. Głowa kości udowej usunięta w wyniku zabiegu totalnej alloplastyki stawu biodrowego. Chrząstka pokrywająca głowę kości udowej zmieniona mineralizacją ukrytą (podwyższone zawartości Ca, P i in) została starta miejscami aż do kości. Strzałka pokazuje miejsce kontaktu resztki zmineralizowanej chrząstki z obszarem w którym zmineralizowana chrząstka został zupełnie starta do kości.

### **Mineralizacja jawna**

Jest kolejnym bardziej zaawansowanym stadium mineralizacji tkanek. Powstaje w wyniku dalszej mineralizacji obszarów objętych mineralizacją ukrytą. Obserwowana jest w tkankach i narządach w formie różnego rodzaju ziarn i kryształów nie tylko fosforanowych (cholesterolowych, węglanowych i in.). Tworząc się w tkankach utrudnia lub nawet wręcz uniemożliwia prawidłowe funkcjonowanie zarówno samych tkanek jak i całych organów. . Rozwijają się w różnych tkankach i narządach. Jako kontynuacja mineralizacji ukrytej może się manifestować obecnością ziarn i kryształów o różnej postaci i wielkości. Może się tworzyć w tętnicach na śródbłonku (Photo 4 A, B) i na płatkach zastawek i w wielu innych narządach (Pawlikowski 1993). Mineralizację fosforanową obserwowano nawet na protezach zastawek aortalnych serca (Photo 5) i na końcówkach elektrod rozruszników serca.



A

B

Photo 4. Mineralizacja jawna. A- kryształy fosforanowe (aptytowe) krystalizujące w centrum krystalizacji na powierzchni śródbłonna tętnicy szyjnej. B – ziarna fosforanowe i blaszki cholesterolowe tworzące się na zniszczonej powierzchni płatków zastawki aortalnej. SEM. Powiększenie wg. skali.

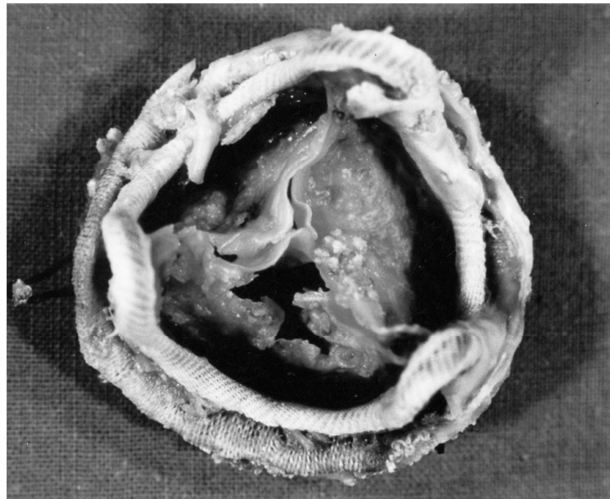


Photo 5 Mineralizacja jawna. Wyjęta proteza zastawki aortalnej. Widoczne skupienia fosforanowe na płatkach zastawki.

Mineralizacja fosforanowa, cholesterolowa i mieszana cholesterolowo-fosforanowa i in. może występować także pod śródbłonkiem tętnic. Ma wówczas postać kryształów bądź ziarnistych koncentracji (Photo 6).



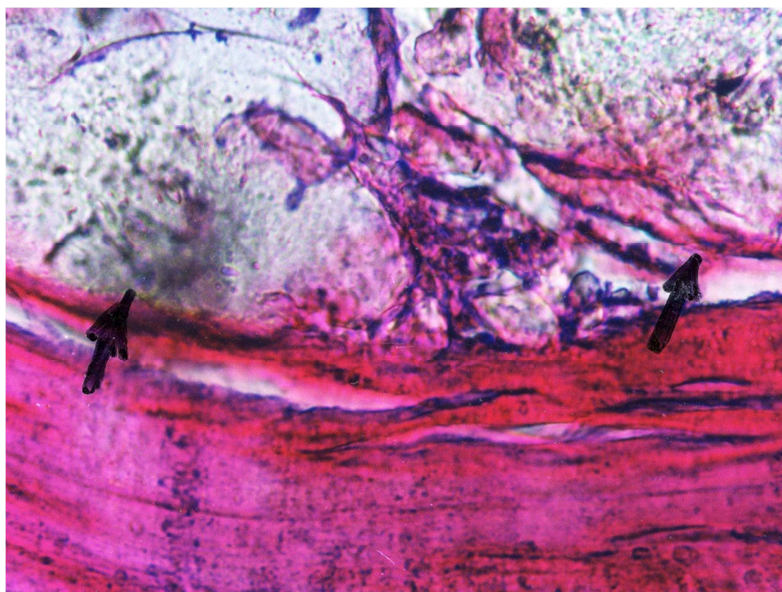


Photo 6 Obraz ziarnistej mineralizacji cholesterolowej z domieszką fosforanów wapnia w ścianie tętnicy szyjnej. Strzałki pokazują ziarna cholesterolowe zawierające domieszkę Ca i P. Preparat histologiczny wybarwiony hematocyniną, powiększenie 120 x.

Wtórna mineralizacja tkanek związana z jonami  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{PO}_4^{3-}$  wyprowadzanymi w procesie osteoporozy z kości może obejmować wiele narządów i pogłębia się wraz z wiekiem człowieka czyli z postępującą osteoporozą. Jest ona przyczyną wielu zaburzeń w funkcjonowaniu organów i poważnych problemów zdrowotnych w tym m.in. nadciśnienia tętniczego wynikającego z krystalizacji różnych substancji właśnie w tętnicach.

Badania mineralizacji nowotworów (Pawlikowski 1991d, 2004, 2013) sugerują, że prawdopodobnie może ona także sprzyjać procesowi nowotworowemu.

### **Mechanizm krystalizacji**

Krystalizacja różnych substancji mineralizujących tkanki odbywa się z nienasyconego roztworu czyli z krwi zawierającej jony. Zatem krystalizacja w centrach krystalizacji nie odbywa się wskutek przekroczenia iloczynu rozpuszczalności związków mineralizujących tkanki. Mechanizmem powodującym migrację jonów ku centrom krystalizacji i tworzenie się mineralizacji ukrytej, a następnie jawnej jest brak równowagi fizykochemicznej między składem chemicznym krwi tętniczej, a miejscem (centrami) mineralizacji. Dzięki temu zjawisku, a w szczególności obecności jonów wapnia i fosforu w krwi (jak też innych cząstek obdarzonych ładunkami elektrycznymi) następuje wychwytywanie tych jonów przez centra krystalizacji. Tak pomimo niewysokich stężeń jonów, możliwym jest mineralizacja tkanek.

### **Rozpuszczanie mineralizacji tętnic**

Najkorzystniejszym byłoby niedopuszczanie do osteoporozy i do mineralizacji tkanek miękkich. Jednak jeśli one już występuje istotnym jest ich redukcja lub zupełne usunięcie.

Badania rozpuszczalności *in vitro* substancji mineralizujących tętnice prowadzono w zestawie pokazanym na fig. 4. W miejscu zaznaczonym nr 3 (Fig. 4) umieszczano fragment tętnicy



objętej mocną mineralizacją cholesterolową manifestująca się obecnością złogów cholesterolowych na powierzchni *intimy* jak i pod nią (Pawlikowski 1995, 1998, 1999, 2003).

Przez tętnicę objętą mineralizacją cholesterolową przepuszczano różne media zasysane przez pompę perystaltyczną (Fig. 4, 2) ze zlewki (Fig. 4, 1). Do rozpuszczania stosowano wodne i alkoholowe wyciągi roślinne. Po przepompowaniu tych płynów przez tętnicę zbierano je w zlewce (Fig. 4, 4) po czym je odparowywano.

W tym eksperymencie po całkowitym odparowaniu niektórych rozpuszczalników na dnie zlewki wykryły drobne kryształki cholesterolu. Ich wielkość nie przekraczała 1 mm (Fot. 7A).

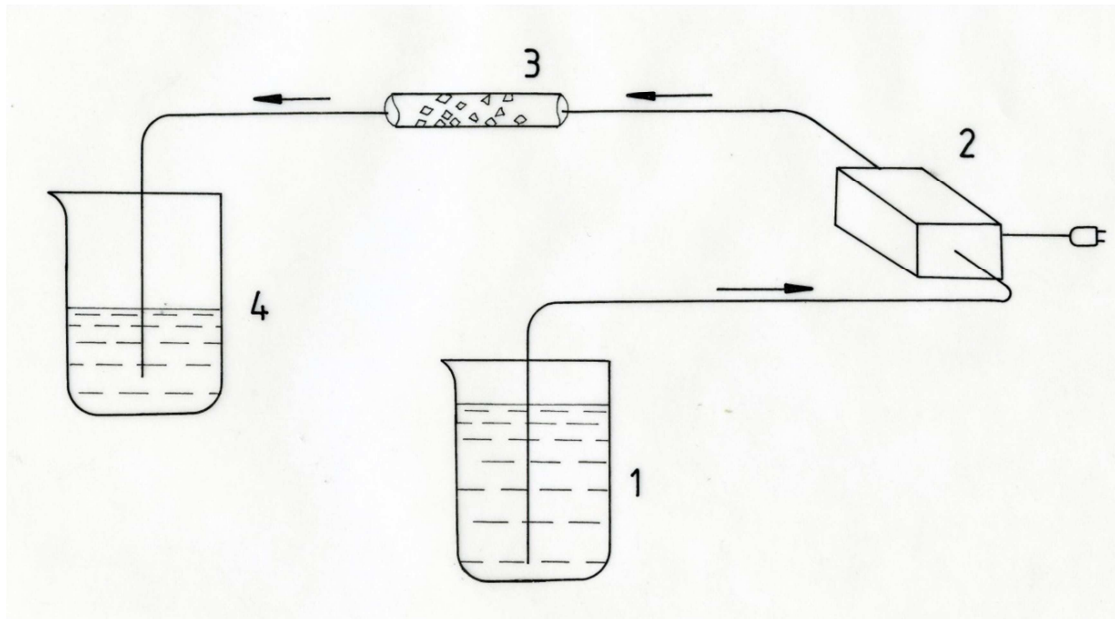


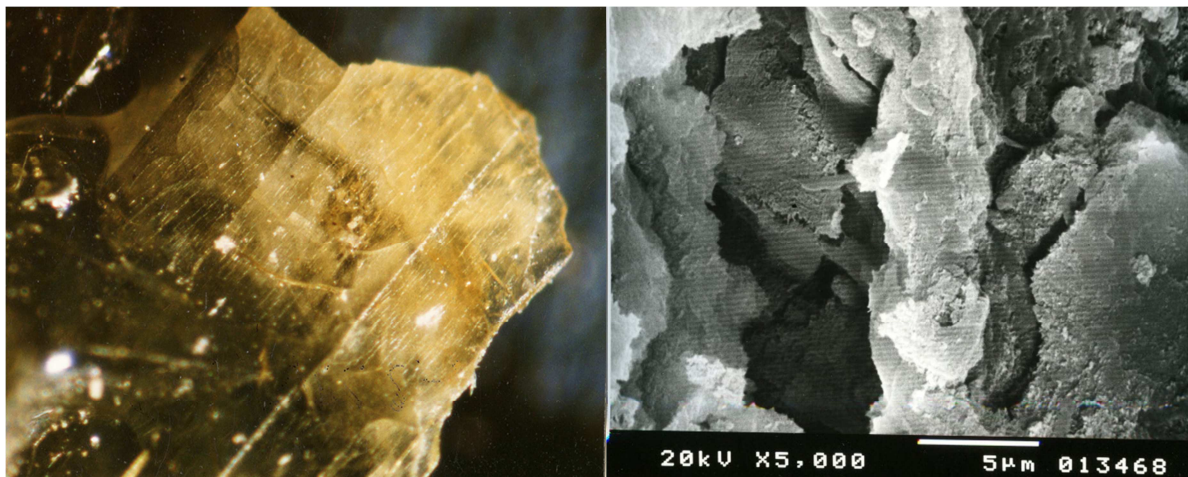
Fig.4 Schemat zestawu wykorzystanego w eksperymentach *in vitro* z rozpuszczaniem mineralizacji tętnic człowieka

- 1- zlewka z „rozwęzalnikiem”, 2- pompa perystaltyczna, 3 – fragment zmineralizowanej tętnicy (lub rurka wypełniona syntetycznym hydroksyapatytem węglanowym), 4 – zlewka do zbierania „rozwęzalnika” po jego przepłynięciu przez tętnicę (rurkę pokazaną w punkcie 3).

Drugi rodzaj eksperymentów obejmował rozpuszczanie fosforanów krystalizujących w tętnicach. Ze względu na trudności w uzyskaniu tętnic zmineralizowanych fosforanami (głównie apatytem) w eksperymentach użyto syntetyczny hydroksyapatyt syntetyzowany wg. receptury podanej w Białas et al. (1986).

Ziarna syntetycznego pokruszonego apatyty poddano badaniom SEM przed próbą ich rozpuszczania i po przeprowadzeniu prób rozpuszczania. Wykonano także analizy „rozwęzalnika” przed i po przepuszczeniu ich przez rurkę wypełnioną pokruszonymi ziarnami hydroksyapatyty węglanowego.

Obserwacje morfologii ziarn apatyty poddanych rozpuszczaniu *in vitro* wskazują, że pomimo słabej rozpuszczalności hydroksyapatyt węglanowy rozpuszcza się w niektórych „rozwęzalnikach” (Fot 7B).



A

B

Photo 7 A – kryształ cholesterolu (około 1 mm wysokości) wyhodowany z „rozpuszczalnika” przepuszczonego przez tętnicę zmineralizowaną cholesterolom (patrz Fig. 4). B – zniszczona powierzchnia ziarna syntetycznego apatytu umieszczonego w poliestrowej rurce (Fig. 4, punkt 3) poddanego rozpuszczaniu. SEM, powiększenie wg skali.

### **Przeciwdziałanie osteoporozie**

Badania wskazują, że stan nieważkości kosmonautów czyli nieobciążania struktur kostnych sprzyja rozwojowi osteoporozy. Zatem wydaje się, że solidniejsze obciążenie systemu kostnego może spowalniać osteoporozę. Oznacza to, że osoby o większej masie narażone są na wolniej postępującą osteoporozę niż osoby szczupłe. Stąd biorąc pod uwagę transfer jonów - w wyniku osteoporozy - z kości do tkanek miękkich i ich mineralizację w wyniku tego procesu, bardziej będą narażone na niego osoby szczuplejsze.

Osobnym zagadnieniem jest dopracowanie „technologii” wzmocnienia kości przez likwidację osteoporozy. Do rekonstrukcji kości a w szczególności beleczek kostnych potrzebny jest kolagen z centrami krystalizacji oraz substancja z której może krystalizować apatyt (fosfataza alkaliczna). Dopiero obecność tych elementów może spowodować odbudowę struktury kości i jej istotne wzmocnienie. Samo podawanie związków wapnia i fosforu, bez matrycy kolagenowej (kościach) może spowodować, że podawane składniki wbudują się w centra znajdujące się w tkankach poza układem kostnym. Może się to przyczynić do pojawienia się różnych, nowych problemów zdrowotnych.

### **Wnioski**

Otrzymane wyniki badań wskazują na powiązanie mineralizacji tkanek i narządów z demineralizacją kości obserwowaną jako osteoporozą. Zależność ta jest potwierdzona przez postępującą z wiekiem człowieka relacją: postępująca osteoporozą – postępujące zwapnienia tkanek.

Dlatego wstrzymanie lub spowolnienie osteoporozy będzie skutkowało nie tylko lepszym funkcjonowaniem układu kostnego w starszym wieku, lecz ograniczy transfer pierwiastków z kości do mineralizowanych tkanek i narządów.

Istotnym jest aby równocześnie z redukcją ilości różnych substancji mineralizujących tkanki redukować poprzez odpowiednie postępowanie ilość centrów krystalizacji w których może się mineralizacja rozwijać.

Dalsze badania powinny się koncentrować na eksperymentach obejmujących rozpuszczanie mineralizacji np. tętnic *in vivo*, a zwłaszcza na redukcji osteoporozy, w tym szczególnie na technologiach odbudowy kości objętych tym procesem.

Istnieją naturalne procesy biologiczne, które odpowiednio sterowane mogą zahamować osteoporozę i wzmacniając strukturę kości ograniczyć transfer pochodzących z nich pierwiastków do tkanek miękkich. Pozytywne rezultaty eksperymentów prowadzonych w tym zakresie powinny przyczynić się m. in. do lepszego, zdrowszego i dłuższego życia człowieka.

## Literatura

Anderson J.C., Eriksson C., 1968 Electrical properties of wet collagen. *Nature*. 218, pp. 166-68.

Badurski J., Sawicki A., Boczoń S. 1994 Osteoporoza. *Osteoprint* , 206 p.

Bialas B., Kita B., Pawlikowski M., Pospóła W., 1986 Preliminary studies of synthetic hydroxyapatite and their application to bone grafts. *Mineralogia Pol.* v. 17, nr 1, pp. 95-107.

Bieniek A., Niedźwiedzki T., Pawlikowski M., 2011 Badania mineralogiczne zjawisk osteoporozy głów kości udowej, a rentgenowskie badania densytometryczne (Mineralogical investigation of osteoporosis phenomenon – relation to densometric examination). *Ortopedia, Traumatologia Rehabilitacja. Cong. of Polish Osteoarthritis Society and Polish Foundation of Osteoporosis.* Kraków 29.09-1.10. pp. 150-151.

Blacher J., Guerin A.P, Pannier B., Marchais S.J., London G.M., 2001 Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 38, pp. 938–942.

Buckwalter J.A., Glimcher M.J., Cooper R.R., Recker R., 1995 Bone biology. Part I: structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. *J. Bone Joint. Surg.*, 77-A, pp. 1256-75,

Buckwalter J.A., Glimcher M.J., Cooper R.R., Recker R., 1995 Bone biology. Part II: formation, form, remodelling and regulation of cell function. *J. Bone Joint. Surg.*, 77-A, pp. 1276-89.

Burstein A.H., Reilly D.T., Martens M., 1976 Aging of bone tissue: mechanical properties. *J. Bone Joint Surg.*, 58A , pp. 82–86.

Castro-Ceseña A.B., Novitskaya E.E., Chen P.-Y., Hirata, J. G. McKittrick A.. 2011 Kinetic studies of bone demineralization at different HCl concentrations and temperatures. *Materials Science and Engineering*: 31(3), pp. 523-530.

Cammisa F.P. Jr, Lowery G, Garfin S.R., et al. 2004 Two-year fusion rate equivalency between Grafton DBM gel and autograft in posterolateral spine fusion: a prospective

controlled trial employing a side-by-side comparison in the same patient. *Spine*. 29, pp. 660-666.

Currey J.D., Brear K., Zioupos P., 1996 The effects of aging and changes in mineral content in degrading the toughness of human femora. *J. Biomech*, 29, pp. 257–260.

Dickenson R.P., Hutton W.C., Stott J.R.R., 1981 The mechanical properties of bone in osteoporosis. *J. Bone Joint Surg*, 63B, pp. 233–238.

Eyre D.R., Weis M.A., 2013 Bone collagen: new clues to its mineralization mechanism from recessive osteogenesis imperfecta. *Calcif. Tissue Int.* 93(4), pp. 338-347.

Fehérvári M., Sarkadi H., Krepuska M., Sótonyi P., Acsády G., Entz L., Lakatos P., Szeberin Z., 2013 Bone mineral density is associated with site-specific atherosclerosis in patients with severe peripheral artery disease. *Calcif. Tissue Int.* 93(1), pp. 55-61.

Glimcher M.J., 1992 The structure of mineral component of bone and the mechanism of calcification. W: Coe FL, Favus M.J. *Disorders of bone and mineral metabolism*. Raven Press, New York.

Kim K.J., Kim K.M., Park K.H., Choi H.S., Rhee Y., Lee Y.H., Cha B.S., Kim M.J., Oh S.M., Brown J.K., Lim S.K., 2012 Aortic calcification and bone metabolism: the relationship between aortic calcification, BMD, vertebral fracture, 25-hydroxyvitamin D, and osteocalcin. *Calcif. Tissue Int.* 91(6), pp. 370-378.

Kita B., Pawlikowski M., 1983 Badania mineralogiczno-chemiczne kości udowej człowieka w aspekcie procesu starzenia. (Mineralogical-chemical investigation of tibia in the aspect of ageing). *Chirur. Narządów Ruchu i Ortop. Pol.* T. XLIII, pp. 87-91.

Krieger N.S., Bushinsky D.A., 2013 The relation between bone and stone formation. *Calcif. Tissue Int.* 93(4), pp. 374-381.

Liao S., S. and Cui F.Z., 2004 In Vitro and in Vivo degradation of mineralized collagen-based composite scaffold: nanohydroxyapatite collagen/Poly (L-lactide). *Tissue Engineering*. January 2004, 10(1-2), pp. 73-80.

Lipnicka P., Pawlikowski M., Pfitzner R., 2003 Znaczenie rozpuszczania syntetycznego hydroksyapatytu w badaniach nad destrukcją złożeń miażdżycowych. (An importance of examination of dissolution of hydroxyapatite – relations to mineralization of human arteries). *Folia Med. Crac.* v XLIV, 1-2, pp. 187-200.

Lei Y., Grover A, Sinha A., Vyavahare N., 2013 Efficacy of reversal of aortic calcification by chelating agents. *Calcif. Tissue Int.* 93(5), pp. 426-435.

Mack PB, Vose GP, Vogt FB, LaChance PA. 1996 Chapter 43. Experiment M-6. Bone demineralization. In: Gemini Midprogram Conference Including Experiment Results, NASA Special Publication, NASA SP-121. Feb 23-2, pp. 407-415.

Miller L.M., Vairavamurthy V., Chance M.R., Paschalis E.P., Betts F., Boskey A.L., Mendelsohn R., 2000 In situ analysis of mineral crystallinity and environment in bone using infrared microspectroscopy *Biochim Biophys Acta.* 1527, pp. 11–19

Mongiorgi R., Romagnoli R., Olmi R., Moroni A., 1983 Mineral alterations in senile osteoporosis. *Biomaterials*, 4, pp. 192–196.

Niedźwiedzki T., Pawlikowski M., 1987a Zmiany w mineralnej części kości w pobliżu stawów rzekomych. (Mineralogical changes at the region of ostites). *Chirurgia Narz. Ruchu i Ortop. Pol.* T. LII, z. 2, pp. 100-107.

Niedźwiedzki T., Pawlikowski M., Kita B., 1987b Zmiany mineralogiczne w chrząstce stawu biodrowego u osób ze zmianami zwyrodnieniowymi. (Mineralogy of the hip joint cartilage). *Chirur. Narządów Ruchu i Ortop. Pol.* T. LII, pp. 354-356.

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

Niedźwiedzki T., Pawlikowski M., Brudnicki J., 1992 Zmiany mineralogiczne zachodzące wraz z wiekiem w krążku międzykręgowym na poziomie L4-L5. (Mineralogy of vertebral discs -region between L4-L5) *Chir. Narz. Ruchu. Ortop. Pol.*, T. LVII, pp. 225-229.

Niedźwiedzki T., Dąbrowski Z., Miszta H., Pawlikowski M., 1993 Bone healing after bone marrow stromal cell transplantation to the bone defect. *Biomaterials*, v. 14, no.2, pp. 115-121.

Niedźwiedzki T., Pawlikowski M., Brudnicki J., Palka E., 1995 Zmiany mineralogiczne zachodzące w stawach kręgosłupa w czasie starzenia się (Mineralogical alternations observed at vertebral column – relations to ageing). *Chir. Narzów Ruchu i Ortop. Pol.* LX, supl. 1, pp. 163-167.

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

Pawlikowski M., 1991a Gospodarka Ca i P w organizmie człowieka. (Distribution of Ca and P in human organism ) In: A. Szymański *Biomineralogia i biomateriały*. PWN Warszawa, pp. 61-66.

Pawlikowski M., 1991b Mineralizacja naczyń krwionośnych i płuc. (Mineralization of human arteries and lungs). In: A. Szymański *Biomineralogia i biomateriały*. PWN Warszawa, pp. 67-83.

Pawlikowski M., 1991c Mineralizacja trzustki. (Mineralization of pancreas) In: A. Szymański *Biomineralogia i biomateriały*. PWN Warszawa, pp. 92-96.

Pawlikowski M., 1991d Mineralizacja guzów nowotworowych. (Mineralization of cancer tumors) In: A. Szymański *Biomineralogia i biomateriały*. PWN Warszawa, pp. 97-102.

Pawlikowski M., 1993 Krysztaly w organizmie człowieka. (Crystals of human organism). Secesja. (Atlas), 132 p.

Pawlikowski M., 1994 Mineralizacja tkanek organizmu człowieka jako efekt starzenia. (Mineralization of human tissues as effect of ageing). Prace Spec. PTMin. Z. 5, p. 196.

Pawlikowski M., 1995 Sekrety mineralizacji tkanek. (Secrets of tissues mineralization). Wyd. IGSMiE PAN Kraków, 97 p.

Pawlikowski M., 1998 Preliminary results of dissolution of human blood vessel mineralization. Proceedings of 5th Int. Congr. on Applied Mineralogy in Mineral Industry. Warsaw 2-5 June 1996, p. 497.

Pawlikowski M., 1999 Preliminary results of dissolution of substances mineralizing human arteries. Arch. Mineralog. T.LII, pp. 195-210.

Pawlikowski M., 2003 Minerals in human blood vessels and their dissolution in vitro, In: Skinner H.C.W., Berger A. W., Geology and health. N.Y. – Oxford. Oxford Univ. Press, pp. 155-158.

Pawlikowski M., 2004 Mineralogy and chemistry of osteoporosis - mechanism of mineralization (calcification) of human tissues. Prec. Goldschmidt Conf. Kopenhaga 2004, p. A531.

Pawlikowski M., 2011a Biomineralization of cancer tissues. 20<sup>th</sup> Int. Symp. Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism. Cracow. Ed. H. Lach. Wyd. Abaton. Kraków, pp. 190-191.

Pawlikowski M., 2011b Osteoporoza jako źródło mineralizacji tkanek. (Osteoporosis as source of elements mineralizing tissues). Materiały Konf. Mechanizmy służące utrzymaniu życia i regulacji fizjologicznych. Kraków, pp. 79-83.

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

Pawlikowski M., Pfitzner R., 1992 Mineralizacja zastawek serca. (Mineralogy of calcified heart valves). Folia Medica Cracoviensia. T. XXXIII, pp. 3-24.

Pawlikowski M., Pfitzner R., Wachowiak J., 1994 Mineralization (calcification) of coronary arteries. Mat. Medica Polona, v. 26, pp. 3-8.

Pawlikowski M., Pfitzner R., 1995a Zastosowanie metod mineralogicznych w badaniach tkanek człowieka. I. Sposoby badania mineralizacji. (Mineralogical methods useful for examination of human tissues). Przegl. Lekarski 52, 4, pp. 119-123.

Pawlikowski M., Pfitzner R., 1995b 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 52, 4, pp. 24-27.



Pawlikowski M., Pfitzner K., Skinner C. 1995 Cholesterol-mineral concentrations of the aneurysmatic wall. *Acta Angiologica. Supl.* 1 str. 15.

Pawlikowski M., Pfitzner R., Skinner C.W., 1996 Mineral - Cholesterol Concentrations of the Aortic Aneurysmatic Wall. *Pol. J. Pathol.* 74, 4, pp. 225-252.

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

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

Pawlikowski M., Ryskała Z., 1991 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*, pp. 81-104.

Pfitzner R., Pawlikowski M., Stępień E., 2003 Mineral pathology of hearth valves. *Przegl. lek* nr 60, supplement 4, p. 32.

Pawlikowski M., Niedzwiedzki T., Bieniek A., Niedzwiedzki Ł., (in print) Relation osteoporosis at femur head and mineralization of cartilage coating this head. *Chirurgia Narz. Ruchu i Ortop. Pol.*

Shindyapina A. V., MkrtychyanGarik V., GneteevaT., Buiuclic S., Tancowny B., Kulka M., Zhavoronkov A., 2014 Mineralization of the Connective Tissue: A complex molecular process leading to age-related loss of function. *Rejuvenation Research.* 17(2), pp. 116-133.

Ueland, T., Gullestad, L., Dahl, C.P., Aukrust, P., Aakhus, S., Solberg, O.G., Vermeer, C., Schurgers, L.J. 2010 Undercarboxylated matrix gla protein is associated with development of heart failure in symptomatic aortic stenosis. *J. Int. Med.* 268, pp. 483-492.

Weis A., Dorvee J.R., 2013 Biomineralization Mechanisms: A new paradigm for crystal nucleation in organic matrices. *Calcif. Tissue Int.* 93, (4), pp. 307-315

Yamauchi M., Kaji H, Nawata K., Takaoka S., Yamaguchi T., Sugimoto T., 2011 Role of parathyroid hormone in bone fragility of postmenopausal women with vitamin D insufficiency. *Calcif. Tissue Int.* 88(5), pp. 362-369.

Yarbrough D.K., Hagerman E., Eckert R., He J., Choi H., Cao N., Le K., Hedger J., Qi F., Anderson M., Rutherford B., Wu B., Tetradis S., Shi W.. 2010 Specific binding and mineralization of calcified surfaces by small peptides. *Calcif. Tissue Int.* 86(1), pp. 58-66.

Yoder C.H., Pasteris J.D., Worcester K.N., Schermerhorn D.V., 2012Structural water in carbonated hydroxylapatite and fluorapatite: confirmation by solid state (2)H NMR. *Calcif. Tissue Int.* 90(1):60-67.

Zamorska L., Pawlikowski M., Nechay O., 2001 Preliminary results of investigation of

calcification in Human placenta. Abstract. Conf. Intern. Federation of Placenta Associations .  
9th Meeting in the European Placenta Group. Placenta. nr 22, A1, p. 8.