

go ostrzykiwano 2% roztworem lignocainy z noradrenaliną. Usuwno lewy dolny zęb sieczny. Następnie kanał zębodołu formowano wiertłem o kształcie walca i średnicy nieznacznie mniejszej niż średnica badanego wszczepu. W przygotowany kanał wciskano porowate wszczepy o kształcie walca. W przypadku wszczepu tytanowego po usunięciu zęba odsłaniano boczną część wyrostka zębodołowego i formowano kanał wiertłem z zestawu MARTIN o średnicy 0.9 mm. W tak przygotowany kanał wkręcano śrubę tytanową. Rany zaszywano szwami z dexonu. Grupie D1 wprowadzano wszczep wykonany ze stopu CoCrMo+TCP. Grupie D2 wszczepiano stop CoCrMo. Zwierzętom z grupy D3 wkręcano śrubę tytanową. Grupa K była grupą kontrolną, której usuwano zęb sieczny, a rany zaszywano.

Króliki podzielono na 7 grup po 8 zwierząt. W każdej grupie były 4 samce i 4 samice. U wszystkich wykonano obserwacje kliniczne przebiegu gojenia ran, a po ich zabiciu badania radiologiczne i histopatologiczne w 3, 7, 21 dobie oraz 6, 12, 24, 52 tygodniu doświadczenia. Wszystkim zwierzętom pobierano krew w 7 dobie oraz 6, 12, 24, 52 tygodniu doświadczenia.

Otrzymane wyniki pozwoliły na wysunięcie następujących wniosków:

1. Wszczepy wykonane z badanych stopów nie wpływają negatywnie na proces gojenia się rany pooperacyjnej. Przebieg gojenia był porównywalny we wszystkich grupach.
2. Gojenie tkanki kostnej w obrazie radiologicznym przebiegało najszybciej wokół wszczepu tytanowego.
3. Nie było zauważalnej różnicy w badaniu radiologicznym między wszzczepami CoCrMo i CoCrMo+TCP.
4. Gojenie kości przebiegało fizjologicznie, na podłożu tkanki łącznej, z następowym wytworzeniem tkanki kostnej.
5. Proces odbudowy tkanki kostnej i jej dojrzewanie pod postacią wapnienia wokół wszczepu przebiegał najszybciej w grupie CoCrMo + TCP, a następnie w CoCrMo i Ti6Al4V.
6. Obecność trójfosforanu wapnia przyspieszyła regenerację tkanki kostnej, lecz powłoka ta nie zapewnia stabilizacji obszaru kontaktu wszczepu z kością na skutek szybkiej resorpcji.

prepared with metallic bur of diameter 0.9 mm. The post-operative wound was sewed up with dextron stitches. In the first group D1 CoCrMo alloy coated with TCP were implanted. To the second D2, pure porous CoCrMo alloy. The first group had implanted titanium screw shape alloy. Control group K determined animals which undergo only tooth extraction. Animals were randomly divided into 7 groups. Clinical, radiological and histopathological examination was performed after 3 days, 7 days, 3, 6, 12, 24, 52 weeks. Blood cell count examination was performed after 7 days, 6, 12, 24, 52 weeks.

On the base of received examination results, following conclusions can be formed:

1. Metallic implants made of examined alloys do not restrain postoperative wound healing. In all groups healing processes were comparable.
2. Radiological examination showed that bone formation was formed earlier around titanium implant.
3. There were no significant differences in radiological findings between groups CoCrMo+TCP and CoCrMo.
4. Bone healing processes run physiologically, beginning from fibrous tissue leading to correct bone formations.
5. Bone formation and bone calcification could be observed earlier around CoCrMo alloys with TCP, and than around CoCrMo and Ti6Al4V alloy.
6. TCP coating lead to early bone regeneration but it doesn't provide interface stability, because of early coating resorption.

Piśmiennictwo

References

- [1] Andersson Bernt: Wszczepy w stomatologii- rys historyczny Implantoprotetyka, 2001, 1, 29
- [2] Dąbrowski J. R., Oksiuta Z.: Doprasowanie obwiedniowe i obróbka cieplna porowatych materiałów ze stopu Co-Cr-Mo. Inżynieria Biomateriałów, 2001, 17-19, 62-64
- [3] Han-CH; Johansson-CB; Wennerberg-A; Albrektsson-T Quantitative and qualitative investigations of surface enlarged titanium and titanium alloy implants, Clin-Oral-Implants-Res. 1998; 9(1): 1-10
- [4] Adwent M., Sabat D., Dąbrowski J.R., Cieślak T. Wczesna ocena gojenia się wszzczepów śródkostnych z prasowanej stali chromo-kobaltowo-molibdenowej i tytanu - badania doświadczalne, Inż. Biomat. 2001, 17, 18, 19; 37-39

WPŁYW ANTYBIOTYKÓW NA STRUKTURĘ TKANKI OSIERDZIA ŚWINI

ARTUR TUREK*, BEATA C WALINA*, LUCYNA PAWLUS-ŁACHEC-KA**, JERZY NOŻYŃSKI**

*KATEDRA BIOFIZYKI, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, SOSNOWIEC

**FUNDACJA ROZWOJU KARDIOCHIRURGII, ZABRZE

Streszczenie

Badano zmiany struktury tkanek osierdzia świni: natywnych i modyfikowanych za pomocą kwasu taninowego (TA), pod wpływem roztworu antybiotyków, stosowanego do przechowywania implantów tkankowych. Stwierdzono, że antybiotyki powodowały zwiększenie stabilności biochemicznej i strukturalnej tkanek osierdzia - zarówno natywnej, jak i modyfikowanej za pomocą TA. Wzrost stabilności biochemicznej

EFFECT OF ANTIBIOTICS ON STRUCTURE OF PORCINE PERICARDIUM TISSUE

ARTUR TUREK*, BEATA C WALINA*, LUCYNA PAWLUS-ŁACHEC-KA**, JERZY NOŻYŃSKI**

*DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,

MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, SOSNOWIEC

**FOUNDATION FOR DEVELOPMENT OF CARDIAC SURGERY, ZABRZE

Abstract

Investigated were changes in structure of porcine pericardium tissues: native and modified by means of tannic acid (TA), under the influence of antibiotics solution used for storage of tissue implants. It has been found that antibiotics caused increase in biochemical and structural stability of pericardium tis-

odzwierciedlał się w mniejszej ilości białek niskocząsteczkowych ekstrahowanych z tkanek poddanych działaniu antybiotyków. Wyniki te sugerują również, że antybiotyki mogą uczestniczyć w sieciowaniu tkanki osierdzia. Badania histologiczne wykazały stabilność struktury tkanek poddanych działaniu antybiotyków.

Słowa kluczowe: stabilizacja tkanek, sieciowanie, kwas tanninowy, antybiotyki, elektroforeza białek, histologia.

Wprowadzenie

Biomateriały wytworzone z tkanek kolagenowych i kolagenu znalazły szerokie zastosowanie w kardiochirurgii i chirurgii naczyń krwionośnych, a także w chirurgii plastycznej i ortopedycznej [3, 4, 6, 11-14]. Do produkcji bioimplantów używane są materiały zarówno ludzkie, jak i zwierzęce. W celu uzyskania odpowiednich właściwości biomateriałów prowadzi się stabilizację wykorzystywanych w nich tkanek i kolagenu. Efektem stabilizacji jest zachowanie i/lub modyfikacja struktury białek. Procesy modyfikacji powodujące zmiany struktury tkanek w wyniku tworzenia się w nich egzogennych wiązań sieciujących (wewnątrz i między cząsteczkami białek strukturalnych), a także zmiany stopnia hydratacji tkanek umożliwiają kontrolę właściwości biomateriałów [2, 7, 8, 10].

Modyfikacja prowadzi do zwiększenia biochemicznej i mechanicznej stabilności biomateriału. Wskazane jest, aby efekt ten był nieodwracalny. Postulat ten jest jednak trudny do spełnienia, gdyż wiele czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych może istotnie wpływać na strukturę biomateriału - i to zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* [1, 6, 7, 13].

Procesy stabilizacji biomateriałów tkankowych prowadzą do sieciowania zawartych w nich białek, głównie kolagenu, czyli wytworzenia w ich strukturze dodatkowych wiązań poprzecznych, wewnątrz- i międzycząsteczkowych [8]. Sieciowanie następuje pod wpływem różnych czynników fizycznych (temperatura, promieniowanie) oraz związków chemicznych. Najczęściej stosuje się w tym celu aldehyd glutarowy (glutaraldehyd, GA). Prowadzone są próby zastąpienia GA innymi substancjami sieciującymi, zwłaszcza pochodzenia naturalnego. Należy do nich kwas tanninowy (TA) [5]. Biomateriały modyfikowane naturalnymi substancjami sieciującymi na ogół wykazują strukturę bardziej zbliżoną do struktury tkanki natywnej, w porównaniu z biomateriałami utwalanymi za pomocą GA. Może to być korzystniejsze dla prawidłowego spełnienia przez implant określonych funkcji w organizmie biorcy. Trzeba jednak wziąć pod uwagę fakt, że mniejsza efektywność sieciowania tkanki może skutkować większą podatnością biomateriału na działanie różnych czynników fizycznych oraz chemicznych, w tym substancji wchodzących w skład roztworów do sterylizacji i przechowywania biomateriałów tkankowych.

Celem pracy była ocena wpływu roztworu antybiotyków, stosowanego do przechowywania implantów tkankowych, na strukturę tkanek osierdzia świni: natywnych i modyfikowanych za pomocą kwasu tanninowego (TA).

Materiały i metody

Badano tkanki osierdzia włóknistego świni, pobierane bezpośrednio po uboju zwierząt. Tkanki natychmiast płukano w schłodzonym (4°C) roztworze solanki buforowanej fosforanami (phosphate-buffered saline; PBS; pH 6,5), a następnie umieszczano w butelkach zawierających ten sam bufor. Butelki transportowano w pojemniku chłodzonym lodem. Z każdego worka osierdziowego oddzielano mechanicznie osierdzie włókniste, z którego usuwano ostrożnie

sues - both native and modified by means of TA. Growth in biochemical stability was reflected by smaller amounts of low-molecular proteins extracted from tissues treated with antibiotics. These results suggest also that antibiotics may participate in crosslinking of pericardium tissue. Histological investigations indicated stability of the tissues treated with antibiotics.

Key words: tissue stabilization, crosslinking, tannic acid, antibiotics, protein electrophoresis, histology.

Introduction

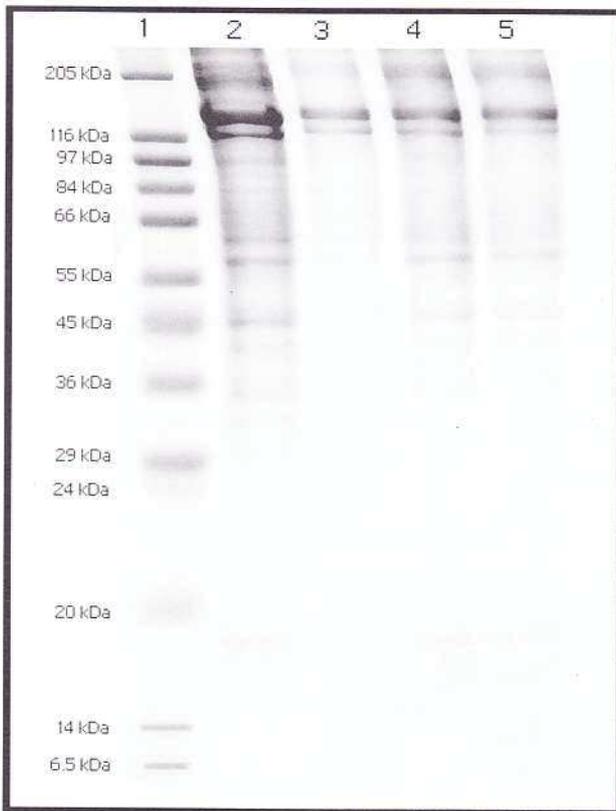
Biomaterials made of collagen tissues are widely applicable in cardiovascular surgery as well as in plastic and orthopedic surgery [3, 4, 6, 11-14]. For bioimplants production, both human and animal materials are used. Stabilization of tissues and collagen utilized for this purpose is carried out to obtain required properties of biomaterials. The result of stabilization is preservation and/or modification of proteins structure. Stabilization processes that cause changes in tissular structure as an effect of exogenic cross-links formation in it (within or between molecules of structural proteins) as well as changes in degree of tissues hydration afford possibility for control of biomaterials properties [2, 7, 8, 10]. Modification leads to increase the biomaterial's biochemical and mechanical stability. It is preferable that this effect should be irreversible. However, this requirement is difficult to compliance because of many physical, chemical and biological factors that may considerably influence the biomaterials structure - under conditions both *in vivo* and *in vitro* [1, 6, 7, 13].

Stabilization processes of tissue biomaterials lead to crosslinking of proteins contained in them, mainly of collagen. In their structure are formed additional cross-links, intra- and intermolecular [8]. Crosslinking takes place under influence of various physical factors (temperature, radiation) as well as chemical compounds. Glutaraldehyde (GA) is used most often for this purpose. Experiments are carried out to substitute GA by other crosslinking compounds, especially of natural origin. Tannic acid (TA) belongs to such substances [5]. Tissular biomaterials modified with natural crosslinking agents indicate structure in general more approximate native tissue, as compared with biomaterials fixed by means of GA. It may be more advantageous for correct compliance with precise function of implant in recipient organism. The fact may be taken into account that consequence of slighter efficiency of tissue crosslinking may be higher biomaterial susceptibility to various physical and chemical factors, including substances entering into the composition of solutions used for sterilization and storage tissular biomaterials.

The aim of this work was to evaluate effect of antibiotics solution used for storage the tissue implants on structure of porcine pericardium tissues: native and modified by means of tannic acid (TA).

Materials and methods

Investigated were fibrous porcine pericardium tissues sampled directly after slaughtering of animals. Tissues were immediately rinsed in cooled (4°C) solution of phosphate-buffered saline (PBS; pH 6,5) and then placed in bottles containing this same buffer. The bottles were transported in ice-cooled container. The fibrous pericardium was mechanically separated from each pericardial sac and the fatty tissue was carefully removed. The cleaned pericardium-tissue pieces were cross linked using 2% TA for 4 h. Then tissues were rinsed in the PBS-solution and incubated for



RYS.1. Rozdział elektroforetyczny białek ulegających ekstrakcji z tkanek osierdzia świni; ścieżki: 1-wzorec mas cząsteczkowych; 2-tkanka natywna (N); 3 - tkanka natywna poddana działaniu antybiotyków (N-A); 4-tkanka modyfikowana kwasem taninowym w czasie 4 h (TA); 5-tkanka modyfikowana TA w czasie 4 h, poddana działaniu antybiotyków (TA-A).

FIG.1. Electrophoretic profiles of proteins extracted from porcine pericardium tissues lines: 1-standard of molecular weights; 2-native tissue (N); 3-native tissue treated with antibiotics (N-A); 4-tissue modified with tannic acid for 4h (TA); 5-tissue modified by means of TA for 4h, treated with antibiotics (TA-A).

tkankę tłuszczową.

Oczyszczone kawałki tkanki osierdzia modyfikowano z użyciem 2% roztworu TA w czasie 4 h. Następnie tkanki płukano w roztworze PBS i inkubowano w roztworze antybiotyków (Ciprobay 20 mg, Biotaksym 240 mg, Vankomycin 50 mg, Lincocin 120 mg i Diflucan 40 mg / 1000 ml roztworu Ringera) w temp. 4°C w czasie 24 h.

Tkanka Tissue	Masy cząsteczkowe białek uwolnionych z tkanek osierdzia Molecular weight of proteins extracted from pericardium tissues [kDa]													
N	197	138	116	97	83	75	69	62	60	45	41	35	32	19
NA	205	140	120	98			69	64	61					18
TA	199	137	115	96	83		68	63	61	45				19
TAA	195	136	114	96	87		69		61	45	40			17

TABELA 1. Masy cząsteczkowe białek uwolnionych z tkanek osierdzia: natywnej (N); natywnej poddanej działaniu antybiotyków (N-A); modyfikowanej za pomocą TA w czasie 4 h (TA); modyfikowanej za pomocą TA w czasie 4 h, poddanej działaniu antybiotyków (TA-A).

TABLE 1. Molecular weight of proteins extracted from pericardium tissues: native (N); native treated with antibiotics (N-A); modified by means of TA for 4 h (TA); modified by means of TA for 4 h, treated with antibiotics (TA-A).

4 h in solution with antibiotics (Ciprobay 20 mg, Biotaksym 240 mg, Vankomycin 50 mg, Lincocin 120 mg and Diflucan 40 mg / 1000 ml Ringer's solution), at temperature 4°C.

Changes occurring in structure of the native and modified tissues under antibiotics influence have been evaluated based on proteins' extraction assay (the molecular weight of proteins released from the tissues have been determined) and histological investigations. Isolations of the proteins and electrophoretic analyses have been carried out using the Laemmli procedure [9]. The proteins have been separated using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) in the presence of dodecyl sulphate (SDS), commonly known as SDS-PAGE method. Proteins within gel have been stained with coomassie blue. The gel-documentation has been performed using Biotec Fischer System.

Histological investigations have been carried out in Foundation for Development of Cardiac Surgery in Zabrze. The tissue samples were stained with Harris hematoxylin, using ground-tinting with 1% erythrosine solution. Observation of preparations has been carried out in light-microscope Polyvar 2 (Leica) under magnification 200'. The preparations-documentation has been performed using Quantimet 500 Plus system.

Results

Electrophoretic profiles of proteins extracted from native and TA-modified tissues, treated and untreated with antibiotics, have been presented in FIG.1. Data concerning molecular weights of proteins released from investigated tissues have been summarized in TABLE 1. In FIGS. 2-5, there are presented histological images of tissues: native (FIG.2), native treated with antibiotics solution (FIG. 3), modified by means of tannic acid (TA) for 4 h (FIG.4) and

	Opis preparatu tkankowego Description of tissue preparation
Rys.2 / Fig.2 Tkanka N / Tissue N	Lekko rozluźniona struktura tkanki. Dyskretny obrzęk. Obecne jądra fibroblastów. Slightly loose structure of tissue. Discrete swelling. Present nuclei of fibroblasts.
Rys.3 / Fig.3 Tkanka N-A / Tissue N-A	Zwarta struktura tkanki. Dyskretny obrzęk. Obecne jądra fibroblastów. Tight structure of tissue. Discrete swelling. Present nuclei of fibroblasts.
Rys. 4; Fig. 4 Tkanka TA / Tissue TA	Zwarta struktura tkanki, dobrze zachowana. Nieznaczny obrzęk. Obecne jądra fibroblastów. Tight structure of tissue, well preserved. Inconsiderable swelling. Present nuclei of fibroblasts.
Rys.5 / Fig.5 Tkanka TA-A/Tissue TA-A	Zwarta struktura tkanki, dobrze zachowana. Nieznaczny obrzęk. Obecne jądra fibroblastów. Tight structure of tissue, well preserved. Inconsiderable swelling. Present nuclei of fibroblasts.

TABELA 2. Wpływ antybiotyków na strukturę tkanek osierdzia.

TABLE 2. Effect of antibiotics on structure of pericardium.

tissue after TA-modification for 4h, treated with antibiotics (FIG.5). Description of the investigated tissues structure has been presented in TABLE 2.

Summary

Biochemical, structural as well as mechanical stability of native and modified tissues used as bioimplants is an essential condition of success in bioprosthesis. Various physical, chemical and biochemical factors may influence



RYS.2. Tkanka natywna (N).
FIG.2. Native tissue (N).

RYS.3. Tkanka natywna poddana działaniu antybiotyków (N-A).
FIG.3. Native tissue treated with antibiotics (N-A).

RYS.4. Tkanka modyfikowana kwasem tanninowym w czasie 4 h (TA).
FIG.4. Tissue modified with tannic acid for 4h (TA).

RYS.5. Tkanka modyfikowana TA, 4 h, poddana działaniu antybiotyków (TA-A).
FIG.5. Tissue modified with TA, 4h, treated with antibiotics (TA-A).

Zmiany zachodzące pod wpływem antybiotyków w strukturze tkanek natywnych i modyfikowanych oceniano na podstawie badania ekstrakcji białek (oznaczano masy cząsteczkowe białek uwalnianych z tkanek) oraz badań histologicznych. Izolowanie białek i analizy elektroforetyczne prowadzono z zastosowaniem procedury Laemmli [9]. Do rozdzielenia białek wykorzystano elektroforezę w żelu poliakrylamidowym (polyacrylamide gel electrophoresis; PAGE) w obecności dodecyl-siarczanu sodowego (sodium dodecyl sulphate; SDS), powszechnie znanej jako metoda SDS-PAGE. Białka wewnątrz żelu wybarwiano kumazyną. Dokumentację żeli wykonywano z zastosowaniem systemu Biotec Fischer.

Badania histologiczne prowadzono w Fundacji Rozwoju Kardiologii w Zabrze. Próbki tkanek barwiono hematoxyliną Harrisa, z podbarwieniem tła 1% roztworem erytrozyny. Obserwację preparatów prowadzono w mikroskopie świetlnym Polyvar 2 (Leica) przy powiększeniu 200 \times . Dokumentację preparatów wykonano z zastosowaniem systemu Quantimet 500 Plus.

Wyniki

Na RYS.1 przedstawiono profile elektroforetyczne białek ulegających ekstrakcji z tkanek natywnych i modyfikowanych za pomocą taniny (TA), nie poddanych i poddanych działaniu antybiotyków. W TABELI 1 zestawiono dane dotyczące mas cząsteczkowych białek uwolnionych z badanych tkanek. Na RYS. 2-5 przedstawiono obrazy histologiczne tkanek: natywnej (RYS.2), natywnej poddanej działaniu roztworu zawierającego antybiotyki (RYS.3), modyfikowanej za pomocą kwasu tanninowego (TA) w czasie 4 h (RYS.4) oraz tkanki po modyfikacji TA w czasie 4 h, poddanej działaniu antybiotyków (RYS.5). Wyniki obserwacji badanych materiałów zamieszczono w TABELI 2.

Podsumowanie

Stabilność biochemiczna, strukturalna i mechaniczna natywnych i modyfikowanych tkanek wykorzystywanych jako bioimplanty jest podstawowym warunkiem sukcesu w bioprotetyce. Różne czynniki fizyczne, chemiczne i biochemiczne mogą wpływać na tę stabilność - i to zarówno pozytywnie, jak i negatywnie. Z tego względu istotna jest znajomość podatności biomateriałów tkankowych na działanie jak największej ilości czynników, które potencjalnie mogą oddziaływać na tkankę in vitro lub in vivo. W niniejszej pracy badano zmiany struktury tkanek osierdzia świni: natywnych i modyfikowanych za pomocą kwasu tanninowego (TA), pod wpływem roztworu antybiotyków, stosowanego do przechowywania implantów tkankowych.

this stability - both advantageously and not. For this reason, important is knowledge of tissular biomaterials susceptibility to action the highest possible factors that may influence tissue in vitro and in vivo. In present work, changes in structure of porcine pericardium tissues: native and modified by means of tannic acid (TA), have been investigated under action of the antibiotics solution used for the tissular implants storage.

Based on obtained results (FIGS. 1-5, TABS. 1-2), it has been found that the antibiotics solution caused increase in the biochemical and structural stability of porcine pericardium tissues - both native and modified with tannin. Growth of biochemical stability was reflected by smaller amount of low-molecular proteins extracted from tissues treated with antibiotics (FIG. 1, TAB. 1). These results suggest also possibility of the antibiotics participation in crosslinking of the pericardium tissue. However, this suggestion requires confirmation.

Histological investigations indicated structural stability of tissues treated with antibiotics (FIGS. 2-5, TAB.2). Further investigations should elucidate questions: to what degree the observed effects are durable and if tissular biomaterials stored in solutions with antibiotics must be strongly cross-linked?

Acknowledgements

This work was financially supported by Medical University of Silesia.

Piśmiennictwo

References

- [1] Carpentier A., Lemaigre G., Robert L., Carpenrier S., Dubost C. (1969) Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 58: 467-483.
- [2] Cwalina B., Turek A., Sliupkas-Dyrda E., Nawrat Z. (2001) Effect of tissue stabilization on electrophoretic profiles of proteins extracted from porcine pericardium. *Engineering of Biomaterials (Inżynieria Biomateriałów)*, 17-19: 89-91.
- [3] Grocott-Manson R.M., Lund O., Elwidaa H., Mazhar R., Chandrasakeran V., Mitchell A.G., Ilsej C., Khaghani A., Rees A., Yacoub M. (2000) Long-term results after aortic valve replacement in patients with congestive heart failure. *Eur. Heart. J.* 21: 1698-1707.
- [4] Grogan D.P., Kalen V., Ross T.I., Guidera K.J., Pugh L.I. (1999) Use of allograft bone for posterior spinal fusion in idiopathic scoliosis. *Clin. Orthop.* 369: 273-278.
- [5] Heijmen F.H., du Pont J.S., Middelkoop E., Kreis R.W., Hoekstra M.J. (1997) Cross-linking of dermal sheep collagen with tannic acid. *Biomaterials*. 18: 749-54.
- [6] Ionescu M.I., Smith D.R., Hasan S.S., Chidambaram M., Tandon A.P. (1982) Clinical durability of the pericardial xenograft valve: Ten years' experiments with mitral replacement. *Ann. Thorac. Surg.* 34: 265-277.

Na podstawie uzyskanych wyników (RYS.1-5, TAB.1-2) stwierdzono, że roztwór antybiotyków powodował zwiększenie stabilności biochemicznej i strukturalnej tkanek osierdzia świni - zarówno natywnej, jak i modyfikowanej za pomocą taniny. Wzrost stabilności biochemicznej odzwierciedlał się w mniejszej ilości białek niskocząsteczkowych ekstrahowanych z tkanek poddanych działaniu antybiotyków (RYS.1, TAB.1). Wyniki te sugerują również możliwość udziału antybiotyków w sieciowaniu tkanki osierdzia. Sugestia ta wymaga jednak potwierdzenia. Badania histologiczne wykazały stabilność struktury tkanek poddanych działaniu antybiotyków (RYS.2-5, TAB.2). Dalsze badania powinny wyjaśnić kwestie, w jakim stopniu obserwowane efekty są trwałe i czy biomateriały tkankowe przechowywane w roztworach zawierających antybiotyki muszą być silnie usieciowane.

Podziękowania

Praca finansowana przez Śląską Akademię Medyczną.

- [7] Jorge-Herrero E., Fernández P., Turnay J., Olmo N., Calero P., García R., Freile I., Castillo-Olivares J.L. (1999) Influence of different chemical cross-linking treatments on the properties of bovine pericardium and collagen. *Biomaterials*. 20: 539-545.
- [8] Khor E. (1997) Methods of the treatment of collagenous tissue for bioprotheses. *Biomaterials*. 18: 95-105.
- [9] Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 209-214.
- [10] Nawrat Z., Kostka P., Małota Z., Cwalina B., Religa Z. (2001) Biologiczne zastawki serca - doświadczenia własne w modyfikacji materiału odzwierzęcego. XII Krajowa Konf. Naukowa "Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna", T. 1, Wyd. IBIB PAN, Warszawa, 479-483.
- [11] Schmidt C.E., Baier J.M. (2000) Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials*. 21: 2215-2231.
- [12] Sclafani A.P., Romo III T., Jacono A.A., McCormick S., Cocker R., Parker A. (2000) Evaluation of acellular dermal graft in sheet (AlloDerm) and injectable (Micronized AlloDerm) forms for soft tissue augmentation. *Arch. Facial Plast. Surg.* 2: 130-136.
- [13] van Wachem P.B., Brouwer L.A., Zeeman R., Dijkstra P.J., Feijen J., Hendriks M., Cahalan P.T., van Luyn M.J.A. (2000) In vivo behaviour of epoxy-crosslinked porcine heart valve cusps and walls. *J. Biomed. Mater. Res.* 53: 18-27.
- [14] Yang E.K., Young K.S., Seo Y.K., Youn H.H., Lee D.H., Park S.N., Park J.K. (2000) Tissue engineered artificial skin composed of dermis and epidermis. *Artif. Organs*. 24: 7-17.

EFEKTY SIECOWANIA OSIERDZIA ŚWINI BADANE ZA POMOCĄ SPEKTROSKOPII EPR - METODY ZNAKOWANIA SPINOWEGO

BEATA C WALINA, LECHOSŁAW DUL
KATEDRA BIOFIZYKI,
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, SOSNOWIEC

Streszczenie

Celem pracy była ocena udziału ϵ -aminowych grup lizyny w elastynie, jak również ϵ -aminowych grup lizyny i hydroksylizyny w kolagenie w modyfikacji tkanki osierdziowej za pomocą glutaraldehydu (GA). Materiałami badanymi były: nierozpuszczalny kolagen typu I, elastyna i osierdzie włókniste świni, zarówno natywne i usieciowane glutaraldehydem. Do badania efektu sieciowania wykorzystano spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) - metodę znakowania spinowego (znacznik spinowy: izotiocyaniano-Tempo; ITCTO). Można stwierdzić, że w procesie sieciowania tkanki kolagenowej przez GA uczestniczą grupy ϵ -aminowe zarówno lizyny i hydroksylizyny. W czystym kolagenie GA reaguje głównie z grupami ϵ -aminowymi hydroksylizyny.

Słowa kluczowe: kolagen, elastyna, tkanka osierdzia, sieciowanie, glutaraldehyd, EPR, znakowanie spinowe.

PORCINE PERICARDIUM CROSSLINKING-EFFECTS INVESTIGATED BY EPR SPECTROSCOPY - SPIN LABELING METHOD

BEATA C WALINA, LECHOSŁAW DUL
DEPARTMENT OF BIOPHYSICS,
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, SOSNOWIEC

Abstract

The aim of this work was to elucidate contribution of the ϵ -amino groups of lysine in elastin as well as of the ϵ -amino groups of lysine and hydroxylysine in collagen to the pericardial tissue modification by means of glutaraldehyde (GA). The investigated materials were: insoluble collagen type I, elastin and porcine fibrous pericardium, both native and crosslinked with glutaraldehyde. The electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy - method of spin labeling (spin label: isothiocyanato-Tempo; ITCTO) - has been used for study of the crosslinking-effects. It may be stated that in the process of collagenous tissue crosslinking by GA participate ϵ -amino groups of both lysine and hydroxylysine. In pure collagen, GA reacts mainly with ϵ -amino groups of hydroxylysine.

Key words: collagen, elastin, pericardium tissue, crosslinking, glutaraldehyde, EPR, spin labeling