

wej, w odróżnieniu od pozostałych materiałów bazujących na żywicach akrylowych. Zmiana żywicy skutkuje jednak znacznie słabszym wiązaniem adhezyjnym o wartości 6,02MPa.

## Wnioski

Zastosowanie systemu wiążącego zwiększa istotnie siłę wiązań adhezyjnych pomiędzy zębina a wypełnieniem kompozytowym. Połączenie ma charakter adhezyjny, a pękanie następowało na granicy rozdziału zębina – system wiążący. Najwyższą wytrzymałością połączenia cechował się materiał Grandio, co wynikać może ze struktury materiału (nanohybrydowy) oraz jego koherencji z systemem wiążącym i tkankami zęba.

## Podziękowania

*Prezentowana praca była finansowana z projektu badawczego na lata 2008-2011*

shrinkage is a material based on silane resin as opposed to the other materials with acrylic resin. The change of resin system reduced the shear bond strength (6,02 MPa).

## Conclusions

The application of adhesive system significantly improves the bond strength between dentine and composite filling. The failure in all systems was adhesive, observed at the interface between dentine and adhesive system. The highest shear bond strength showed Grandio, which may be due to its structure (nanohybrid) and coherence between bond system and tooth tissues.

## Acknowledgements

*Presented work was financed from the scientific funds in the years 2008-2011 as a research project.*

## Piśmiennictwo

- [1]. Van Meerbeek B., Perdigao J., Lambrechts P., Vanherle G.: The clinical performance of adhesives. J.Dent, 26 (1998) 1-20
- [2]. Mjör I.A., Gordan V.V.: Failure, repair, refurbishing and longevity of restorations. Oper. Dent. 27 (2002) 528-534
- [3]. De Munck J., Van Landuyt K., Peumans M., Poitevin A., Lambrechts P., Braem M., Van Meerbeek B.: A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results. J. Dent. Res. 84(2) (2005) 118-132.

## References

- [4]. Van Dijken J.W.: Clinical evaluation of three adhesive systems in class V non-carious lesions. Dental Materials 16 (2000) 285-291.
- [5]. Koibuchi H., Yasuda N., Nakabayashi N.: Bonding to dentin with a self-etching primer: the effect of smear layers. Dental Materials 17 (2001) 122-126.
- [6]. Dickens S., Milos MF. Relationship of dentin shear bond strengths to different laboratory test designs. Am. J. Dent. 15(3) (2002) 185-92.

## BADANIA ODDZIAŁYWANIA KOMPOZYTU WĘGLOWO- KRZEMOWEGO NA ELEMENTY MORFOTYCZNE KRWI

MARIA SZYMONOWICZ<sup>1\*</sup>, STANISŁAW PIELKA<sup>1</sup>, DANUTA PALUCH<sup>1</sup>,  
BOGUSŁAWA ŻYWICKA<sup>1</sup>, EWA KARUGA<sup>1</sup>, DOROTA OBLĄKOWSKA<sup>2</sup>,  
STANISŁAW BŁĄŻEWICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIAŁÓW, AKADEMIA MEDYCZNA,  
UL. PONIATOWSKIEGO 2; 50-326 WROCŁAW, POLSKA

<sup>2</sup>KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA

\*MAILTO: BIOCHEM@CHEKSP.AM.WROC.PL

*[Inżynieria Biomateriałów, 89-91, (2009), 131-135]*

## Wprowadzenie

Wszczępy biomateriałów nie powinny wpływać, lub tylko w niewielkim stopniu niekorzystnie oddziaływać na komórki tkanek, z którymi mają kontakt. Ma to szczególne znaczenie w kontakcie z krwią, której komórki szczególnie reagują na wszelkie niekorzystne czynniki, a ich zaburzenia mogą wywoływać także ogólnoustrojowe skutki. Również produkty biodegradacji materiału, same lub w kompleksach białkowych, mogą w różnych okresach po implantacji wywoływać wczesne reakcje miejscowe lub odległe. Stopień biouzgodności, stabilność materiału w płynach ustrojowych i

## STUDIES OF COMPOSITE CARBON/SILICON REACTION ON CELLULAR MORPHOTIC ELEMENTS OF BLOOD

MARIA SZYMONOWICZ<sup>1</sup>, STANISŁAW PIELKA<sup>1</sup>, DANUTA PALUCH<sup>1</sup>,  
BOGUSŁAWA ŻYWICKA<sup>1</sup>, EWA KARUGA<sup>1</sup>, DOROTA OBLĄKOWSKA<sup>2</sup>,  
STANISŁAW BŁĄŻEWICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS  
RESEARCH, MEDICAL UNIVERSITY

2 PONIATOWSKIEGO STR, 50-326 WROCŁAW, POLAND

<sup>2</sup>DEPARTMENT OF BIOMATERIALS

FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
AGH-UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
30 MICKIEWICZA AVE., 30-059 CRACOW, POLAND

\*MAILTO: BIOCHEM@CHEKSP.AM.WROC.PL

*[Engineering of Biomaterials, 89-91, (2009), 131-135]*

## Introduction

Biomaterial implants should not influence, or only to a small extend unfavourably influence the cells of tissues they have contact with. It has a particular significance in contact with the blood whose cells particularly lively react to all unfavourable factors, and their disturbances can also cause systemic effects. Also the products of material biodegradation, alone or in protein complexes, can in various periods after implantation cause local or remote reactions. The biocompatibility degree, stability of material in systemic

bezpośrednie oddziaływanie na składniki morfotyczne krwi związane są zarówno ze strukturą jak i chemiczną, i fizycznym stanem powierzchni wszczepu. Węgiel jako biomateriał, mający wiele korzystnych cech biologicznych, fizycznych i chemicznych stanowi potencjalnie wartościowy materiał wyjściowy do szerokiego zastosowania w leczeniu.

Celem pracy była ocena wpływu kompozytu węglowo-krzemowego na składniki morfotyczne krwi.

## Material

Do badań użyto kompozytu typu węgiel/krzem (C/Si). Materiał węglowy został wytworzony z kompozytu węgiel/węgiel modyfikowanego polimerem polisiloksanowym.

## Metody

### Badania laboratoryjne

#### Przygotowanie wyciągu wodnego

Z kompozytu C/Si sporządzono wyciągi wodne z zachowaniem proporcji 4g (1,0x4,0 cm) materiału na 30ml wody do iniekcji oraz warunków ekstrakcji 37°C przez 72 godz. Roztwór kontrolny stanowiła woda do iniekcji użyta do sporządzenia wyciągów i inkubowana w tych samych warunkach co badane próby [1,2]. Oznaczono pH [3] i przewodność elektryczną właściwą [4].

#### Badania biologiczne in vitro

Badania wykonano na krwi ludzkiej AB Rh+ pobranej na płyn konserwujący CPD (citrate-phosphate-dextrose, USP). Do badań użyto pełnej krwi, zagęszczonych erytrocytów oraz 10% zawiesiny erytrocytów.

#### Badanie działania hemolitycznego metodą bezpośredniego kontaktu

Na próbkę materiału (1,0x1,0cm) umieszczonej w próbówce naniesiono 0,2ml krwi i inkubowano przez 15min w temp. 37°C. Następnie dodano 4 ml 0,9% NaCl i inkubowano przez kolejne 60 min. w temp. 37°C. W płynie, znad osadu komórek zmierzono absorbancję i obliczono odsetek hemolizy, którego wartość nie powinna przekroczyć 1% [5]. Osad krwinek poddano ocenie mikroskopowej.

#### Badanie działania hemolitycznego metodą pośredniego kontaktu

##### Badanie działania hemolitycznego wyciągu wodnego

Wyciąg wodny z materiału oraz wodę do iniekcji (kontrola) w ilości 5ml w doprowadzono do izotoniczności stałym chlorkiem sodu. Dodano 0,25ml 10% zawiesiny krwinek czerwonych i inkubowano przez 24 godz. w temp. 37°C. Następnie w płynie znad osadu krwinek czerwonych oznaczono absorbancję i obliczono odsetek hemolizy, którego wartość nie powinna przekroczyć 1% [6]. Osad erytrocytów oceniono mikroskopowo.

##### Badanie działania hemolitycznego wyciągu w soli fizjologicznej

Izotoniczny roztwór chlorku sodu z materiałem (5 ml/0,6 g) oraz bez materiału (kontrola) inkubowano przez 24 godz. w temp. 37°C. Następnie dodano 0,02ml zagęszczonych krwinek czerwonych i ponownie inkubowano w temp. 37°C przez 4 godz. W płynie znad osadu erytrocytów zmierzono absorbancję i obliczono odsetek hemolizy, którego wartość nie powinna przekroczyć 3% [7, 8, 9]. Osad krwinek poddano ocenie mikroskopowej.

#### Badania hematologiczne

Krew pełną ludzką z materiałem (6 ml/0,6 g) oraz bez materiału (kontrola) inkubowano przez 4 godz. i 24 godz.

fluids and the direct reaction on blood elements is connected both with its chemical structure as well as the physical condition of the implant surface.

Carbon as biomaterial, having many favourable biological and physical features, constitutes potentially valuable initial material for a wide use in the health care.

The aim of the work was evaluation of the influence of carbon-silicon composite on morphotic elements of blood.

## Material

To the study the carbon-silicon composite (C/Si) was used. Carbon material was prepared of composite carbon/carbon modified with polysiloxane polimer

## Methods

### Laboratory tests

#### Aqueous extract preparation

Aqueous extracts were prepared from composite C/Si with maintenance of proportion 4g (1,0 x 4,0cm) of material for 30ml of water for injection and extraction conditions 37°C over 72h. Aqueous for injections used for extracts preparation and incubated in the same conditions as the tested samples constituted the control solution [1, 2]. Ph [3] and electrical conductivity were determined [4].

#### Biological studies in vitro

The tests were performed on human blood AB Rh+ taken for preserving fluid CPD (citrate-phosphate-dextrose, USP). Full blood, condensed erythrocytes and 10% suspension of erythrocytes were used for the tests.

#### Study of the haemolytic action with the method of direct contact

0,2 ml of blood was deposited on a material sample (1.0x1.0 cm) placed in a test-tube and incubated over 15min at temp. 37°C. Next, 4 ml 0,9% NaCl was added and incubated over the next 60min. at temp. 37°C. In the fluid above the cells sediment, absorbance was measured and haemolysis percentage was counted, whose value should not exceed 1% [5]. The blood cells sediment was subjected to microscopic evaluation. with sodium chloride.

#### Study of the haemolytic action with the method of indirect contact

##### Tests of haemolytic action of aqueous extract

Aqueous extract from the material and water for injection (control) in the amount of 5 ml was brought to isotonic state with constant sodium chloride. 0,2 ml 10% erythrocytes suspension was added and incubated over 24h at temp. 37°C. Next, in the fluid above the erythrocytes sediment, the absorbance was determined and haemolysis percentage was counted, whose value should not exceed 1% [6]. The erythrocytes sediment was evaluated microscopically.

##### Tests of haemolytic action of extract in physiological saline

Isotonic solution of sodium chloride with material (5 ml/0,6 g) and without material (control) was incubated over 24h at temp. 37°C. Next, 0,02ml condensed erythrocytes were added and incubated again at temp. 37°C over 4h. In the fluid above the erythrocytes sediment, the absorbance was measured and hemolysis percentage was counted, whose value cannot exceed 3% [7,8,9]. The cells sediment was subjected to microscopic evaluation.

#### Haematological tests

Human full blood with material (6 ml/0,6 g) and without material (control) was incubated over 4h and 24h at temp. 37°C. After removing the material samples, the blood was

w temp. 37°C. Po wyjęciu próbek materiału krew pobrano do badań hematologicznych, oznaczenia pH i hemoglobiny pozakrwinkowej.

W pełnej krwi oznaczono wartość hematokrytu (Ht), stężenie hemoglobiny (Hb), liczbę krwinek czerwonych (RBC) oraz wskaźniki czerwonekrwinkowe: średnią objętość krwinki czerwonej (MCV), średnią masę hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH), średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych (MCHC) i rozkład krwinek czerwonych (RDW). Określono liczbę krwinek białych (WBC) z uwzględnieniem leukogramu: odsetka granulocytów (GRA), limfocytów (LYM) i monocytów (MON). Oznaczono liczbę krwinek płytkowych (PLT), średnią objętość płytek (MPV) i hematokryt płytkowy (PCT). Badania wykonano na aparacie hematologicznym Cobas Micros firmy La Roche. Stężenie jonów wodorowych (pH) we krwi oznaczono na aparacie Chiron Diagnostics 248 firmy Bayer. Stężenie hemoglobiny pozakrwinkowej w osoczu oznaczono metodą cyjanomethe-moglobininową [10].

### Analiza statystyczna

Wyniki badań poddano analizie statystycznej z zastosowaniem programu Statistica 6.02. Obliczono średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Istotne różnice w średnich wartościach parametrów określono testem T dla prób niezależnych. Przyjęto, że współczynniki korelacji są istotne przy  $p < 0,05$ .

## Wyniki

Średnie wartości pH i przewodności elektrycznej właściwej wyciągów wodnych podano w TABELI 1. Wyciągi wodne z kompozytu C/Si sączone z powodu obecności w nich drobnych cząstek materiału (pyłu węglowego). Po czasowym kontakcie z materiałem węglowym z stwierdzono zmniejszoną objętość płynu ekstrakcyjnego. Świadczy to o chłonności wody przez materiał. Średnia wartości pH w wyciągu wodnego była zmniejszona w porównaniu do pH kontroli. Przewodność elektryczna właściwa dla wyciągu była zwiększona.

W badaniach działania hemolitycznego kompozytu węglowego C/Si z użyciem krwi pełnej, mającej bezpośredni kontakt z powierzchnią materiału, średnia wartość odsetka hemolizy nie przekroczyła wartości dopuszczalnej przez normę, czyli 1%. W obrazie mikroskopowym krwinki czerwone miały kształt echinocyta. W badaniach wpływu wyciągu z materiału na krwinki czerwone, wartość odsetka hemolizy przekroczyła wartość objętą normą (1%). W obrazie mikroskopowym krwinki miały postać echinocyta i tworzyły agregaty. W badaniach działania hemolitycznego z użyciem zagęszczonych krwinek czerwonych, mających kontakt zarówno z ocenianym materiałem, jak i z wyciągiem z niego w soli fizjologicznej, stwierdzone wartości odsetka hemolizy

Material	pH	pH	Przewodność elektryczna właściwa Electrical conductivity [uS/cm]	Ilość wchłoniętego płynu Amount of absorber fluid [ml]
Kompozyt C/Si				
Composite C/Si	6,04	0,76	40,33 ± 1,53	2,5
Kontrola				
Control	6,80	—	1,6 ± 0,33	—

**TABELA 1. Badania laboratoryjne wyciągu wodnego z kompozytu C/Si.**

**TABLE 1. Laboratory tests water extract from the composite C/Si.**

taken for hematological tests, determinations pH and plas-matic hemoglobin.

In the whole blood were designated: the value of hematocrit (Ht), hemoglobin concentration (Hb), red cells count (RBC) and red cells indexes: mean red cell volume (MCV), mean hemoglobin mass in red cell (MCH), mean hemoglobin concentration in red cells (MCHC) and red cell distribution width (RDW). White cells count (WBC) was determined including granulocyte (GRA) lymphocyte (LYM) and monocyte (MON) percentage. Platelets count (PLT), mean platelet volume (MPV) and platelet hematocrit (PCT) were also marked. Blood parameters studies were made on a hematologic apparatus Cobas Micros produced by La Roche. The pH value of blood was marked on an apparatus for Chiron Diagnostics 248 produced by Bayer. Extracellular hemoglobin concentration was marked in plasma with cyanomethemoglobin method [10].

### Statistical analysis

The studies results were subjected to statistical analysis with program Statistica 6.02. Arithmetical mean and standard deviation were counted. Statistical essentiality of evaluated parameters was estimated with test T for independent samples. It was assumed that correlation coefficients were essential at  $p < 0,05$ .

## Results

The mean values pH and electrical conductivity of water extracts are presented in TABLE 1. Water extracts from composite C/Si were filtered because of the presence of small particles of material (coal dust) in them. A decreased volume of extraction fluid was observed after temporal contact with carbon material. It proves water absorptiveness by the material. The mean value pH in the water extract was decreased in comparison to pH of the control. The electrical conductivity for the extract was increased.

In the tests of haemolytic action of carbon composite C/Si with use of full blood having direct contact with the material surface, the mean value of haemolysis percentage did not exceed the values accepted by the standard, that is 1%. In the microscopic picture erythrocytes had the shape of echinocyte. In the tests of the influence of extract from the material, the haemolysis percentage value exceeded the value included in the standard (1%). In the microscopic picture the cells had the form of echinocyte and created aggregates. In the tests of haemolytic action with use of condensed erythrocytes, having contact both with the evaluated material and with the extract from it in physiological saline, the observed values haemolysis percentage exceeded largely the accepted value, that is 3% (TABLE 2). In the fluid over the erythrocytes sediment after contact with the

Material	Działanie hemolityczne Hemolytic action		
	material/material pełna krew/full blood H, %	wyciąg/extract 10% erythrocytes /erythrocytes H, %	material/material wyciąg/extract erythrocytes erythrocytes H, %
Kompozyt C/Si			
Composite C/Si	0,85 ± 0,02	1,06 ± 0,09	58,43 ± 3,61

**TABELA 2. Wartości odsetka hemolizy dla kompozytu węglowego C/Si.**

**TABLE 2. Hemolysis percentage values of the composite C/Si.**



Material Material	Czas Time [h]	RBC [10 <sup>12</sup> /l]	Hb [g/l]	Ht [l/l]
Kompozyt C/Si	4	4,25±0,10*	12,50±0,24	37,23±1,48
Composite C/Si	24	3,73±0,13***	9,82±0,37***	32,30±1,45***
Kontrola Control	4	4,43±0,09	12,56±0,31	39,13±1,52
	24	4,35±0,10	12,75±0,25	38,54±1,06

Min-Max: RBC: 4,34-4,55; Hb: 12,30-13,00; Ht: 39,85-42,70;  
\*\*\*p<0,001

**TABELA 3. Liczba czerwonych krwinek (RBC), stężenie hemoglobiny (Hb) oraz wartość hematokrytu (Ht) we krwi kontrolnej oraz po kontakcie z kompozytem C/Si w temp. 37°C.**

**TABLE 3. Count of red blood cells (RBC), hemoglobin concentration (Hb) and hematocrit in blood in the control group and contact with the composite C/Si in 37°C.**

Material Material	Czas Time [h]	WBC [10 <sup>9</sup> /l]	LYM [%]	MON [%]	GRAN [%]
Kompozyt C/Si	4	5,23±1,53	31,75±6,57	4,80±0,86	65,18±5,20
Composite C/Si	24	3,10±0,36*	33,90±2,17	6,33±0,97*	59,62±2,04
Kontrola Control	4	5,41±1,37	24,27±5,59	5,15±1,56	67,57±5,41
	24	4,80±1,05	31,37±5,72	9,47±1,07	59,86±4,38

Min-Max: WBC: 4,30-7,60; LYM: 26,90-40,90;  
MON: 3,80-6,70; GRAN: 52,70-66,70; \*p<0,05

**TABELA 5. Liczba białych krwinek (WBC), wartość odsetka limfocytów (LYM), monocytów (MON) i granulocytów (GRAN) we krwi kontrolnej i po kontakcie z materiałami węglowymi w temp. 37°C.**

**White blood cells count (WBC) and lymphocyte (LYM), monocyte (MON) and granulocyte (GRAN) differential count in the control group and after contact with the composite C/Si in 37°C.**

znacznie przekroczyły dopuszczalną wartość, czyli 3% (TABELA 2). W płynie znad osadu erytrocytów po kontakcie z materiałem wartość pH wyniosła 5,50, a dla kontroli 6,25. W wyniku uwolnienia hemoglobiny z krwinek czerwonych w obrazie mikroskopowym widoczne były jedynie cienie komórek (błony), które do siebie przylegały, tworząc mniejsze i większe agregaty.

Średnie wartości parametrów hematologicznych wraz z odchyleniem standardowym dla krwi kontrolnej po 4 i 24 godz. kontaktu z materiałem węglowym w temp. 37°C oraz zakres wartości referencyjnych (Min-Max) czas 0 podano w TABELACH 3 - 7.

Wartość RBC (liczba krwinek czerwonych), WBC (liczba krwinek białych), PLT (liczba krwinek płytkowych), stężenie Hb (hemoglobiny) i wartość Ht (hematokrytu) po 4 godz. kontaktu z materiałem była porównywalna do wartości kontrolnej. Po 24 godz. we krwi stwierdzono istotne zmniejszenie wartości oznaczonych parametrów (TABELA 3, 5, 6). Wartości wskaźników czerwono-

Material Material	Czas Time [h]	Hb [mg/dl]	pH
Kompozyt C/Si	4	64,98±9,38*	7,21±0,04
Composite C/Si	24	97,28±6,91***	7,05±0,02**
Kontrola Control	4	27,82±3,55	7,33±0,10
	24	30,14±2,60	7,16±0,02

Min-Max: Hb: 15,40-17,30; pH: 7,20-7,45; \*p<0,001, \*\*p<0,001, \*\*\*p<0,001

**TABELA 7. Stężenie hemoglobiny (Hb) w osoczu kontrolnym i po kontakcie z materiałami węglowymi oraz pH krwi w temperaturze 37°C.**

**TABLE 7. Extracellular hemoglobin concentration in control plasma and after contact with the composite C/Si in 37°C.**

Material Material	Czas Time [h]	MCV [μm]	MCH [pg]	MCHC [g/dl]	RDW [%]
Kompozyt C/Si	4	88,65±1,25	29,67±0,37	33,31±0,53	14,20±0,65
Composite C/Si	24	91,70±1,35	28,85±0,26	31,10±0,26	17,33±0,64
Kontrola Control	4	89,03±1,18	29,03±0,45	32,83±0,57	14,33±0,35
	24	92,00±4,50	28,63±0,65	31,32±0,66	17,53±0,80

Min-Max: MCV: 88,00-90,10; MCH: 28,80-29,30;  
MCHC: 32-33,30; RDV: 13,50-15,40

**TABELA 4. Wartości wskaźników czerwonych: średnia objętość krwinki (MCV), średnia masa hemoglobiny (MCH), średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach (MCHC), we krwi kontrolnej oraz po kontakcie z kompozytem C/Si w temp. 37°C.**

**TABLE 4. Red cells parameters: mean red cells volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin in red cell (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration in red blood cells (MCHC) in control group blood and after contact with the composite C/Si in 37°C.**

Material Material	Czas Time [h]	PLT [10 <sup>9</sup> /l]	PCT [%]	MPV [fl]
Kompozyt C/Si	4	188,33±69,00	0,138±0,044	7,36±0,98
Composite C/Si	24	133,30±22,51*	0,118±0,046	7,40±0,44
Kontrola Control	4	213,00±48,28	0,149±0,030	7,23±0,76
	24	183,66±44,07	0,134±0,029	7,16±0,35

Min-Max: PLT: 176-288; PCT: 0,079-1,170; MPV: 6,90-8,20;  
\*p<0,001

**TABELA 6. Liczba płytek krwi (PLT), hematokryt płytkowy (PCT) średnia objętość płytek (MPV) we krwi kontrolnej oraz po kontakcie z materiałami węglowymi w temperaturze 37°C.**

**TABLE 6. Blood platelet count (PLT), platelet hematocrit (PCT), mean platelet volume (MPV) in the control group and after contact with the composite C/Si in 37°C.**

material the value pH was 5,50 and for the control 6,25. As the result of hemoglobin release from red cells, in the microscopic picture only shades of cells (membranes) are seen, which adhere to each other creating smaller and bigger aggregates.

The mean values of haematological parameters together with the standard deviation for the control blood after 4 and 24h of contact with the carbon material at temp. 37°C and the range of referential values (Min-Max) time 0 are presented in TABLES 3 - 7.

Values RBC, WBC, PLT, concentration Hb, value Ht after 4h was comparable to the control value. After 24h an essential decrease of the determined parameters values

nokrwinkowych (TABELA 4), białokrwinkowych (TABELA 5) i płytkowych (TABELA 6) były w zakresie wartości referencyjnych tych parametrów. We krwi po kontakcie z materiałem stwierdzono istotne zwiększenie hemoglobiny pozakrwinkowej po 4 i 24 godz. (TABELA 7).

## Podsumowanie

Biomateriały przeznaczone do czasowego i stałego kontaktu z organizmem powinny odznaczać obojętnością biologiczną. W żywym organizmie krew jest najbardziej kompleksowym dynamicznym układem biologicznym. Jednym z ważniejszych wskaźników badaniem *in vitro* zgodności materiału z krwią są badania działania hemolitycznego oraz ocena parametrów morfologicznych krwi. Celem przeprowadzonych badań była ocena biologiczna *in vitro* kompozytu C/Si jako materiału mogącego mieć zastosowanie w formie wszczepu do bezpośredniego kontaktu z krwią.

W badaniach wyciągu wodnego z kompozytu C/Si stwierdzono zmniejszenie wartości pH, a zwiększoną przewodność elektryczną właściwą. Związane to jest ze strukturą materiału, jego porowatością i chłonnością płynu, co sprzyja migracji z niego składników do płynu ekstrakcyjnego.

W badaniach działania hemolitycznego kompozytu C/Si stwierdzono zróżnicowane wartości odsetka hemolizy w zależności od metody oznaczenia. Najmniejszą wartość odsetka hemolizy stwierdzono dla wyciągu z materiału i z użyciem rozcieńczonych krwinek czerwonych. W oznaczeniu z zastosowaniem zagęszczonych krwinek czerwonych lub pełnej krwi, gdzie oceniany materiał był w stałym kontakcie z krwinkami, stwierdzono zwiększoną wartość odsetka oraz zmiany kształtu krwinek czerwonych. Na otrzymane wartości pomiarowe miało wpływ prawdopodobnie niskie pH materiału i wyciągów wodnych. Uwolnione składniki z kompozytu C/Si wywołały zmianę pH, a to spowodowało rozpad krwinek czerwonych.

Ocenę wpływu kompozytu C/Si na krew dokonano na podstawie ilościowych zmian wybranych parametrów hematologicznych. Pełną krew poddano czasowemu, bezpośredniemu kontaktowi z materiałem. We krwi po czasowym, dłuższym kontakcie z kompozytem C/Si stwierdzono zmniejszenie wartości parametrów czerwokrwinkowych (Hb, Ht, RBC), PLT i pH oraz zwiększenie stężenia Hb pozakrwinkowej.

Na podstawie uzyskanych wyników badań działania hemolitycznego oraz parametrów krwi stwierdzono, że czasowy bezpośredni dłuższy kontakt krwi z kompozytem C/Si wpływa na ilościowe i morfologiczne zmiany krwinek czerwonych, białych i płytkowych. Zmiany te związane są prawdopodobnie ze składem, strukturą i właściwościami powierzchni materiału.

was observed (TABLE 3, 5, 6). The values of erythrocytic (TABLE 4), leucocytic (TABLE 5) and thrombocytic (TABLE 6) indexes were in the range of referential values of those parameters. In the blood after contact with the material, an essential increase of plasmatic hemoglobin was observed after 4 and 24h (TABLE 7).

## Summary

Biomaterials assigned for temporal and permanent contact with the organism should have biological neutrality. Blood is the most complex dynamic biological system in the living organism. Tests of hemolytic action and evaluation of blood morphotic parameters are one of more important indexes of tests *in vitro* of biocompatibility of the material with blood. The biological of *in vitro* of composite C/Si as material which can have use in the form of implant for direct contact with blood was the aim of the performed tests.

In the tests of the extract, decrease of value pH, and increased electrical conductivity were observed. It is connected with the structure of material, its porosity and the absorptiveness of fluid which helps migration of its components to the extraction fluid.

In the tests of the hemolytic action of composite C/Si, differentiated values of haemolysis percentage depending on the method of determination were observed. The lowest value of haemolysis percentage was observed for the extracts from composite C/Si and with use of diluted red cells. An increased percentage value and changes of red cells shape were observed in the determination with use of condensed erythrocytes or full blood where the evaluated material was in constant contact with the cells. Low pH of the aqueous extracts probably influenced the obtained measurement values. The released components from the composite C/Si caused the change of pH, and that caused decomposition of erythrocytes.

Evaluation of the influence of composite C/Si on blood was performed on the basis of the quantitative changes of the chosen haematological parameters. Full blood was subjected to temporal, direct contact with the material. In blood after temporal longer contact with composite C/Si, decrease of the values of erythrocytic (Hb, Ht, RBC) and PLT and pH parameters and increase of extracellular Hb concentration were observed.

On the basis of the obtained results of the tests of hemolytic action and blood parameters, it was observed that temporal direct longer contact of blood with composite C/Si influences quantitative and morphological changes of red, white cells and platelets. Those changes are probably connected with the composition, structure and properties of the material surface.

## Piśmiennictwo

- [1] Biological evaluation of medical devices. Part 12: Sample preparation and reference materials. PN-EN ISO 10993-12, (2005), 1-15.
- [2] Biological evaluation of medical devices. Part 4. Selection of tests for interactions with blood. PN-EN ISO 10993-4, (2003), 1-34.
- [3] Polska Norma 86/C-04963: Oznaczanie pH wodnych roztworów produktów chemicznych.
- [4] Polska Norma 76/C-89291: Oznaczanie przewodności elektrycznej właściwej wyciągów wodnych.
- [5] Singhal J.P., Ray A.: Synthesis of blood compatible polyamide block copolymers. *Biomaterials* 23, (2002), 1139-1245.
- [6] Borzemska M: Comparative study of methods estimating the haemolytic activity of aqueous plastic extracts. *Polymers in Medicine* 8, 2, (1978) 57-61.

## References

- [7] Szymonowicz M., Pielka S., Owczarek A, Haznar D., Pluta J.: Study on influence of gelatin-alginate matrixes on the coagulation system and morphotic blood elements. *Macromolecular Symposia* 253, (2007), 71-76.
- [8] Szelest -Lewandowska A, Masiulanis M, Szymonowicz M, Pielka S, Paluch D: Modified Poly(carbonateurethane). Synthesis, properties and biological investigation *in vitro*. *J. Biomed. Mat. Res. Part A*, 82, 12, (2007), 509-520.
- [9] Szymonowicz M., Pielka S., Paluch D., Żywicka B., Obłąkowska D., Błazewicz: Badania działania hemolitycznego wybranych materiałów węglowych. *Inż. Biomater.*, 77-80, (2008), 21-22.
- [10] Borski H: Podstawowe badania hematologiczne. WL PZWL Warszawa 1995.