

WPŁYW MATERIAŁÓW O RÓŻNEJ ZWILŻALNOŚCI POWIERZCHNI NA PARAMETRY HEMATOLOGICZNE KRWI

DANUTA PALUCH, MARIA SZYMONOWICZ, STANISŁAW PIELKA,
HENRYKA BUCZYŃSKA

ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIAŁÓW
KATEDRY CHIRURGII URAZOWEJ AKADEMII MEDYCZNEJ WE
WROCŁAWIU

W kontakcie z pełną krvią niefizjologiczne powierzchnie wywołują zmiany nie tylko w aktywności, liczbie i morfologii krwinek płytowych, lecz wpływają na inne elementy morfotyczne krwi. Sztuczna powierzchnia może też spowodować m. in. aktywację leukocytów i erytrocytów. Zmiany w parametrach morfologicznych komórek krwi po kontakcie ze sztuczną powierzchnią dostarczają ważnych informacji o właściwościach trombogennych materiału [1-4].

Celem pracy jest ocena wpływu materiałów o różnym stopniu zwilżalności powierzchni oraz czasu kontaktu z pełną krvią, na parametry hematologiczne krwi w badaniach *in vitro* w układzie dynamicznym.

Materiał i metody

Do badań użyto dzianinę poliestrową, stosowaną do produkcji protez naczyniowych, o powierzchni hydrofobowej oraz zmodyfikowaną chemicznie dzianinę poliestrową o powierzchni hydrofilowej.

Badania wykonano na krwi ludzkiej O Rh+ pobranej na antykoagulant CPD-A1. Do probówek polipropylenowych z korkiem, zawierających po 0.4 g ocenianego materiału, odmierzono po 8 cm³ krwi. Probówki umieszczone na miejsadle hematologicznym, które wprowadzono w ruch (60 obr./min.). Równolegle z badanymi próbami nastawiono probówki zawierające samą krew, stanowiącą próbę kontrolną. Badania wykonano w temperaturze pokojowej. Zmiany we krwi po kontakcie z badanymi materiałami oraz we krwi w próbach kontrolnych oceniono po 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180 i 240 min. Badania parametrów krwi wykonano na aparacie hematologicznym Cobas Micros firmy La Roche.

Oznaczono wartość hematokrytu (Ht), stężenie hemoglobiny (Hb), liczbę krwinek czerwonych (RBC) oraz wskaźniki czerwonokrwinkowe: średnią objętość krwinki czerwonej (MCV), średnią masę hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH), średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych (MCHC) i wskaźnik rozproszenia rozkładu objętości krwinek (RDW). Określono również liczbę krwinek białych (WBC) z uwzględnieniem leukogramu: ilości granulocytów (Gra), limfocytów (Lym) i monocytów (Mon).

Ocenę parametrów morfologicznych krwinek płytowych przeprowadzono przez oznaczenie: liczby płyt krwi (PLT), średniej objętość płyt (MPV), hematokrytu płytowego (PCT) oraz wskaźnika zmienności rozkładu objętości płyt (PDW).

Na podstawie oznaczeń liczby WBC i liczby PLT oraz wzoru matematycznego, wyliczono stopień zmniejszenia liczby krwinek w porównaniu do wartości wyjściowej.

INFLUENCE OF MATERIALS WITH VARIOUS WETTABILITY OF SURFACE ON HAEMATOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD

DANUTA PALUCH, MARIA SZYMONOWICZ, STANISŁAW PIELKA,
HENRYKA BUCZYŃSKA

INSTITUTE OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS TESTING
DEPARTMENT OF TRAUMATIC SURGERY OF WROCŁAW ACADEMY OF MEDICINE

The non-physiological surfaces in the contact with the full blood generated not only the changes in the number, activity and morphology of the blood platelets but also have the influence for the other blood cells. The artificial surface may as well generated among others the activity of leucocytes and erythrocytes. The changes in the morphological parameters of the blood after it contact with the artificial surface are the source of the important information on the trombogenic properties of the material [1-4].

The aim of the paper is estimation of influence of material surface wettability and contact time with full blood on haematological parameters of blood in "in vitro" tests in dynamic system.

Material and methods

Polyester weaving applied for production of vascular prostheses with hydrophobic surface and chemically modified polyester weaving with hydrophilic surface were used in the tests.

The tests were made on human blood O Rh+ taken for anticoagulant CPD-Al. 8 cm³ of blood was measured for each polypropylene test-tube with cork containing 0.4 g of the estimated material in each one. The tubes were placed on a hematological stirrer which was set in motion (60 rpm). Simultaneously with the tested samples, tubes containing only blood were set - control test. The tests were made in room temperature. Changes in blood after contact with the tested materials and in blood in the control tests were estimated after 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180 and 240 min. Blood parameters tests were made with a hematological apparatus Cobas Micros of the firm La Roche.

Haematocrit value (Ht), haemoglobin concentration (Hb), count of red blood cells (RBC) and red cells parameters: mean red cells volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin in red cell (MCH), mean corpuscular haemoglobin concentration in red blood cells (MCHC) and red cell distribution width (RDW) were determined.

Also the count of white blood cells (WBC) including leucogram: count of granulocytes (Gra), lymphocytes (Lym) and monocytes (Mon) were determined.

Estimation of morphological parameters of platelet cells was made through determining: platelets count (PLT), mean platelets volume (MPV), platelet hematocrit (PCT) and platelet distribution width (PDW). On the base of WBC count and PLT count determinations as well as mathematical formula, the reduction degree of the count of blood cells in comparison with the initial value was estimated.

Stężenie hemoglobiny, wartość hematokrytu, liczba krwinek czerwonych oraz poziom wskaźników czerwonokrwinkowych we krwi, zarówno po kontakcie z materiałem o powierzchni hydrofobowej jak i hydrofilowej, był porównywalny z wartościami tych parametrów w grupie kontrolnej i wartościami wyjściowymi (czas 0).

Liczba krwinek białych w grupie kontrolnej we wszystkich czasach obserwacji zmniejszyła się od 6 do 10%. We krwi po kontakcie z badanymi materiałami stwierdzono stopniowe zmniejszenie liczby WBC, w porównaniu do wartości wyjściowej. W przypadku dzianiny o hydrofobowej powierzchni liczba WBC zmniejszyła się po 30 min. o 13%, po 60 min. o 22%, a po 90 min. o 34%. We krwi po kontakcie z dzianiną o hydrofilowej powierzchni liczba WBC uległa zmniejszeniu po 30 min o 27%, po 60 min. o 43%, a po 90 min. o 57%. Wydłużenie czasu kontaktu krwi z badanymi materiałami powyżej 90 min. nie miało wpływu na dalsze zmniejszenie liczby WBC. Istotną różnicę między dzianinami w oparciu o liczbę WBC stwierdzono po 60 i 90 min. W obrazie leukogramu krwi kontrolnej nie stwierdzono istotnych różnic w ilości granulocytów, limfocytów i monocytów w zależności od czasu badania. Po kontakcie z badanymi dzianinami obserwowano zwiększenie odsetka limfocytów, przy obniżonej ilości granulocytów obojętnochłonnych. Największe różnice w ilości ocenianych komórek stwierdzono po 60 i 90 min. Istotne różnice ilościowe w badanych terminach czasowych, obserwowano we krwi po kontakcie z dzianiną o powierzchni hydrofilowej.

Liczba krwinek płytowych wykazywała tendencję spadkową zarówno we krwi kontrolnej jak i po kontakcie z dzianinami w porównaniu do wartości wyjściowej. W próbach kontrolnych obserwowano zmniejszenie liczby PLT średnio od 17 do 30%. We krwi po kontakcie z dzianiną hydrofilową stwierdzono największy spadek liczby PLT, który wyniósł po 15 min. - 41%, a po 60 min. 68%. Liczba PLT we krwi po kontakcie z dzianiną hydrofobową zmniejszyła się po 15 min. o 25%, a po 60 min. o 47%. Największe istotne różnice w liczbie PLT we krwi po kontakcie z badanymi dzianinami stwierdzono po 60 min. Oceniając parametry morfologiczne płytka stwierdzono, że wraz ze zmniejszeniem liczby PLT następuje zmniejszenie PCT, przy niezmienionych pozostałych wartościach parametrów MPV i PDW. Największe istotne różnice w wartości PCT we krwi po kontakcie z dzianinami wystąpiły po 60 min.

Na podstawie otrzymanych wyników możemy stwierdzić, że zarówno powierzchnia o zwiększonej jak i zmniejszonej zwilżalności, nie zmienia istotnie wartości parametrów czerwonokrwinkowych. Dzianina o hydrofilowej powierzchni po kontakcie z krwią, istotnie wpływa na zmniejszenie liczby białych krwinek i krwinek płytowych, w porównaniu do prób kontrolnych i dzianiny o hydrofobowej powierzchni.

Result

Haemoglobin concentration, haematocrit value, count of red cells and level of red cells parameters in blood also after contact with the material with hydrophobic and hydrophilic surfaces were comparable with the value of these parameters in the control group and with the initial values (time 0).

The count of white cells in the control group in all observation times decreased by 6% to 10%. A gradual decrease of count WBC in comparison with the initial value was observed in blood after contact with the tested materials. In case of weaving of hydrophobic surface count WBC decreased after 30 min. by 13%, after 60 min. by 22% and after 90 min. by 34%. In blood after contact with weaving of hydrophilic surface count WBC decreased after 30 min. by 27%, after 60 min. by 43% and after 90 min. by 57%. Prolongation of contact time of blood with the tested materials over 90 min. did not cause further decreased of count WBC. Essential difference between weaving on the basis of count WBC was observed after 60 and 90 min. In the picture of leucogram of the control blood essential difference in the count of granulocytes, lymphocytes and monocytes in dependence on the test time were not observed. After contact with the tested weavings, increase of percentage of lymphocytes with a decreased count of neutrophilic granulocytes was observed. The largest differences in the count of estimated cells were observed after 60 and 90 min. Essential quantitative difference in the tested time terms were observed in blood after contact with weaving of hydrophilic surface.

The count of platelet cells showed a decreasing tendency both in the control blood as well as after contact with the weavings in comparison with the initial value. In the control samples a decrease of count PLT meanly by 17 to 30% observed. In blood after contact with the hydrophilic weaving, the largest decrease of count PLT was observed which reached 41% after 15 min. and 68% after 60 min. Count PLT in blood after contact with the hydrophobic weaving decreased after 15 min. by 25 % and after 60 min. by 47%. The largest essential differences in count PLT in blood after contact with the tested weavings were observed after 60 min. Estimating the morphological parameters of platelets it was observed that together with a decrease of count PLT there is a decrease of PCT with the unchanged remaining values of parameters MPV and PDW. The largest essential differences in value PCL in blood after contact with the weavings appeared after 60 min.

On the basis of the achieved results we can state that surface with an increased as well as a decreased wettability does not change essentially the values of red cell parameters. Weaving of hydrophilic surface after contact with blood essentially influences a decrease of the count of white cells and platelet cells in comparison with control samples and with weaving of hydrophobic surface.

Piśmiennictwo

- [1] Grunkemeier J.M., Tsai W.B., McFarland C.D., Horbett T.A.: The effect adsorbed fibrynogen, fibronectin, von Willebrand factor and vitronectin on procoagulant state of adherent platelets. *Biomaterials*, 21(2000),2243-2252.
- [2] Nygren Hn., Broberg M.: Specific activation of platelets by surfaces-adsorbed plasma protein. *J Biomater Sci Polym Ed* 9(1998),817-831.

References

- [3] Haycon Cl., Ratner BD.: In vitro platelet interactions in whole human blood exposed to biomaterial surfaces: insights on blood compatibility. *J Biomed Mater Res* 27(1993),1181-1193.
- [4] Balasubramania V., Grusin N.K., Bucher R.W., Turitto V.T., Slack S.M.: Residence-time dependent changes in fibrinogen adsorbed to polymeric biomaterials. *J. Biomed Mater Res* 44(1999),253-260.