

JERZY ŁUKASIAK<sup>\*)</sup>, AGNIESZKA DOROSZ<sup>\*)</sup>,  
MAGDALENA PROKOPOWICZ<sup>\*)</sup>,  
KRYSTYNA RACZYŃSKA<sup>\*\*)</sup>, BOGDAN FALKIEWICZ<sup>\*\*\*)</sup>

## Proces tworzenia emulsji i inne zmiany fizykochemicznej charakterystyki polidimetylosiloksanów (PDMS) pod wpływem kontaktu z układami modelowymi: tkankami gałki ocznej, surowicą krwi ludzkiej i kolagenem

EMULSIFICATION AND OTHER PHYSICO-CHEMICAL CHANGES IN POLYDIMETHYLSILOXANES (PDMS) EXPOSED TO MODEL SYSTEMS REPRESENTING EYE-BALL TISSUE, HUMAN BLOOD SERUM AND COLLAGEN

**Summary** — Emulsification of a silicon oil within the human eye was studied by using oversimplified eye-ball models. A silicon oil composed of 1 g high-viscosity silicon oil (Silol 5000) and 4 mL of a solution including a vitreous body fluid, blood serum or collagen were prepared to simulate the environment inside the human eye-ball and to observe its behavior after the oil has been injected. The resulting two-phase systems were incubated and shaken for 8 weeks at 37°C. The effect of additives including a low-viscosity (300 cSt) siloxane and a polysiloxane containing silanol (Si-OH) groups on emulsification was also studied. Silol 5000 was found to produce stable emulsions, the strongest being the one formed in combination with the vitreous body fluid. The emulsion formation rate was not affected by the additives examined. The physiological fluids, which are surface active, exhibit spontaneous emulsifying properties toward silicones. One possible reason for the production of stable emulsions is the formation of protein—silicon complexes at phase boundaries. An indirect supporting evidence was found in the IR spectra recorded upon prolonged exposure *in vivo* of tissues and eye-ball fluids to a silicon oil Oxane 5700.

**Key words:** polydimethyl siloxanes, protein—silicon complexes, human eye medium, emulsification, model studies.

Materiały silikonowe znalazły szerokie zastosowanie w medycynie i są m.in. jednymi z najczęściej używanych materiałów implantacyjnych [1]. Olej silikonowy od 1962 roku wykorzystuje się w chirurgii oka jako substytut ciała szklistego [2, 3 i prace tam cytowane]. Zabieg chirurgiczny polegał na usunięciu ciała szklistego i podaniu oleju silikonowego do wnętrza gałki ocznej. Ten sposób radykalnie zmienił postępowanie w lecze-

niu ciężkich schorzeń oka i obecnie olej silikonowy jest powszechnie stosowany do tamponady wewnątrzgałkowej [4].

W początkowym okresie stosowania olejów silikonowych jako materiału iniekcyjnego w chirurgii oka panował pogląd, że są one biomateriałami obojętnymi dla organizmu i nieulegającymi w nim przemianom; dlatego też wydawało się, że stanowią one dobre tworzywo do wykorzystywania w medycynie [5—8]. Wiadomo jednak, że nie ma materiałów polimerowych prawdziwie obojętnych dla organizmu [9] i jak się okazało, siloksany mogą na wiele sposobów wywoływać reakcje uboczne oraz ulegać biodegradacji i wchłanianiu przez tkanki [1, 10—12]. Oceniając użyteczność tamponady wewnątrzgałkowej polimerem silikonowym, autorzy wielu publikacji zaczęli zwracać uwagę na występujące u chorych powikłania, związane prawdopodobnie przede wszystkim z niestabilnością oleju prowadzącą

\*) Akademia Medyczna, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Chemii Fizycznej z Pracownią Analizy Instrumentalnej, Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk.

\*\*) Akademia Medyczna, Katedra i Klinika Chorób Oczu, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk.

\*\*\*) Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-AMG, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk oraz Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, ul. Sobieskiego 18, 80-952 Gdańsk.

1) Autor, do którego należy kierować ewentualną korespondencję. Tel.: (48) 58 349-31-50; fax: (48) 58 349-32-06; e-mail: jluka@amg.gda.pl

do dyspersji i tworzenia trwałych emulsji [7, 8, 13] oraz z hydrofobowością olejów silikonowych, powodującą zaburzenia w odżywianiu rogówki przez płyn komorowy [14]. Tworzenie się emulsji wiąże się przypuszczalnie z procesem zapalnym gałki ocznej, podczas którego składniki morfotyczne krwi mogą przenikać przez barierę krew/woda i wraz z wydzielanymi przez siebie aktywnymi substancjami działać jako naturalne emulgatory. Obecnie panuje pogląd, że powstawanie emulsji oleju silikonowego w gałce ocznej powoduje impregnację tkanek oka, co zapewne jest przyczyną takich powikłań jak jaskra wtórna bądź też keratopatia [15].

Różnorodność wskazań dotyczących zastosowania oleju silikonowego nie pozwala na jednoznaczne określenie przyczyn występujących powikłań. W literaturze spotyka się przypuszczenia, że wyżej wymienione zmiany patologiczne wynikają z niektórych właściwości fizykochemicznych olejów silikonowych (zawartości małocząsteczkowych polimerów silikonowych [4, 7] i obecności grup silanolowych w oleju [16]). Choć stosowane w medycynie oleje silikonowe zawierają jedynie śladowe ilości siloksanów o średniej lepkości i siloksanów z wolnymi grupami silanolowymi, mogą one powstawać w wyniku biodegradacji enzymatycznej polimeru.

W większości prac klinicznych brak jest dostatecznych danych dotyczących charakterystyki chemicznej zastosowanego oleju, co uniemożliwia ocenę wpływu jakości użytego oleju silikonowego na uzyskane wyniki leczenia i częstość powikłań. Z występowaniem małocząsteczkowych polimerów silikonowych można połączyć fakt, że podstawowym mankamentem stosowania silikonów w chirurgii oka jest ich zdolność do przemieszczania się z miejsca pierwotnego wprowadzenia, co przyczynia się do ujawnienia toksyczności przewlekłej polisiloksanów [17]. Autorzy pracy [17] przeprowadzili analizę oleju silikonowego wydobytego z oczu zwierząt doświadczalnych po dwóch latach od wprowadzenia. Badania wykazały, że w większości przypadków stężenie małocząsteczkowych siloksanów — niepożądanych składników oleju — zmalało od czasu wstrzyknięcia, co prawdopodobnie jest skutkiem ich dyfuzji z oleju do tkanek [17]. Możliwe jest także, że niepożądane, małocząsteczkowe fragmenty silikonowe mogą powstawać w wyniku biodegradacji polimerów siloksanowych pod wpływem enzymów ustrojowych znajdujących się w środowisku oka ludzkiego [18, 19].

Główne cele badań stanowiących przedmiot niniejszego artykułu to:

— weryfikacja przypuszczeń, że przyczyną tworzenia emulsji wodno-siloksanowej w oku ludzkim jest obecność małocząsteczkowych fragmentów siloksanowych lub grup silanolowych w polimerze, bądź też jednoczesne występowanie obu tych czynników;

— ocena czy i jak szybko tworzy się emulsja oleju silikonowego w środowisku płynów fizjologicznych: ciała szklatego gałki ocznej, surowicy krwi i roztworu kolagenu.

W pracy przedstawiono charakterystykę spektralną stosowanego w chirurgii okulistycznej oleju silikonowego „Oxane-5700” oraz tego samego oleju usuniętego z oka pacjenta po 6 miesiącach od wprowadzenia. Zaobserwowane różnice stały się podstawą do założenia, że stworzenie *in vitro* modelu środowiska oka pozwoli na wykazanie, które czynniki w sposób istotny stymulują proces tworzenia emulsji. Przygotowano trzy modele symulujące środowisko oka ludzkiego wraz z dodatkiem innego oleju silikonowego stosowanego w okulistyce („Silol 5000”). Obserwowano *in vitro* wpływ ludzkiego ciała szklatego, surowicy krwi, kolagenu (jako białka wzorcowego), małocząsteczkowego polimeru silikonowego i polisiloksanu zawierającego grupy silanolowe na tworzenie emulsji oleju silikonowego w roztworach wodnych.

## CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

### Zmiany charakterystyki fizykochemicznej oleju silikonowego „Oxane-5700” *in vivo*

Zarejestrowano widmo absorpcyjne IR fabrycznej próbki stosowanego klinicznie oleju polidimetylosiloksanowego „Oxane-5700” (producent Laboratoires OPSIA, Francja) oraz próbki takiego samego oleju usuniętego z oka ludzkiego po 6 miesiącach od wstrzyknięcia terapeutycznego.

### Tworzenie emulsji siloksanowej w warunkach *in vitro*

#### Przygotowanie próbek do badań

Do 48 jałowych standardowych próbek szklanych pojemności 10 cm<sup>3</sup> odważano po 1 g badanego oleju silikonowego „Silol 5000” (producent I.Ch.P. Zakład Doświadczalny Silikonów w Nowej Sarzynie, Polska) o lepkości 5000 cSt (1 St = 1 cm<sup>2</sup>/s) i czystości medycznej. Następnie do każdej próbki dodawano po 4 cm<sup>3</sup> jednego z następujących roztworów emulgujących:

— 30-proc. roztworów ciał szklitych I—V (z 5 ciał szklitych uzyskanych w trakcie wykonywanych zabiegów witrektomii) w wodzie redestylowanej;

— 15-proc. roztworu surowicy ludzkiej (uzyskanego z 1 próbki) w wodzie redestylowanej;

— 0,5-proc. roztworu kolagenu („Collagen type II”, nierozpuszczalny, ze ścięgna Achillesa wołu, firmy Sigma — Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Niemcy i Chemical Co., St. Luis, USA) w wodzie redestylowanej.

Każdy z tych typów emulgatorów był ponadto badany z dodatkiem 0,1 g oleju silikonowego o małej lepkości „Polsil OM-300” (lepkość 300 cSt, producent Zakłady Chemiczne „Organika-Sarzyna” w Nowej Sarzynie) albo (w oddzielnych próbach) 0,1 g polisiloksanu zawierającego grupy silanolowe „Silipian C-1” (Instytut Chemii Przemysłowej, Zakład Doświadczalny Silikonów w Nowej Sarzynie). Próbkę kontrolną (w liczbie 6)

stanowiły odważki 1 g oleju silikonowego „Silol 5000” z dodatkiem wody redestylowanej. Każde doświadczenie wykonywano dwukrotnie, wszystkie próbki przygotowywano aseptycznie i przez cały okres prowadzenia doświadczenia zachowywano jałowe warunki pracy. Próbki termostatowano, łagodnie wytrząsając je w ciągu 8 tygodni w rotacyjnej wytrząsarce z łaźnią wodną, w temp. 37°C.

#### Metody oceny próbek

Po upływie 8 tygodni termostatowania, ze wszystkich próbek (olej/emulgująca warstwa wodna) wyodrębniło olej silikonowy metodą ekstrakcji ciecz/ciecz za pomocą  $\text{CCl}_4$  (cz.d.a., firmy J. T. Baker), a otrzymany ekstrakt badano metodami spektroskopii IR, UV-VIS i  $^1\text{H-NMR}$ . Przed rozpoczęciem właściwych badań sprawdzono, czy z wodnych roztworów emulgujących (ciała szkliste, surowica, kolagen) nie przechodzą do warstwy organicznej ( $\text{CCl}_4$ ) substancje, które mogłyby utrudniać analizę próbek końcowych. W tym celu zarejestrowano widma spektralne ekstraktów organicznych z próbek niezawierających polisiloksanów; stwierdzono występowanie jedynie pasm o małej intensywności (na granicy szumów aparaturowych), co potwierdziło możliwość stosowania ekstrakcji PDMS czterochlorkiem węgla z próbek właściwych.

Otrzymane widma IR, UV-VIS i  $^1\text{H-NMR}$  ekstraktów badanych próbek porównano z widmami wzorcowymi wyjściowego oleju „Silol 5000” i widmami próbek kontrolnych. W widmach próbek badanych i kontrolnych określano położenie i intensywność poszczególnych sygnałów. Ocenę wstępną zmian w strukturze silikonu w badanych modelach sformułowano na podstawie określenia różnic intensywności linii charakterystycznych substancji przechodzących w procesie ekstrakcji do fazy organicznej w stosunku do widm wzorcowych.

#### WYNIKI

#### Badania oleju silikonowego „Oxane-5700” *in vivo*

Jak wynika z rys. 1, w zakresie 1600–850  $\text{cm}^{-1}$  widmo IR oleju silikonowego usuniętego z oka (linia ciągła) zawiera więcej pasm absorpcyjnych od widma IR fabrycznej próbki oleju (linia przerywana). Pasm tych nie obserwuje się w przypadku polisiloksanów wyizolowanych z zastosowanych przez nas środowisk modelowych, po 8-tygodniowym termostatowaniu w warunkach wytrząsania. Oznacza to, że długotrwały kontakt oleju z tkankami i płynami gałki ocznej może wpływać na zmianę właściwości fizykochemicznych polisiloksanów, stwarzając ewentualnie warunki do trwałego przyłączenia innych cząsteczek do silikonu.

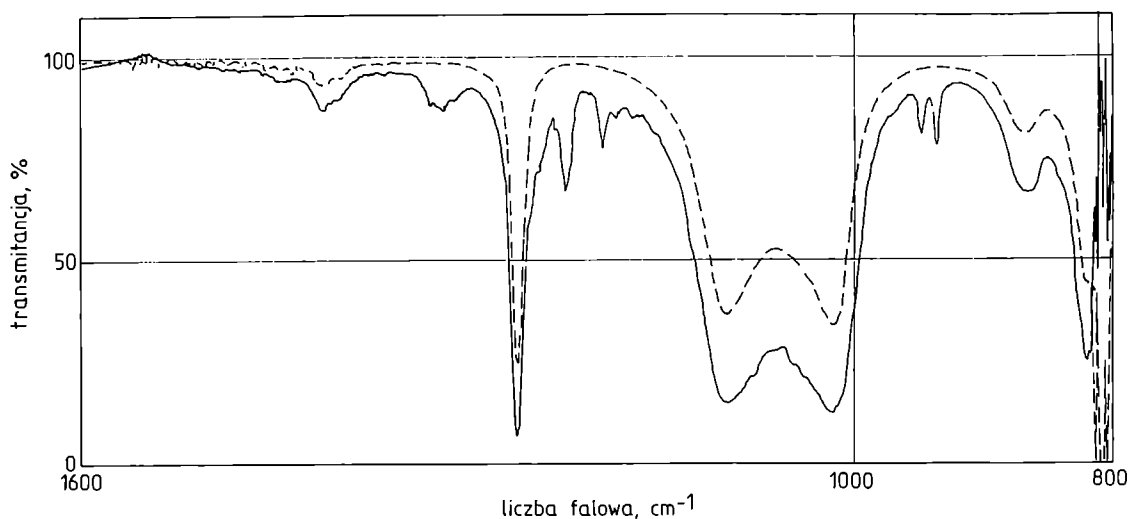
#### Tworzenie emulsji *in vitro*

##### Obserwacje wizualne

Proces emulgowania obserwowano w każdej próbce w 8-godzinnych odstępach czasu, co pozwoliło na porównanie potencjalnych zdolności i szybkości emulgowania badanego oleju przez roztwory ciała szklistego, surowicy i kolagenu. Badania prowadzono wizualnie i efekty końcowe utrwalono na zdjęciach (por. rys. 2).

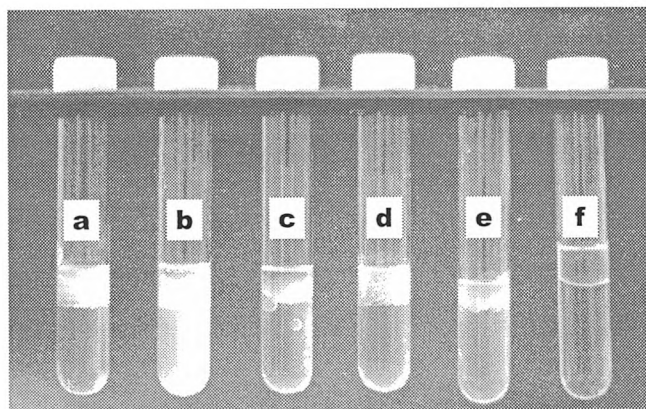
W próbkach kontrolnych zawierających tylko olej silikonowy i wodę redestylowaną, przez cały okres termostatowania olej zachował przejrzystość i nie stwierdziliśmy procesu emulgowania, natomiast we wszystkich próbkach doświadczalnych zaobserwowaliśmy postępujący z różną szybkością proces powstawania emulsji.

W przypadku roztworów ciała szklistego, dyspergowanie oleju w wodzie następowało najszybciej. Proces tworzenia emulsji rozpoczynał się już po upływie 8 h i



Rys. 1. Widma IR fabrycznej próbki oleju silikonowego „Oxane-5700” (linia przerywana) i tego samego oleju usuniętego z oka pacjenta po 6 miesiącach od zabiegu (linia ciągła)

Fig. 1. IR spectra of a commercial sample of Oxane 5700 silicone oil (dashed line) and of the same oil removed from patient's eye six months after operation (solid line)



Rys. 2. Przykłady wizualnej oceny procesu emulgowania; wszystkie próbówki zawierają po 1 g oleju „Silol 5000” z dodatkiem a) 30-proc. roztworu I ciała szklistego, b) 15-proc. roztworu surowicy krwi, c) 0,5-proc. roztworu kolagenu, d) 30-proc. roztworu II ciała szklistego, e) 30-proc. roztworu III ciała szklistego, f) wody redestylowanej (próbka kontrolna)

Fig. 2. Visual evaluation of emulsification; each vessel contained 1 g Silol 5000 and an addition of: a — 30% vitreous body solution I, b — 15% blood serum solution, c — 0.5% collagen solution, d — 30% vitreous body solution II, e — 30% vitreous body solution III, f — redistilled water (control)

powodował tworzenie się licznych, bardzo drobnych kropli oleju na granicy faz olej/woda. Dyspersja oleju w badanych próbkach była trwała już po 2 tygodniach termostatowania, krople pozostawały stabilne po wstrząśnięciu próbki, a przyczepność oleju do szklanych ścianek próbówki była niewielka. Zaobserwowaliśmy także, że dodanie małowcząsteczkowego oleju silikonowego („Polsil OM-300”) i/lub oleju zawierającego grupy silanolowe („Silipian C-1”) nie wpływało na szybkość procesu tworzenia emulsji oraz na zmętnienie warstwy wodnej w roztworach ciała szklistego.

W próbkach zawierających 15-proc. roztwór surowicy zaobserwowaliśmy początek procesu tworzenia emulsji po upływie 24 h, a dodatek małowcząsteczkowych polisiloksanów i polimeru z grupami silanolowymi również nie wpływał na szybkość procesu i zmętnienie warstwy wodnej. Po tygodniu trwania doświadczenia z udziałem próbek olej/roztwór ciała szklistego oraz olej/roztwór surowicy krwi następowało zmętnienie fazy olejowej w całej objętości próbki; stwierdziliśmy też obecność w fazie olejowej regularnych kropli wody o wymiarach 3–15  $\mu\text{m}$ , co wskazuje na tworzenie się emulsji woda/olej. Dodatek małowcząsteczkowych polisiloksanów lub silikonów zawierających grupy silanolowe nie wpływał na szybkość tworzenia emulsji.

W przypadku próbek zawierających 0,5-proc. roztwór kolagenu, po 8 h termostatowania stwierdziliśmy obecność nielicznych, dużych, nieregularnych i niestabilnych kropli oleju zdyspergowanych w fazie wodnej. Po dalszych 48 h na granicy faz olej/woda były widoczne drobne mleczne krople oleju i następowało nieznaczne

jego zmętnienie. Jednocześnie w próbce zawierającej roztwór kolagenu w obecności polimeru z grupami silanolowymi już po upływie 8 h termostatowania zauważyliśmy silne zmętnienie warstwy olejowej oraz pojawienia się licznych drobnych kropli oleju w całej objętości próbki. Dodatek małowcząsteczkowych polisiloksanów lub silikonów zawierających grupy silanolowe nie wpływał na szybkość tworzenia emulsji.

#### Analiza spektralna

Badania spektroskopowe UV-VIS, IR i  $^1\text{H-NMR}$  oleju silikonowego „Silol 5000” wyizolowanego z układów modelujących środowisko oka ludzkiego po 8 tygodniach termostatowania w temp. 37°C w warunkach wytrząsania nie wykazywały istotnych zmian w widmie oleju w stosunku do wzorcowego jego widma. Trzeba jednak uwzględnić to, że na podstawie tych widm nie można wykluczyć powstawania *in vivo* małowcząsteczkowych polisiloksanów; ponadto badania spektroskopowe przeprowadzono po stosunkowo krótkim okresie termostatowania, co uniemożliwia ocenę zmian zachodzących w dłuższym czasie (wielu miesięcy lub lat).

#### DYSKUSJA

Wyniki termostatowania oleju silikonowego z omówionymi roztworami modelowymi wykazują, że roztwory te mają właściwości emulgujące w stosunku do polimeru. Modelowe badania spektroskopowe nie potwierdzają jednoznacznie zmian strukturalnych samego polisiloksanu (np. zmian biodegradacyjnych oleju pod wpływem enzymów znajdujących się w środowisku oka ludzkiego). Równocześnie nie zaobserwowaliśmy, praktycznie biorąc, żadnego wpływu dodatku małowcząsteczkowych siloksanów lub silanoli na proces powstawania emulsji, co różni się od wyników niektórych wcześniej opublikowanych badań [7, 20], jednak zostało potwierdzone w innych publikacjach [21].

Ze względu na złożoną matrycę organiczną, jaką jest oko ludzkie, bardzo trudno jednoznacznie wskazać inne czynniki odpowiadające za tworzenie się trwałej emulsji. Przyczyną takiego procesu może być ekstrakcja do fazy olejowej substancji lipofilowych z roztworu ciała szklistego i otaczających tkanek, zachodząca *in vivo* w komorze. Istnieją doniesienia literaturowe wskazujące na wnikanie z siatkówki oka do fazy olejowej substancji lipofilowych, takich jak cholesterol i retinol [22]. Może to dotyczyć także lipoprotein surowicy krwi (LDL i HDL) w modelowym roztworze surowicy.

Ponieważ jednak emulsję zaobserwowaliśmy także w układzie polisiloksan/roztwór kolagenu, jedną z przyczyn tego procesu w modelach doświadczalnych i w środowisku oka ludzkiego *in vivo* wydaje się być powstawanie kompleksów białkowo-siloksanowych. Kompleksy te mogłyby znacznie zmniejszać napięcie powierzchniowe polimeru wobec wody, co ułatwiałoby

tworzenie się trwałych emulsji. Roztwór ciała szklatego, który okazał się najlepszym emulgatorem, zawiera oprócz podstawowego składnika jakim jest woda (98%) także liczne białka, w tym enzymatyczne (głównie proteazy).

Równocześnie jednak dane literaturowe wskazują, że kompleksowanie siloksanów przez białka zmienia trwałe właściwości fizykochemiczne nie tylko stosowanych silikonów, ale i powoduje trwałe zmiany struktury przestrzennej związanych z nimi białek, a nawet ich denaturację. Wyniki licznych badań potwierdziły, że konformacja makrocząsteczek zmienia się w wyniku adsorpcji na powierzchni silikonów [23–28]. Stwierdzono, że stopień adsorpcji na powierzchni polisiloksanów i stopień denaturacji makrocząsteczek zależy przede wszystkim od czterech czynników: siły oddziaływań wodorowych, obszaru oddziaływań hydrofobowych, entropii konfiguracyjnej makrocząsteczek na adsorbowanym obszarze i stopnia uporządkowania struktury wody na powierzchni PDMS.

Przeprowadzone na ten temat badania *in vitro* potwierdzają, że silne oddziaływania adsorpcyjne zmieniające w sposób trwały konformację makrocząsteczek (przede wszystkim enzymów) wywierają istotny wpływ na zmianę ich aktywności biologicznej. Jednym z przykładów jest mioglobina, która po kilkunastominutowym kontakcie z PDMS odkształca się w miejscu wiążącym hem do tego stopnia, że prawdopodobnie dochodzi do uwolnienia cząsteczki hemu i przez to do utraty zdolności wiązania tlenu [23]. Nasze wstępne badania modelowe wiązania polisiloksanu z albuminą ludzką sugerują możliwość przechodzenia kompleksu PDMS-albumina z frakcji organicznej do frakcji wodnej [28].

#### WNIOSKI

— Medyczny olej silikonowy „Silol 5000” w obecności wodnych roztworów ciała szklatego oka ludzkiego, surowicy krwi ludzkiej lub kolagenu wykazuje tendencję do tworzenia trwałej emulsji, natomiast nie wykazuje jej w układzie z czystą wodą.

— Na proces powstawania emulsji oleju w zastosowanych *in vitro* warunkach doświadczalnych nie wpływa, praktycznie biorąc, obecność małych cząsteczkowych polisiloksanów oraz polimerów silikonowych z grupami silanolowymi.

— Nie można jednoznacznie odpowiedzieć na pytanie, który z wielu czynników jest odpowiedzialny za tworzenie się emulsji oleju silikonowego w oku ludzkim, jednak proces emulgowania oleju w roztworze kolagenu pozwala na wysunięcie przypuszczenia, że czynnikiem ułatwiającym powstawanie emulsji jest powstawanie kompleksów silikonowo-białkowych. Być może i inne czynniki współdziałają w pewnym stopniu w tym procesie, wpływając na szybkość tworzenia się i trwałość emulsji.

*Autorzy serdecznie dziękują Recenzentowi pracy za zasadne i życzliwe uwagi do jej treści.*

#### LITERATURA

1. Łukasiak J., Falkiewicz B., Siedzieniewska D., Dąbrowska E.: *Bromatol. Chem. Toksykol.* 1997, **30**, 9.
2. Cibis P. A., Becker B., Okun E., Canaan S.: *Arch. Ophthalmol.* 1962, **68**, 590.
3. Czerwińska W.: „Silikony w okulistyce”; w „Tworzywa sztuczne w medycynie”, rozdz. XVIII, WNT 1970, Warszawa, str. 769–782.
4. Latecka-Krajewska B., Nawrocka J., Bogorodzki B.: *Klinika Oczna* 1998, **100**, 295.
5. Kreiner C.: *Dev. Ophthalmol.* 1997, **14**, 9.
6. Bombas B., Eckardt C., Vowinkel E., Kruse H.: *Ophthalmology* 1995, **92**, 663.
7. Crisp A., De-Juan E. Jr., Tiedeman J.: *Arch. Ophthalmol.* 1987, **105**, 546.
8. Nakamura K., Refojo M. F., Crabtree D. V., Leong F. L.: *Invest. Ophthalmol. Visual. Sci.* 1990, **31**, 2059.
9. Mazurkiewicz S.: *Polimery* 1999, **44**, 403.
10. Łukasiak J., Jamrógiewicz Z., Falkiewicz B.: *Environ. Health Persp.* 1999, **107**, A442.
11. Łukasiak J., Jamrógiewicz Z., Czarnowski W., Krechniak J., Falkiewicz B.: *Bromatol. Chem. Toksykol.* 1999, **32**, 99.
12. Łukasiak J., Falkiewicz B., Dąbrowska E., Stołyhwo M.: *Bromatol. Chem. Toksykol.* 1996, **29**, 199.
13. Kański J. J.: „Okulistyka kliniczna” (red. Zagórski Z.), wyd. I, Wydawnictwo Medyczne Urban&Partner, Wrocław 1997.
14. Martela E., Dohlman C.: *Acta Ophthalmol.* 1963, **41**, 75.
15. Wesolek-Czernik A., Nawrocki J., Pikulski Z., Bogorodzki B.: *Klinika Oczna* 1998, **100**, 301.
16. Heidenkummer H. P., Kampik A., Thierfelder S.: *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1991, **229**, 88.
17. Nakamura K., Refojo M. F., Crabtree D. V., Pastor J., Leong F. L.: *Invest. Ophthalmol. Visual. Sci.* 1991, **32**, 3007.
18. Rościszewski P., Łukasiak J., Dorosz A., Galiński J., Szponar M.: *Macromol. Symp.* 1998, **130**, 337.
19. Łukasiak J., Falkiewicz B.: „Problemy degradacji silikonów w środowisku”, Międzynarodowa Konferencja „Analysis and Utilisation of Oily Wastes AUZO'96”, Gdańsk, 8–12 września 1996 r.; Proceedings of the Conference, t. II, str. 305–309.
20. Heidenkummer H.-P., Kampik A., Thierfelder S.: *Retina* 1992, **12**, S28.
21. Lakits A., Nennadal T., Scholda C., Knaus S., Gruber H.: *Ophthalmology* 1999, **106**, 1091.
22. Bartov E., Pennarola F., Savion N., Treister G.: *Retina* 1992, **12**, 23.
23. Anderson A. B., Robertson C. R.: *Biophys. J.* 1995, **68**, 2091.
24. Anderson A. B.: Praca doktorska, Stanford University, California, USA (1991).
25. Darst S. A., Robertson C. R., Berzofsky J. A.: *Colloid Interface Sci.* 1986, **111**, 466.
26. Darst S. A., Robertson C. R., Berzofsky J. A.: *Biophys. J.* 1988, **53**, 533.
27. Sun L., Alexander H., Lattarulo N.: *Biomaterials* 1997, **18**, 1593.
28. Łukasiak J., Ziętkiewicz S., Licznarski P.: dane dotychczas nieopublikowane.

Otrzymano 17 IV 2000 r.