



RELATION ENTRE L'ENERGIE DE SURFACE DE MEMBRANES A BASE DE POLYHYDROXYALKANOATES ET L'ADSORPTION DES PROTEINES SUR CES MEMES MEMBRANES

P. COUSSOT-RICO,¹ G. CLAROTTI,² A. AIT BEN AOUMAR,³ A. NAJIMI,⁴ J. SLEDZ,¹ F. SCHUE^{1*} et R. QUATREFAGES⁵

¹Laboratoire de Chimie Macromoléculaire, Université de Montpellier II, Science et Techniques du Languedoc, Montpellier, France

²Commission de la communauté Européenne, Direction Générale: Science, recherche et développement, Bruxelles, Belgium

³Laboratoire de biochimie, Université Ibnou Zohr, Faculté des Sciences, Agadir, Morocco

⁴Service d'Exploration Physiologique des Hormones et du Métabolisme, Centre Hospitalier Régional et Universitaire Lapeyronie, Montpellier, France

⁵CNRS, Pôle Languedoc-Roussillon de G.B.M., Faculté de Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault, 34060 Montpellier Cedex, France

(Reçu le 14 Juillet 1993; accepté le 2 Septembre 1993)

Résumé—L'évaluation de l'hémocompatibilité d'un matériau passe par l'étude de l'adsorption des protéines stimulatrices de la formation du thrombus, c'est-à-dire l'étude de la cinétique d'adsorption protéique et de la saturation des sites de fixation.

Ce programme de travail a été mené sur des films de polyhydroxyalkanoates, le polyhydroxybutyrate (PHB), le polyhydroxybutyrate comportant 9% d'unités hydroxyvalérates (PHB-9%HV) et le polyhydroxybutyrate comportant 22% d'unités hydroxyvalérates (PHB-22%HV). Les films ont été testés par des solutions protéiques pures ou mixtes soit "bruts", soit après traitements par plasma PFH et PFH + H₂.

Il s'est avéré que les films de polymères, hydrophobes, se comportent comme attendu: ils fixent plus d'albumine (protéine hydrophile) que de fibrinogène (protéine hydrophobe). De plus, lorsque l'état d'équilibre d'adsorption protéique est atteint, la quantité de protéines fixées par ces matériaux est maximale et quasi indépendante du temps et de la concentration de la solution protéique. D'autre part, les propriétés chimiques et physiques de nos matériaux ne semblent pas intervenir dans l'adsorption des protéines. La corrélation de l'énergie libre de surface des films testés et des phénomènes d'adsorption obtenus a permis de mettre en évidence que c'est l'état de surface du matériau qui influence l'adsorption.

1. INTRODUCTION

Les événements qui ont lieu lors du contact sang-matériau exogène peuvent être classés en trois phénomènes chronologiques:

- les phénomènes immédiats, précédant l'adhésion des plaquettes au matériau. Bien que dépendante des conditions hémodynamiques et de la nature de la surface du matériau, cette période ne dépasse pas une à deux minutes après la mise en contact sang-matériau [1-5].
- Les événements survenant à court-terme comprennent la modification des facteurs de l'hémostase induisant la coagulation du sang. La période pendant laquelle ces phénomènes sont dominants ne dépasse généralement pas deux semaines [6, 7].
- Les phénomènes à long-terme prennent ensuite le pas sur les mécanismes de la coagulation. Ils entraînent la participation de

mécanismes autres que la formation du thrombus, comme son détachement par embolisation, le recouvrement de la surface d'un pseudo-intima cellulaire par endothélisation, ou encore la stimulation de réactions immunes ou inflammatoires [6, 8, 9].

L'étude de l'hémocompatibilité d'un matériau passe donc obligatoirement par l'analyse de phénomènes d'adsorption des protéines qui stimulent la formation du thrombus. Cette analyse reflète la structure réelle de l'interface matériau-milieu physiologique aqueux. Les phénomènes d'adsorption sont très complexes et dépendent grandement de l'énergie de surface du matériau [10]. Une meilleure compréhension du phénomène nécessite une analyse de type multiparamétrique, à savoir:

- le type de protéines impliquées dans l'adsorption; l'albumine, protéine hydrophile, ou le fibrinogène, protéine hydrophobe;
- le type de matériau utilisé: hydrophile/hydrophobe;
- la cinétique de fixation des protéines sur le matériau;

*A qui toute correspondance doit être adressée.

—l'influence de la concentration protéique sur les phénomènes de saturation des sites d'interaction de surface.

Le test que nous avons développé [11] utilise des marqueurs radioactifs d'albumine et de fibrinogène afin d'observer l'interaction entre les deux principales protéines de la coagulation et la surface de membranes en polyhydroxyalkanoates. Il s'est avéré que les essais de fixation des protéines en fonction du temps ont présenté des courbes d'adsorption classiques avec un phénomène de saturation, semblables à celles présentées dans la littérature [12]. Le fibrinogène est fixé de façon plus importante que l'albumine et les membranes en polyhydroxybutyrate adsorbent beaucoup moins les deux protéines que les membranes celluloseuses utilisées en hémodialyse.

Toutefois les résultats obtenus en ce qui concerne l'évolution des quantités adsorbées en fonction de la concentration croissante des solutions protéiques d'incubation se sont avérés quant à eux difficiles à interpréter. Il semblerait que malgré les nombreux lavages des membranes, de faibles quantités de solution originale, riche en protéines, soient retenues au sein de la porosité des membranes en polyhydroxybutyrate.

Un rinçage plus long et/ou plus intense et l'emploi de films plutôt que de membranes ont permis de mettre au point un test donnant des résultats plus fiables.

D'autre part, plusieurs auteurs ont montré les fortes variations de quantités de protéines adsorbées par les différents matériaux selon l'emploi de solutions "pures", c'est-à-dire contenant un seul type de protéine, ou l'emploi de solutions "mixtes" [13-17]. Il nous a donc paru nécessaire de compléter nos tests en étudiant l'adsorption des protéines d'une solution mixte sur des films d'hydroxyalkanoates: le polyhydroxybutyrate ou PHB, le polyhydroxybutyrate à 9% d'unités hydroxyvalérate ou PBH-co9%HV et le PHB-co22%HV.

Les films ont été testés "bruts": après obtention directe par cryoprécipitation de la solution de départ (sans modification chimique) et traités par plasma (avec modification chimique).

2. TESTS UTILISES

Les tests d'absorption protéique ont tout d'abord été étudiés à partir de solutions protéiques pures. Ces tests serviront de référence.

Deux types de protéines ont été utilisés: l'albumine et le fibrinogène. Dans un premier temps, nous avons étudié le phénomène d'adsorption protéique en utilisant des solutions de protéines de concentrations identiques à celle des protéines plasmatiques, pour évaluer la cinétique de fixation de ces protéines sur nos matériaux. Dans un second temps, nous avons utilisé des solutions de concentrations variables, pour évaluer l'effet dépendant de la concentration protéique sur cette même cinétique.

Ces tests ont ensuite été complétés par l'utilisation d'une solution mixte contenant trois types de protéine: l'albumine, le fibrinogène et les immunoglobulines G (IgG) aux concentrations plasmatiques de 45 g/l pour l'albumine, 12 g/l pour les IgG

et 3 g/l pour le fibrinogène. On peut ainsi évaluer la compétition entre ces différentes protéines vis-à-vis des sites d'interactions avec les surfaces polymères.

Nous avons tout d'abord effectué les premiers tests sur les films à base de PHB et de ses copolymères, ensuite nous avons soumis ces films ainsi que ceux traités par plasma à des tests optimisés. L'utilisation de films en Silastic™ de Dow Corning a permis de comparer les quantités de protéines fixées par nos matériaux et de rechercher une corrélation éventuelle entre l'adsorption protéique et l'énergie libre de surface (ELS) de ces différents matériaux.

Chaque point des courbes représente les valeurs moyennes obtenues à partir des trois expériences effectuées. Les écarts type sont généralement de l'ordre de 5% et jamais supérieurs à 10%.

3. MATERIAUX TESTES

Trois types de films différents ont été préparés par coulée et évaporation du solvant (chloroforme) à partir de solutions contenant 10% en poids de PHB et de ses copolymères l'un à 9% et l'autre à 22% d'unité HV (ces polymères ont été purifiés à partir des polymères bruts fournis par ICI).

Avant d'être testés les films de polymères de 1 cm² de surface totale exposée sont incubés pendant 12 hr à 37°C dans du PBS (phosphate buffered saline) afin qu'ils soient dans leur configuration hydratée, proche de celle qu'ils prendront *in vivo* au moment du test.

L'énergie de surface des matériaux a été mesurée par la méthode de détermination de l'angle de contact sur un appareil G₁, Krüss.

4. RESULTATS-DISCUSSION

4.1. Adsorption de Protéines à Partir de Solutions Protéiques Pures

(a) Cinétique d'adsorption (Fig. 1)

Des films, non traités par plasma, à base de PHB et de ses copolymères, ont été mis en présence d'une solution contenant un seul type de protéines. Le temps nécessaire pour atteindre un état d'équilibre dynamique où les quantités fixées pour chaque type de protéine sont constantes est ainsi déterminé pour chaque composition en unités HV du polymère. Les résultats sont reportés sur la Fig. 1.

Il apparaît que l'albumine est la protéine la moins adsorbée par les trois types de films et que les quantités de protéines fixées diminuent en fonction de la diminution du pourcentage de l'unité HV dans le copolymère. Le PHB est donc le matériau qui fixe les quantités minimales des différentes protéines: 250 ng/cm² pour l'albumine et 800 ng/cm² pour le fibrinogène.

L'allure des courbes de la Fig. 1 montre que l'adsorption protéique pour les trois films se fait en trois étapes:

1ère étape: elle se décompose en deux temps. Le premier temps correspond à une adsorption importante et partiellement réversible des protéines, au cours des premières minutes de contact entre le matériau et la solution protéique. Cette étape, de courte durée, correspond à une phase de transition au cours de laquelle les protéines subissent de faibles

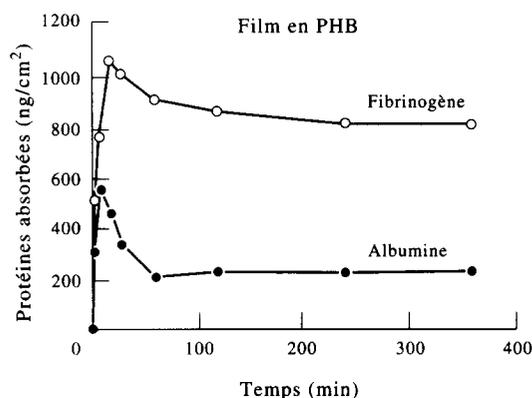
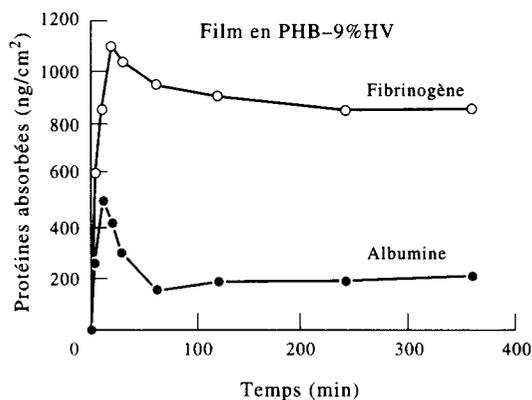
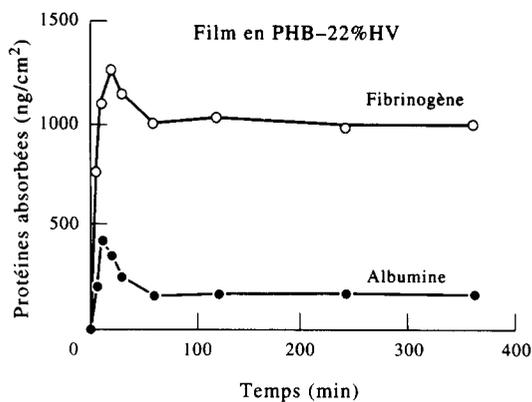


Fig. 1. Cinétique d'absorption de protéines en fonction du temps, à partir de solutions protéiques pures pour les films en PHB et ses copolymères.

changements conformationnels. La moitié des protéines, structures hautement dynamiques, qui se sont fixées au cours de cette étape réagiront encore avec leur micro-environnement. De ce fait, leur liaison avec le matériau sera réversible. Dans un second temps on assiste à un maximum d'interactions entre le matériau, les protéines adsorbées et celles en solution: le nombre total de protéines adsorbées atteint son maximum. Cette étape constitue un état de pseudo-équilibre.

2ème étape: Les protéines adsorbées subissent des changements conformationnels qui conduisent à une augmentation de la surface d'interaction. Au cours de ce processus, les protéines fortement adsorbées subis-

sent une désorption. Ceci se traduit par une inflexion des courbes.

3ème étape: elle caractérise l'état d'équilibre. Celui-ci est atteint plus ou moins rapidement selon le système matériau-protéines étudié. Il correspond à un maximum de protéines adsorbées par saturation des sites aspécifiques et à une liaison protéine-matériau de type irréversible: le taux de désorption est minimum. Les courbes présentent alors un plateau.

(b) *Adsorption des protéines en fonction de la concentration (Fig. 2)*

Les films en PHB et ses copolymères ont été incubés dans des solutions protéiques pures de concentrations variables: 0,1; 2,5; 5; 10; 15; et 20 g/l

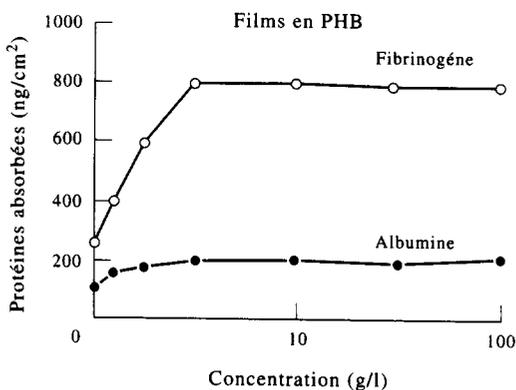
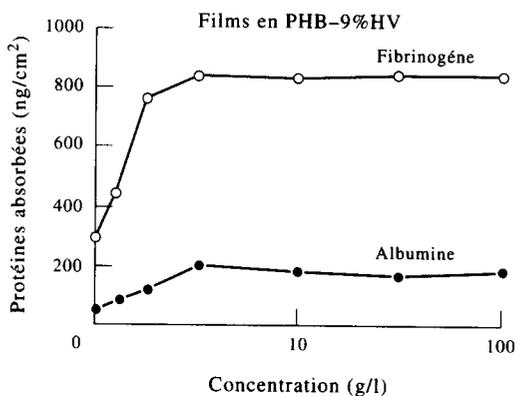
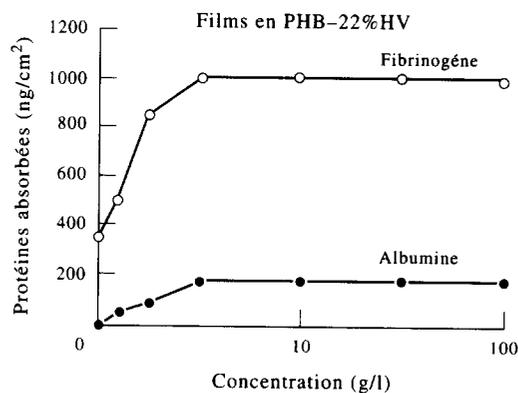


Fig. 2. Cinétique d'absorption de protéines en fonction de la concentration à partir de solutions protéiques pures pour les films en PHB et ses copolymères.

pendant un temps fixe, déterminé par l'expérience précédente et qui correspond au temps nécessaire pour que la cinétique d'adsorption atteigne un état d'équilibre.

La Fig. 2 montre que l'adsorption des protéines augmente en fonction de la concentration jusqu'à la saturation des sites de fixation. Au-delà de 5 g/l l'état d'équilibre est atteint entre les matériaux et les protéines en solution. Cet état d'équilibre correspond à des quantités maximales de protéines adsorbées.

Dans les deux cas (a) et (b) pour les différentes compositions en unités HV du polymère il apparaît d'une part que l'albumine est moins adsorbée que le fibrinogène et d'autre part que la quantité totale de protéines adsorbées par ces matériaux diminue en fonction de la diminution du pourcentage d'unité HV.

En général une surface plus lisse adsorbe moins de protéines qu'une surface moins lisse. Dans le cas de nos matériaux la diminution de l'adsorption protéique ne peut certainement pas être expliquée par un état de surface mais plutôt par sa physico-chimie car la surface la plus lisse observée en microscopie électronique à balayage est celle des films à 22% d'unité HV.

Le caractère hydrophobe de nos polymères explique cette différence d'adsorption pour les deux types de protéines.

(c) Corrélation entre l'ELS et l'adsorption protéique (Fig. 3)

Les deux expériences précédentes ont montré clairement qu'une fois l'adsorption protéique parvenue à un état d'équilibre, les quantités de protéines fixées par ces matériaux sont presque maximales et ne dépendent que faiblement du temps ou de la concentration protéique.

Afin de rechercher une éventuelle corrélation entre l'ELS et les quantités de protéines fixées, nous avons incubé nos matériaux ainsi que le Silastic™ pendant 6 hr à 37° dans des solutions protéiques pures, de concentration identique à la concentration plasmatique. Les films en PHB et ses copolymères ont été caractérisés par la méthode de l'angle de contact et comparés au Silastic™ de Dow Corning dont l'ELS est données par la Réf. [18]. Les valeurs des ELS obtenues sont présentées dans le Tableau 1.

La Fig. 3 corréle l'ELS aux quantités de protéines adsorbées à l'état d'équilibre pour chaque matériau. Nous constatons que l'adsorption de l'albumine augmente en fonction de l'augmentation de l'ELS: l'albumine étant la protéine la plus hydrophile, son adsorption augmente en même temps qu'augmente l'hydrophilie du matériau. Inversement dans le cas

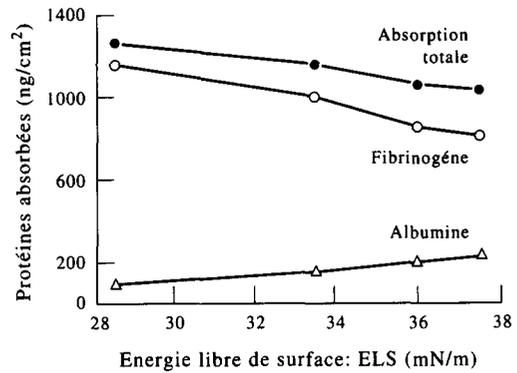


Fig. 3. Corrélation entre l'énergie libre de surface et l'absorption de protéines à partir de solutions protéiques pures, pour des films de Silastic™, PHB et ses copolymères.

du fibrinogène (protéine hydrophobe), on constate une augmentation de son adsorption en fonction de l'augmentation de l'hydrophobie des surfaces étudiées.

L'addition des deux phénomènes se traduit par une diminution de la quantité totale de protéines en fonction de l'augmentation de l'ELS. Absolom [18] a expliqué cette diminution par une diminution des interactions de ces protéines vis-à-vis des surfaces hydrophiles étant donné leur énergie de surface.

Ce résultat est conforme à la plupart des travaux concernant l'adsorption protéique [19, 20].

4.2. Adsorption Protéique à Partir de Solutions Protéiques Mixtes

Le même plan d'étude a été mené en mettant les matériaux en présence d'une solution protéique mixte. Des films de PHB et de ses copolymères ont été incubés afin de déterminer le temps nécessaire pour que la cinétique d'adsorption protéique se stabilise et que l'état d'équilibre dynamique soit atteint.

Nous avons incubé pendant ce temps fixé les films en PHB et ses copolymères ainsi que ceux traités par plasma et les films en Silastic™.

(a) Cinétique d'adsorption des protéines pour le PHB et ses copolymères (Fig. 4)

Au cours de la cinétique d'adsorption de protéines sur nos matériaux (Fig. 4), nous avons constaté l'effet de Vroman: la forte adsorption initiale d'albumine fait place à une désorption de l'albumine, remplacée par des IgG, à leur tour remplacées par des molécules de fibrinogène sur les mêmes sites de fixation.

A cet effet s'ajoute un second: la quantité d'albumine semble recommencer à croître avant d'atteindre l'état d'équilibre. Il pourrait s'agir là d'un effet déjà observé par Andrade [10].

A cet effet s'ajoute un second: la quantité d'albumine semble recommencer à croître avant d'atteindre l'état d'équilibre. Il pourrait s'agir là d'un effet déjà observé par Andrade [10] et Matsuda [21] dû à l'absorption d'une deuxième couche de protéines à la surface de la première. Or cette couche n'est pas du tout "physiologique" car, *in vivo*, ce sont généralement des phospholipides, des lipoprotéines

Tableau 1. Energie de surface des films non traités par plasma et testés en présence de solution pure protéique

Films	ELS totale (mN/m)	Comp. dispersive (mN/m)	Comp. polaire (mN/m)
Silastic™	28,4	19,36	9,0
P(HB-co-22%HV)	33,4	27,2	6,2
P(HB-co-9%HV)	35,9	27,4	8,6
PHB	37,4	27,4	10,0

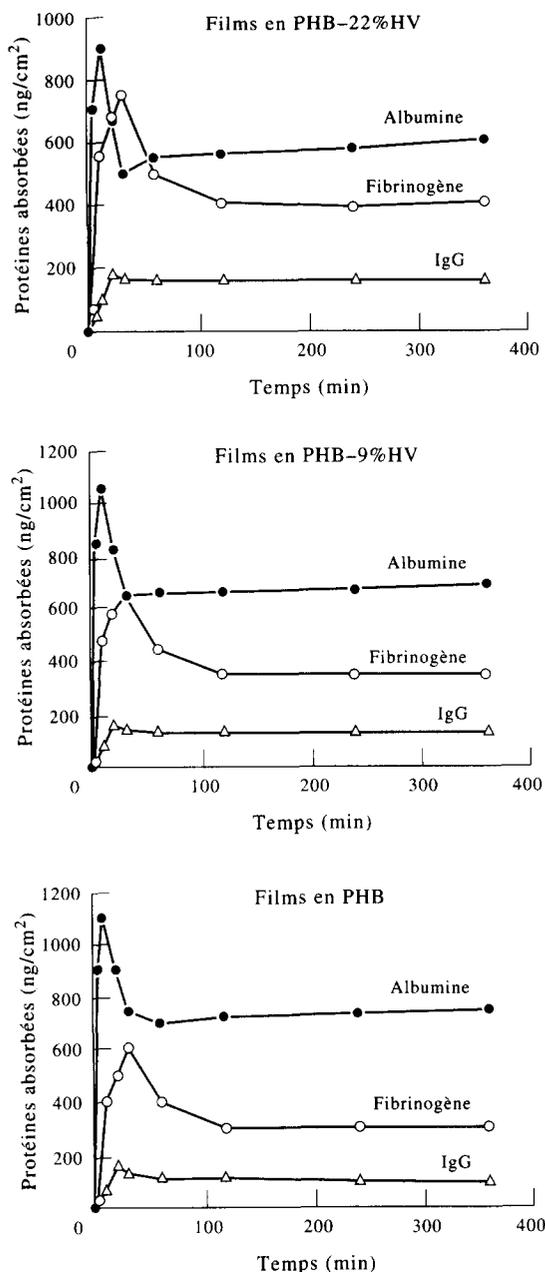


Fig. 4. Cinétique d'absorption de protéines en fonction du temps, à partir de solutions protéiques mixtes pour les films en PHB et ses copolymères.

et finalement des plaquettes qui viennent se fixer à la surface des protéines adsorbées. L'expérience étant menée *in vitro* l'absence de ces molécules provoque la formation de plusieurs couches successives.

L'observation de la Fig. 4, montre que le PHB et ses copolymères fixent essentiellement l'albumine alors que le fibrinogène est moins adsorbé. On observe ici un phénomène inverse de celui décrit précédemment lors de l'utilisation de solutions protéiques pures. Ceci suggère une compétition entre les protéines en solution vis-à-vis de leur site d'adsorption sur les matériaux testés. Cet effet compétitif pourrait s'expliquer par une diminution des sites de fixation pour le fibrinogène due à la diffusion

rapide de l'albumine qui occuperait la majorité des sites disponibles.

En conclusion, nous remarquons que le PHB fixe les protéines étudiées selon une cinétique lente qui pourrait être due à l'absence d'agitation de solution protéique. L'utilisation de solutions mixtes déclenche une compétition entre les protéines pour les sites de fixation. La cinétique globale semble vérifier l'effet Vroman selon lequel les protéines de faible taille comme l'albumine, diffusent plus rapidement et se fixent les premières sur la surface pour être remplacées par des protéines plus lourdes mais ayant une plus grande affinité pour la surface polymère, comme le fibrinogène.

(b) Corrélation entre l'ELS et adsorption de protéines

Nous avons essayé de rechercher une éventuelle corrélation entre l'ELS et le phénomène d'adsorption protéique. Les matériaux ont été incubés 6 hr dans des solutions mixtes de concentration plasmatique.

Nous disposons de films en PHB, en copolymères (à 9% et à 22% d'unités HV) et en Silastic™ ayant des ELS allant de 37,4 à 28,4 mN/m ainsi que de films traités par le plasma ayant des ELS allant de 28,4 à 18,8 mN/m pour les films traités par le PFH + H₂ et de 18,2 à 13,8 pour ceux traités par le PFH.

(b-1) Corrélation entre l'ELS des films non traités par plasma et l'adsorption protéique (Fig. 5). La Fig. 5 montre les mêmes effets que ceux observés lors de l'utilisation de solutions protéiques pures, à savoir une augmentation de l'adsorption de l'albumine et une diminution de l'adsorption du fibrinogène et des IgG en fonction de l'augmentation de l'ELS. On constate également une diminution de la quantité totale de protéines adsorbées lorsque l'ELS augmente. L'adsorption sélective de l'albumine par ces différents matériaux apparaît également dans cette expérience.

(b-2) Cas des films traités par plasma (Fig. 6). La Fig. 6 présente les quantités de protéines adsorbées sur deux types de films après 6 hr d'incubation en fonction de l'ELS. Ces films sont soit des films de PHB traités par des plasmas de PFH, soit des films de PHB traités par des plasmas de PFH + H₂.

Les deux types de films se comportent qualitativement comme les autres matériaux testés et fixent

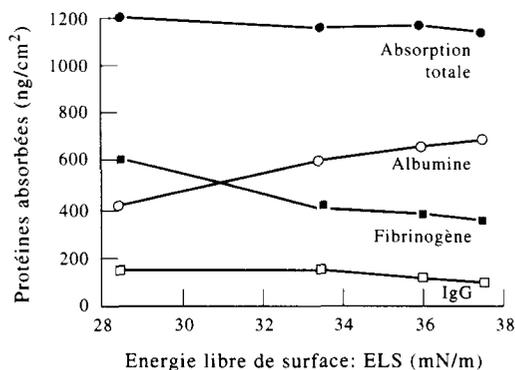


Fig. 5. Corrélation entre l'énergie libre de surface et l'absorption de protéines de solution protéique mixte, pour les films en Silastic™, en PHB et ses copolymères.

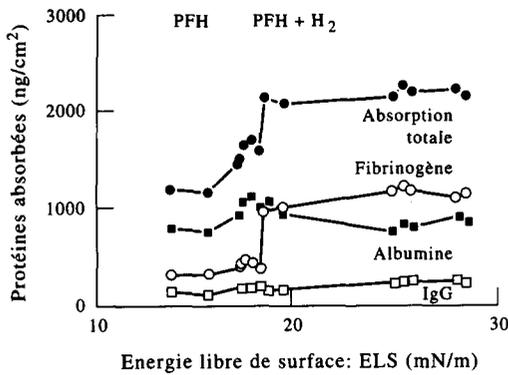


Fig. 6. Corrélation entre l'énergie libre de surface et l'adsorption de protéines à partir de solution protéique mixte pour les films en PHB traités par plasma de PFH et PFH + H₂.

beaucoup plus d'albumine et de fibrinogène par rapport aux IgG. Les films traités par le PFH adsorbent plus d'albumine que de fibrinogène alors que ceux traités par PFH + H₂ sembleraient fixer de façon équivalente ces deux protéines.

L'influence de l'ELS qui semble apparaître va à l'encontre des théories proposées dans la littérature [13, 17]. Ces théories proposent une fixation sélective de fibrinogène (plus hydrophobe) qui croît avec l'hydrophobie de la surface et une fixation sélective de l'albumine (plus hydrophile) en fonction de l'hydrophilie croissante des surfaces. Lorsque l'ELS augmente, on devrait observer une diminution des quantités de fibrinogène fixées et une augmentation de l'adsorption d'albumine.

Il semblerait, ici, que ce ne soit pas l'ELS qui détermine ces quantités mais plutôt l'état de surface: les quantités de protéines adsorbées augmentent en passant des films lisses recouverts d'une dépôt fluorocarboné par un plasma de PFH, aux films rugueux recouverts d'un dépôt par un plasma de PFH + H₂.

5. CONCLUSION

Etant donné que les quantités de protéines fixées diminuent quand augmente la rugosité des films, respectivement en copolymères à 22% et à 9% en unités HV et en PHB, nous pensons que dans le cas de ces matériaux les propriétés physiques n'influent pas sur l'adsorption protéique.

La chimie du PHB et celle de ses copolymères étant très voisines, il semblerait que les propriétés chimiques n'interviennent pas non plus dans le phénomène d'adsorption protéique.

L'utilisation du Silastic™ de chimie différente et de texture relativement identique à celle du copolymère à 22% d'unités HV a permis de mettre en évidence un effet de l'ELS conforme à ceux prédits par la littérature: chute de l'adsorption de molécules hydrophes (fibrinogène) conjointement à une augmentation de la fixation de molécules hydrophiles (albumine).

Dans le cas des films traités par plasma, il semblerait que malgré nos efforts pour obtenir des surfaces à texture et chimie fixes et ELS variables

permettant de mettre en évidence l'influence de ces propriétés physico-chimiques sur l'adsorption de protéines, ce soient les deux premières qui déterminent la quantité des protéines adsorbées.

Les différentes textures de surface semblent expliquer les différences de quantités totales de protéines fixées: les films traités par le PFH (lisses) fixent moins de protéines que ceux traités par un plasma additionné d'hydrogène qui donnent un dépôt assez rugueux.

La chimie de surface spécifique des films traités par le PFH + H₂ serait responsable de la forte fixation des IgG et de la moins forte fixation d'albumine, par rapport aux autres films étudiés. Ces derniers auraient plutôt tendance à n'absorber que faiblement les IgG.

Les films traités par plasma ont permis de confirmer la complexité des méthodes d'évaluation des interactions sang-biomatériaux en montrant combien il est important de contrôler les différents facteurs influençant ces interactions, pour essayer de mettre en évidence l'influence d'un facteur spécifique comme l'ELS.

BIBLIOGRAPHIE

1. S. D. Bruck. *Properties of Biomaterials in the Physiological Environment*. C.R.C. Press, Boca Raton, FL (1980).
2. L. Vroman et E. F. Leonard. *Ann. New York Acad. Sci.* **283**, 65 (1977).
3. L. Vroman et E. F. Leonard. *Ann. New York Acad. Sci.* **283**, 332 (1977).
4. S. D. Bruck. *Am. Chem. Soc. Polym. Prep.* **16(2)**, 152 (1975).
5. E. Niyas, W. A. Morton, R. D. Cumming, D. M. Lederman et T. H. Chiu. *Am. Chem. Soc. Polym. Prep.* **16(2)**, 165 (1975).
6. L. Vroman et E. F. Leonard. *Ann. New York Acad. Sci.* **283**, 17 (1977).
7. S. W. Kim, S. Wisniewski, E. S. Lee et M. L. Winn. *Am. Chem. Soc. Polym. Prep.* **16(2)**, 159 (1975).
8. L. Vroman et E. F. Leonard. *Ann. New York Acad. Sci.* **283**, 3 (1977).
9. L. Vroman et E. F. Leonard. *Ann. New York Acad. Sci.* **283**, 310 (1977).
10. J. D. Andrade et V. Hlady. *Adv. Polym. Sci.* **79**, 3 (1986).
11. A. Ben Aoumar. Synthèse et caractérisation de membranes bio- et hémocompatibles à base de polyhydroxybutyrate. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et techniques du Languedoc, France (1989).
12. S. Dawids et A. Bantjes. *Blood Compatible Materials and their Testing*. M. Nijhoff Publishers, Dordrecht for the E.E.C. (1986).
13. J. L. Brash et S. Uniyal. *J. Polym. Sci., Polym. Symp.* **66**, 377 (1979).
14. J. L. Brash. *Makromolek. Chem. Suppl.* **9**, 69 (1985).
15. J. M. Schakenraad et J. Noordmans. *Bio fouling*, **1(3)**, 193 (1989).
16. D. R. Absolum, W. Zingg et A. W. Neumann. *J. Biomed. Mater. Res.* **21**, 161 (1987).
17. S. L. Goodman, S. R. Simmons, S. L. Cooper et R. M. Albrecht. *J. Colloid Interface Sci.* **139(2)**, 561 (1990).
18. C. P. Sharma. *Biomaterials* **2**, 57 (1981).
19. J. L. Brash. *Makromolek. Chem. Macromolec. Symp.* **17**, 441 (1988).
20. R. Janzen, K. k. Unger, W. Mueller et M. T. W. Hearn. *J. Chromatogr.* **522**, 77 (1990).
21. T. Matsuda. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.* **30**, 353 (1984).

Abstract—The haemocompatibility of a material can be evaluated through the study of the adsorption of proteins stimulating the thrombus formation.

Films of polyhydroxybutyrate (PHB) and copolymers thereof containing respectively 9% and 22% of hydroxyvalerate (HV) were treated by perfluorohexane (PFH) and PFH + H₂ plasmas to study protein adsorption.

It has been shown that hydrophobic polymer films adsorb more albumin than fibrinogen. Moreover, the amounts of protein adsorbed seem to be mainly a function of the surface roughness of the films, the highest amounts being adsorbed on the rougher films (treated with PFH + H₂ plasma), while the smoother PFH-treated surfaces adsorbed less proteins.