

BIOMATERIALI V MEDICINI IN ODZIV TELESA NANJE

BIOMATERIALS IN MEDICINE AND TISSUE RESPONSE TO IMPLANTS

Lidija Gradišnik¹, Petra Falabella²,
Tomaž Velnar³

¹ Lidija Gradišnik, Laboratorij za celične kulture,
Medicinska fakulteta Maribor

² Petra Falabella, Medicinska fakulteta Ljubljana

³ Tomaž Velnar, Klinika za nevrokirurgijo,
Univerzitetni klinični center Ljubljana

AVTOR ZA KORESPONDENCO:

Dr. Tomaž Velnar, dr. med.,
Klinika za nevrokirurgijo,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Zaloška 7, 1000 Ljubljana; tvelnar@hotmail.com

1 UVOD

V sodobnem času postaja v medicini vse bolj pomembno področje biomaterialov in bioinženirstva. Čeprav ta dejavnost ni nova, so pomemben napredek omogočila spoznanja molekularne in celične biologije predvsem v zadnjih 20 letih. V začetnem obdobju pred 50 leti so začeli najprej z

POVZETEK

Področje biomaterialov in bioinženirstva postaja v sodobni medicini vse bolj pomembno. Glavni cilj je razvoj materialov, ki specifično reagirajo z biološkim okoljem, za katerega so jih razvili. Pri njihovi uporabi je pomembno upoštevati interakcije s tkivom ter molekularno-biološke in celične zakonitosti na področju med vsadkom in tkivom. Namestitve vsadka v organizem sproži vnetje s celjenjem poškodovanega tkiva, imunski odziv, reakcijo na tujek z zamejitvijo vsadka in sistemske reakcije, obstaja pa tudi nevarnost okužbe. Na življenjsko dobo vsadka vplivajo dejavniki organizma in vsadka. Cilji proučevanja biomaterialov so razumeti biološki odziv tkiva in organizma na umetne vsadke, kar je v zadnjih letih omogočilo napredek pri zasnovi novih umetnih materialov. V članku opisujemo reakcije organizma na vsadek in njihove mehanizme.

KLJUČNE BESEDE:

biotehnologija, biomateriali, celjenje, reakcija na tujek, vsadek, gostitelj

ABSTRACT

In modern medicine, biotechnology and use of biomaterials is gaining importance. Biomaterials, which are implanted into the body, need to show biocompatibility to normal tissues. Therefore, for the implant use and development, tissue-implant interactions with molecular, cellular and biological characteristics at the implant-tissue side are of vital importance. After implantation, various and tightly controlled events take place: inflammation and healing of tissue, immune response, and foreign body reaction. Potential hazards include systemic toxicity of the implant and imminent infection. In the article, host reactions to implants and their mechanisms are discussed.

KEY WORDS:

biotechnology, biomaterials, wound healing, foreign body reaction, implant, host

uporabo dobro poznanih sinteznih materialov, kasneje pa z analizo in proučevanjem novih materialov, iz katerih so izdelali vsadke za uporabo v medicini (1, 2). Prvih materialov, ki so jih uporabili za defekte tkiv, v osnovi niso razvili kot biomaterialne. Tako so bili kostni vsadki iz nizkorjavečega



jekla in drugih zlitin ali polietilena velike gostote. Metakrilatne polimere so uporabljali kot kostni cement in v dentalni medicini, iz vlaken polietilen tetraftalata pa so izdelovali krpice za umetne žile. V tem pionirskem obdobju so uporabljali tudi celulozne membrane, in sicer za filtre v dializnih napravah. Na začetku je bila znanost o biomaterialih najprej usmerjena v njihovo proučevanje v razmerah *in vitro*, ki so posnemale dogajanje v tkivih (3–7). Sledili so poskusi na živih sistemih, ki so omogočili spoznanja o biološkem odzivu tkiv na vsadke ter raziskave o uporabi alternativnih sestavin za biološke vsadke. Večina materialov je bila sinteznih in namenjena izdelavi trajnih vsadkov, ki naj bi nadomestili funkcijo in strukturo poškodovanih ali bolnih tkiv (8–12).

2 TKIVO IN BIOMATERIALI

Pri uporabi biomaterialov je pomembno upoštevati njihove interakcije s tkivom ter molekularno-biološke in celične zakonitosti na področju med vsadkom in tkivom. Proučevanje biomaterialov za žilne aplikacije tako vključuje interakcijo med krvjo in vsadkom, kot tudi dejavnike, ki vplivajo na odziv sestavin krvi na vsadek, in oceno teh pojavov. Pomembni dejavniki organizma pri interakcijah med krvjo in vsadkom so reakcije trombocitov, eritrocitov in levkocitov na umetni material, aktivacija komplementa, koagulacija, adsorpcija proteinov in fibrinolitična aktivnost (6, 7, 13). Na reakcijo krvnih komponent na vsadek vplivajo sestava biomateriala, prisotnost antitrombotičnega agensa, način uporabe in vrsta okvare, zaradi katere smo vsadek uporabili, in učinkovine zdravil, ki takrat delujejo v organizmu (14–16).

Cilji proučevanja biomaterialov so razumeti biološki odziv tkiva in organizma na umetne vsadke, kar je v zadnjih letih omogočilo napredek pri zasnovi umetnih materialov. Raziskovanje vpliva biomaterialov na organizem in vpliva organizma na vsadke se začne z raziskavami *in vitro*, ki so pomembne predvsem pri razvoju biomateriala in njegovi specifični uporabi. Sledijo proučevanja v razmerah *in vivo*, ki se nadaljujejo v klinične raziskave in končno v splošno uporabo vsadka (6, 15–17).

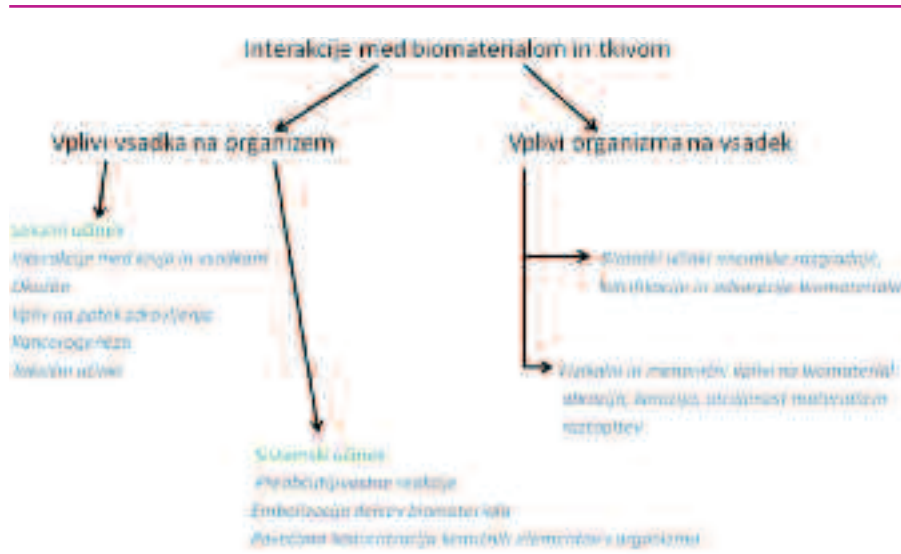
Nekateri biomateriali, ki jih uporabljamo za izdelavo vsadkov, se v tkivih čez čas razgradijo, drugi pa so trajni. Vsadki

so lahko izdelani iz različnih naravnih ali sinteznih biološko kompatibilnih materialov. Te lahko med seboj kombiniramo in neposredno oblikujemo v vsadke ali pa jih uporabljamo za prekrivanje površin vsadkov, ki so izdelani iz drugih materialov, s prekritjem pa zmanjšamo možnost zavrnitvenih reakcij. Med naravne ali biološke materiale sodijo sestavine zunajceličnega ogrodja, njihov izvor je submukoza tankega črevesa in mehurja. Prečiščeni naravni polimeri, ki jih uporabljamo za izdelavo biomaterialov, vključujejo fibrin, kolagen, polisaharide, laktat in lizin (6, 18, 19).

Sintezni polimeri predstavljajo dobro osnovo za izdelavo vsadkov, ker lahko z načinom kemijske sinteze in kombinacijo posameznih sestavin spreminjamo njihove značilnosti in lahko dobro nadzorujemo potek sinteze. Med sintezni materiali uporabljamo na primer poliuretan v umetnem srcu ali poliglikolno kislino, ki je osnova za resorbilne šive. Kaprolakton je sintezni polimer za prekrivanje sklepnih protez, ki izboljša njihove mehanske lastnosti in zmanjša obrabo kovinske površine. Iz metilmetakrilata in njegovih derivatov izdelujemo kostne nadomestke, poliuretan in silikon sta osnova za katetre in izolacijske ovoje žic srčnih spodbujevalnikov. Polipropilen in polietilen uporabljamo za izdelavo žilnih protez in mrežic za učvrstitev tkiva. Kovine, kot so aluminij, nikelj, titanij ter njihove zlitine, uporabljamo za izdelavo sklepnih protez, zobnih vsadkov in srčnih zaklopk. Za sklepne proteze in uporabo v dentalni medicini je zelo primerna keramika (6, 7, 19–21).

3 REAKCIJE TKIVA NA BIOMATERIALE

Vsadki so navadno dobro združljivi z okoliškim tkivom, služijo veliko časa in s tem odvisno od vzroka uporabe izboljšajo kakovost življenja ali podaljšajo preživetje (15). Vendar pa kirurška vsaditev materiala v organizem sproži določeno stopnjo vnetnega odziva in celjenje poškodovanega tkiva. Glede na sestavo, material, površino vsadka, način obrabe in kemičnega razkroja pa je možna še vrsta drugih odzivov, tako lokalnih kot sistemskih. Ti vključujejo imunski odziv, reakcijo organizma na tujek z zamejitvijo vsadka z vezivnim tkivom, nevarnost okužbe in vpliv na življenjsko dobo vsadka (15). Reakcije organizma so lahko tudi zelo izrazite, vodijo v okvaro tkiva in odpoved vsadka, ki se lahko konča tudi s smrtjo organizma.



Slika 1: Shematičen prikaz interakcij, ki potekajo med tkivom in biomaterialom v organizmu.
Figure 1: Schematic representation of interactions between biomaterial and tissue.

Interakcije med vsadkom in tkivom so številne. Razdelimo jih na dve skupini: 1) vplive vsadka na tkivo in 2) vplive organizma na vsadek, ki jih podrobneje prikazuje slika 1 (2, 6, 15, 22–24).

3.1 VNETNI ODZIV ORGANIZMA NA BIOMATERIAL IN CELJENJE TKIVA

Vnos biomateriala v tkivo s kirurškim posegom, injekcijo ali insercijo povzroči poškodbo tkiva in tkivni odziv. Procesi obnove poškodovanega tkiva si sledijo v štirih fazah: I) koagulacija in hemostaza, ki se začne takoj po poškodbi, II) vnetje, III) proliferacija, ki se začne po nekaj dneh in predstavlja glavno fazo celjenja ter IV) nastanek brazgotine (slika 2) (25–28).

I) Koagulacija in hemostaza

Ta proces se začne v rani takoj po poškodbi. Glavni cilj je preprečiti izkrvavitev. Drugi cilj je dolgoročen: krvni strdek bo osnova za vraščanje celic v kasnejših fazah celjenja (29, 30). Dinamično ravnotežje med endotelijskimi celicami, koagulacijskimi faktorji, trombociti in reakcijami fibrinolize uravnava hemostazo in določa količino odloženega fibrina v rani in ob vsadku ter s tem vpliva na kasnejše procese tkivne obnove (31).

Vsadev biomateriala povzroči poškodbo majhnih žil in iztekanje krvi v rano (31, 32). Poškodovane žile se hitro skrčijo, refleksna vazokonstrikcija lahko začasno zmanjša ali celo ustavi krvavitev. Čez nekaj minut žilni tonus popusti zaradi hipoksije in acidoze v žilni steni, ki povzročita sprostitve glad-

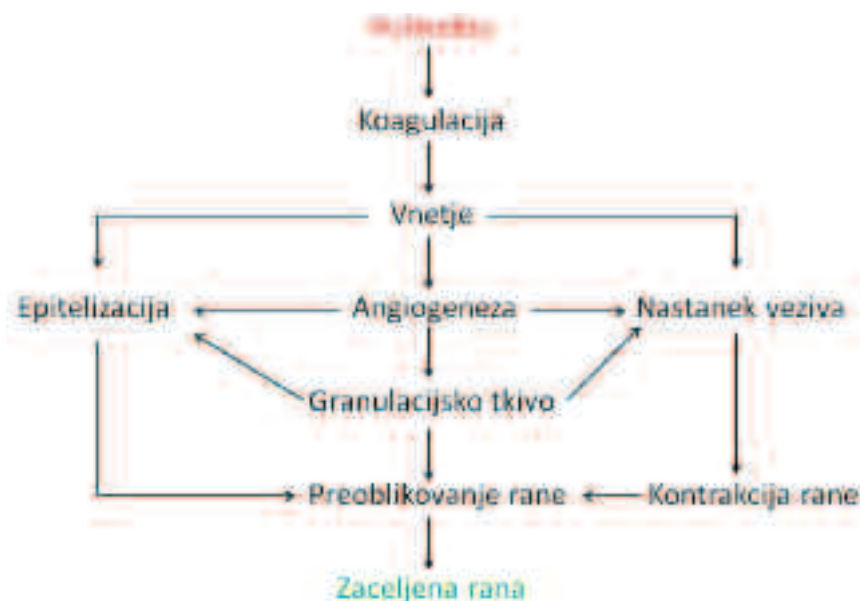
kih mišičnih celic in krvavitev se spet pojavi. Če v tem času ne bi prišlo do nastanka netopnega fibrinskega čepa, bi bili le žilni mehanizmi dolgoročno neučinkoviti (32, 33).

II) Vnetje

Koagulaciji in hemostazi sledita humoralna in celična vnetna faza. Cilj je nastanek imunske ograde okrog tujega materiala in z njim prispelih mikroorganizmov. Vnetni odziv na vsadke vključuje komponento akutnega in kroničnega vnetja ter reakcijo na tujek z nastankom granulacijskega tkiva. Površinske značilnosti biomateriala, organa, naprave ali proteze, regeneracijski potencial tkiva in stopnja poškodbe med implantacijo določajo značilnosti teh komponent (34). Vnetno obdobje vključuje zgodnjo in pozno vnetno fazo. Prva se začne v poznih obdobjih koagulacijske faze in ima številne funkcije. Aktivira komplementno kaskado in procese, ki v rano pritegnejo nevtrofilce. Njihova glavna naloga je preprečitev okužbe (34, 35). Pozna vnetna faza se začne 48 do 72 ur po poškodbi. Tukaj so najpomembnejši makrofagi, ki nadaljujejo s procesom fagocitoze. V rano jih pritegnejo številni kemotaktični dejavniki. Makrofagi so pomembni za pozne faze vnetnega odziva, kjer delujejo kot glavne regulatorne celice, ki aktivirajo keratinocite, fibroblaste in endotelijske celice (36–39). Zadnje celice, ki pridejo v rano v poznem vnetnem obdobju, so limfociti. Ti se na mestu poškodbe pojavijo po 72 urah (34, 39).

III) Proliferacija

Ko delovanje škodljivega dejavnika preneha, je hemostaza dosežena in imunski odziv uspešno poteka. Dogajanja v



Slika 2: Shematičen prikaz celjenja rane po implantaciji biomateriala v tkivo, povzeto po (35).

Figure 2: Schematic representation of wound healing after implantation of biomaterial, adopted from (35).

akutni rani se premaknejo v faze tkivne obnove (26, 34). Proliferativno obdobje se začne tretji dan po ranitvi in traja še približno dva tedna. Glavna značilnost je migracija fibroblastov in odlaganje novonastalega zunajceličnega ogrodja v rano, ki deluje kot nadomestek za začasno mrežo iz fibrina in fibronektina (39–41).

Migracija fibroblastov

Poškodba je sprožilni dejavnik za razmnoževanje fibroblastov in miofibroblastov v okolici rane. Fibroblasti se pojavijo v rani tretji dan po poškodbi. Po prihodu v rano se živahno razmnožujejo (42, 43). Ob koncu prvega tedna je zbranega že veliko zunajceličnega ogrodja, ki dalje pospešuje celično migracijo in je pomemben za proces tkivne obnove. Sedaj se fibroblasti spremenijo v miofibroblaste. Zaradi skrčenja celičnih izrastkov nastopi skrčenje rane, pomemben dogodek v procesu obnove, ki približa robove rane (43–44).

Sinteza kolagena

Kolageni so pomembne komponente v vseh obdobjih celjenja. Omogočajo čvrstost in integriteto tkiv, izdelujejo pa jih fibroblasti (44). Kolageni igrajo ključno vlogo v proliferativni fazi vnetja in v obdobju preoblikovanja rane ter delujejo kot osnova za nastanek zunajceličnega matriksa v rani (35).

Epitelizacija

Migracija epiteljskih celic poteka z robov rane. Začne se že v času nekaj ur po ranitvi. Najprej nastane enojna plast celic, ki prekrije tkivno vrzel. Spremlja jo povečana mitoti-

čna aktivnost ob robovih rane. Ko se napredujoče celice z robov srečajo, migracija preneha in začne se oblikovati bazalna membrana (39, 45).

Angiogeneza in nastanek granulacijskega tkiva

Nastanek in preoblikovanje novih krvnih žil nastopita istočasno z ostalimi procesi obnove. Rastni dejavniki, ki se izločajo že v obdobju hemostaze, privlačijo nevtrofilce in makrofage in pospešujejo angiogenezo (46). Tudi makrofagi sproščajo številne angiogene dejavnike in spodbujajo razmnoževanje novih celic. Kapilarni brstiči z robov rane vraščajo v krvni strdek v rani. Po nekaj dneh nastane mikrovaskularna mreža, sestavljena iz številnih novih kapilar. Makrofagi, fibroblasti in ožiljena stroma sestavljajo s kolagenom, fibrinogenom, fibronektinom in hialuronsko kislino akutno granulacijsko tkivo, ki nadomesti začasno fibrinsko mrežo. Z akumulacijo kolagena se gostota krvnih žil zmanjšuje in granulacijsko tkivo zori, kar vodi v nastanek brazgotine (47).

IV) Nastanek brazgotine in preoblikovanje rane

Preoblikovanje rane je zadnji proces celjenja. Oblikuje se nov epitelij in brazgotinsko tkivo se dokončno preoblikuje. Sinteza zunajceličnega ogrodja v proliferativnem obdobju in faza preoblikovanja se začneta sočasno z nastankom granulacijskega tkiva, trajata pa lahko tudi do eno ali dve leti, včasih celo dlje (42, 43). Natezna čvrstost rane raste sorazmerno z zbiranjem kolagena (48). Število fibroblastov in makrofagov se manjša, s časom preneha tudi rast kapilar, krvni pretok se zmanjša in presnovna aktivnost brazgo-

tine upade. Končno stanje je nastanek zrele brazgotine z veliko natezno čvrstostjo (48–50).

Reakcija na tujek

Reakcija na tujek, ki ga predstavljajo vgrajeni biomateriali, vključuje tri stopnje: začetno obdobje, progresijo in resolucijo. Sodelujejo makrofagi, zbrani na površini vsadka, in okoliško granulacijsko tkivo, ki ga sestavljajo fibroblasti, kolagenska vlakna in mlade kapilare (22). Makrofagi imajo glavno vlogo pri odzivu tkiva na vsadek. Ravne in gladke površine vsadka obdajo makrofagi v eni ali dveh plasteh, glavna komponenta pa je fibroza. Vsadki z grobo površino (žilne proteze) so obdani s plastjo makrofagov z različno količino granulacijskega tkiva. Takšna plast lahko obdaja vsadek tudi njegovo celotno življenjsko dobo in ga izolira od lokalnega tkiva (15). Končna stopnja celjenja tkiva ob vsadku je obnova: reparacija, kjer gre za razmnoževanje vezivnih celic z nastankom vezivne ovojnice, ali pa regeneracija, to je nadomestitev poškodovanega tkiva z enakimi parenhimskimi celicami kot pred poškodbo. Po poškodbi tkiva lahko pride tudi do sprememb v rasti in diferenciaciji celic s hipertrofijo, hiperplazjo, atrofijo ali metaplazijo. Tkivo lahko ob vsadku atrofira zaradi zmanjšane krvnega pretoka ali obremenitve. Ker vsadek deluje na tkivo kot tujek, zavira normalno celjenje. Zato je regeneracija (*restitutio ad integrum*) redek pojav. Lokalni in sistemski dejavniki z zadostnim krvnim pretokom, izpostavljenost okužbi, spremeljajoče bolezni, zdravila in zdravstveno stanje gostitelja vplivajo na končni izhod (51, 52).

3.2 Z VSADKOM SPROŽENA KARCINOGENEZA

Metaplazija celic je včasih lahko vzrok za karcinogenezo (53). Reakcija na tujek je osnova za vnetno reakcijo z razmnoževanjem celic, ki sicer omogoči vključitev vsadka v tkivo. Dolgotrajno vnetje pospešuje nastanek tumorskih celic, predvsem zaradi sproščanja reaktivnih kisikovih radikalov iz vnetnih celic, ki predstavljajo ene najmočnejših genotoksičnih dejavnikov, delno pa tudi zaradi spodbujanja trajnega razmnoževanja celic. Močna rast v vnetnem obdobju lahko vodi do nastanka preneoplastičnih celic ob vsadku, od okolice zamejenih z vezivno ovojnico. V obdobju mirovanja tkivne reakcije se te celice delijo in rastejo. Ko dokončno izgubijo vse kontrolne mehanizme proliferacije, sledi nekontroliran razrast sarkomskih celic (15, 53). Na karcinogenezo naj bi bolj vplivale fizikalne značilnosti tujkov kot kemijske. Čvrsti vsadki z veliko površino so najbolj karcinogeni. Manj je to izraženo pri vsadkih, ki so po

obliki zviti, imajo luknjičasto površino ali so v obliki drobnih delcev. Kemijska indukcija tumorja pa je seveda posledica kemijske sestave snovi (15, 51, 53).

3.3 IMUNSKI ODZIV ORGANIZMA

Glavni steber obrambe organizma je imunski odziv. Primarno je usmerjen proti mikrobom, aktivirajo pa ga lahko tudi tujki. Glavna naloga imunskega sistema je prepoznavanje in razločevanje tujih molekul od lastnih. Ločimo prirojeno in pridobljeno imunost, ki je lahko aktivna ali pasivna. Imunski odziv na biomaterialne vključuje aktivacijo I) humoralne in II) celične komponente (15, 54).

- I) Osnova humoralne komponente so protitelesa in komplementni sistem. Ko pride organizem prvič v stik z antigenom, se bo specifično protitelo pojavilo v serumu po nekaj dneh ali tednih, odvisno od značilnosti, količine in aplikacije antigena. Najprej se pojavijo protitelesa razreda Ig M, sledijo Ig G, Ig A ali obe. Ob ponovnem srečanju z enakim antigenom je odziv protiteles hitrejši zaradi spominskih celic, ki so občutljive na ta antigen. Količina nastalih protiteles Ig M je enaka kot med primarnim odzivom, količina Ig G pa je večja in ta protitelesa vztrajajo dlje (15, 54). Naloga komplementa je lokalizirana vnetna reakcija na tujek (54, 55).
- II) Celična komponenta vključuje številne tipe celic in njihove produkte. Makrofagi predstavljajo antigene limfocitov T preko beljakovin glavnega histokompatibilnega kompleksa, ki se nahajajo na površini. Limfociti T antigene prepoznajo in specifičen klon celic T se začne razmnoževati. Celice T uvrščamo v dve kategoriji: CD4 (vnetne celice TH1, ki aktivirajo makrofage, in celice pomagalk TH2, ki aktivirajo celice B, da začnejo z izdelovanjem protiteles) ter CD8. To so citotoksične celice, ki prepoznavajo tumorske ali z virusi okužene celice in jih uničijo (15, 54).

3.4 INTERAKCIJA MED KRVJO IN VSADKOM TER KOAGULACIJA

Poškodba tkiva ob implantaciji povzroči poškodbo žil in aktivacijo homeostatskih mehanizmov, ki preprečujejo izkrvavitve. Tudi stik tujega materiala s krvjo sproži podobno reakcijo. Pri obeh gre za sodelovanje vsadkov in žilne površine, trombocitov in koagulacijskih faktorjev, kar vodi do nastanka krvnega strdka. Kontrolni mehanizmi omogočajo, da je proces omejen le na področje okvare in pretok krvi v okolici ostane nemoten. Iztrženje kontrolnega mehanizma lahko sproži napredujoče strjevanje krvi, širjenje tromboze



iz predela žile z vstavljenim umetnim materialom in njeno zaporo (15, 28–31).

Umetne površine in poškodovane stene krvnih žil sprožijo adhezijo trombocitov, ki ji sledi aktivacija, sekrecija in trombocitna agregacija. Trombociti se povežejo s fibrinom, ki nastane iz fibrinogena. V krvni plazmi pod vplivom trombina nastane čvrst krvni strdek, ki se nato še skrči in približa robove poškodovane žile (31–33).

3.5 SISTEMSKI VPLIV BIOMATERIALOV NA ORGANIZEM

Sistemski vpliv biomaterialov na organizem je lahko posledica prekomerno izražene vnetne reakcije, nastanka vazoaktivnih produktov in aktivacije imunskega sistema ali neposrednega toksičnega delovanja sestavin vsadka, ki se sproščajo iz njega in lahko poškodujejo tarčne organe. Biomateriali so navadno sestavljeni iz številnih komponent in vsaka od njih lahko vpliva na tkivo. Ni pomembna le kemijska sestava, ampak tudi oblika, velikost in količina delcev, ki se sproščajo. Pred splošno klinično uporabo je pomembno testiranje biomaterialov na celičnih kulturah in proučevanje vpliva nanje. Verjetno je to vzrok za razmeroma majhno pogostost toksičnih vplivov (15, 57).

Preobčutljivostne reakcije na biomateriale največkrat opisujejo v zvezi z vgraditvijo kostnih protez (umetnih sklepov), ki vsebujejo številne sestavine, kot so kovinske, polimerne in keramične, pa tudi v zvezi s silikonskimi strukturami in kolagenom, predvsem tistim, ki ni človeškega izvora, saj je močen antigen.

4 SKLEP

Glavna cilja znanosti o biomaterialih sta razvoj in raziskovanje materialov, ki specifično reagirajo z biološkim okoljem, za katerega so jih razvili. Biomateriali naj bi delovali kot začasna sidrišča ali kalupi za izdelavo trodimenzionalnih tkivnih struktur, ki jih kolonizirajo specifični tipi celic (3, 8, 9). Glavni namen je omogočiti boljšo regeneracijo tkiva in čim manjšo reakcijo gostitelja na biomaterial. Posebna, nova funkcija biomaterialov je tudi njihova uporaba pri prenosu molekul v tarčna tkiva pri zdravljenju bolezni, kot je na primer vnos inkapsuliranih genov v celice bolnih tkiv (54–60).

5 LITERATURA

1. Rossomondo EF. *Prosthodontics and implants: from xenodontics to biodontics*. *Compend Contin Educ dent* 2007; 28: 418–420.
2. Binyamin G, Shafi BM, Mery CM. *Biomaterials: a primer for surgeons*. *Semin Pediatr Surg* 2006; 15: 276–283.
3. avaro M, Michiardi A, Castaño O et al. *Biomaterials in orthopaedics*. *J R Soc Interface* 2008; 5: 1137–1158.
4. Zim S. *Skeletal volume enhancement: implants and osteotomies*. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 12: 349–356.
5. Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. *Bioactive sol-gel foams for tissue repair*. *J Biomed Mater Res* 2002; 59: 340–348.
6. Courtney JM, Irvine L, Jones C et al. *Biomaterials in medicine—a bioengineering perspective*. *Int J Artif Organs* 1993; 16: 164–171.
7. Warren SM, Sylvester K, Chen CM et al. *New directions in bioabsorbable technology*. *Orthopedics* 2002; 25: 1201–1210.
8. Wilkinson CD. *Making structures for cell engineering*. *Eur Cell Mater* 2004; 22: 21–26.
9. Sigler M, Paul T, Grabitz GR. *Biocompatibility screening in cardiovascular implants*. *Z Kardiol* 2005; 94: 383–391.
10. Greisler HP, Petsikas D, Lam T et al. *Kinetics of cell proliferation as a function of vascular graft material*. *J Biomed Mater Res* 1993; 27: 955–961.
11. Padera RF, Colton CK. *Time course of membrane microarchitecture-driven neovascularization*. *Biomaterials* 1996; 17: 277–284.
12. Kirkpatrick CJ, Krump-Konvalinkova V, Unger RE et al. *Tissue response and biomaterial integration: the efficacy of in vitro methods*. *Biomed Eng* 2002; 19: 211–217.
13. Greisler HP, Joyce KA, Kim DU et al. *Spatial and temporal changes in compliance following implantation of bioresorbable vascular grafts*. *J Biomed Mater Res* 1992; 26: 1449–1461.
14. Brauker JH, Carr-Brendel VE, Martinson AL et al. *Neovascularisation of synthetic membranes directed by membrane microarchitecture*. *J Biomed Mater Res* 1995; 29: 1517–1524.
15. Anderson JM, Gristina AG, Hanson SR et al. *Host reactions to biomaterials and their evaluation*. In: Rattner BD, Hoffman AS. *Biomaterials science*. Academic Press, 1996: 165–214.
16. Greisler HP, Dennis JW, Endean ED et al. *Derivation of neointima in vascular grafts*. *Circulation* 1988; 78: 6–12.
17. Tardio E, Biondo B, Caputo V et al. *Biodegradation of dacron vascular prosthesis. Physico-chemical, histological, morphometric and ultrastructural study*. *Minerva Cardioangiol* 1993; 41: 59–80.
18. Browne S, Pandit A. *Biomaterial-mediated modification of the local inflammatory environment*. *Front Bioeng Biotechnol* 2015; 3: 67.
19. Langer R, Vacanti J. *Tissue engineering*. *Science* 1993; 260: 920–926.
20. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. *Foreign body reaction to biomaterials*. *Semin Immunol* 2008; 20: 86–100.
21. Puskas JE, Chen Y. *Biomedical application of commercial polymers and novel polyisobutylene-based thermoplastic elastomers for soft tissue replacement*. *Biomacromolecules* 2005; 5: 1141–1154.
22. Anderson JM. *Inflammatory response to implants*. *Asaio Trans* 1988; 34: 101–107.

23. Albrektsson T. Hard tissue implant interface. *Aust Dent J* 2008; 3: 34–38.
24. Christensen L. Normal and pathologic tissue reactions to soft tissue gel fillers. *Dermatol Surg* 2007; 33: 168–175.
25. Vanwijck R. Surgical biology of wound healing. *Bull Mem Acad R Med Belg* 2001; 115: 175–184.
26. Degreef HJ. How to heal a wound fast. *Dermatol Clin* 1998; 2: 365–375.
27. Attinger CE, Janis JE, Steinberg J et al. Clinical approach to wounds: debridement and wound bed preparation including the use of dressings and wound-healing adjuvants. *Plast reconstr Surg* 2006; 117: 72–109.
28. Szycher M, Lee SJ. Modern wound dressings: a systematic approach to wound healing. *J Biomater Appl* 1992; 7: 142–213.
29. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117: 12–34.
30. Pool JG. Normal hemostatic mechanisms: a review. *Am J Med Technol* 1977; 8: 776–780.
31. Lawrence WT. Physiology of the acute wound. *Clin Plast Surg* 1998; 3: 321–340.
32. Strecker-McGraw MK, Jones TR, Baer DG. Soft tissue wounds and principles of healing. *Emerg Med Clin North Am* 2007; 1: 1–22.
33. Natarajan S, Williamson D, Stiltz AJ et al. Advances in wound care and healing technology. *Am J Clin Dermatol* 2000; 5: 269–275.
34. Hart J. Inflammation 1: Its role in the healing of acute wounds. *J Wound Care* 2002; 6: 205–209.
35. Robinson MC, Steed DL, Franz MG. Current problems in surgery. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Mosby* 2001; 2: 71–140.
36. Flangan M. The physiology of wound healing. *J Wound Care* 2000; 6: 299–300.
37. Richardson M. Acute wounds: an overview of the physiological healing process. *Nurs Times* 2004; 4: 50–53.
38. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117: 1–32.
39. Hunt TK, Hopf H, Hussain Z. Physiology of wound healing. *Adv Skin Wound Acre* 2000; 13: 6–11.
40. Glat PM, Longaker MT. Wound healing. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CH. *Grabb and Smith's plastic surgery*. Lippencot, 1997: 3–12.
41. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004; 9: 283–289.
42. Witte MB, Barbul A. general principles of wound healing. *Surg Clin North Am* 1997; 3: 509–528.
43. Ramasastry SS. Acute wounds. *Clin Plast Surg* 2005; 2: 195–208.
44. Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem cell Biol* 1998; 9: 1019–1030.
45. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg* 2005; 6: 674–686.
46. Servold SA. Growth factor impact on wound healing. *Clin Podiatr Med Surg* 1991; 4: 937–953.
47. Moon JJ, Matsumoto M, Patel S, et al. Role of cell surface heparin sulphate proteoglycans in endothelial cell migration and mechanotransduction. *J Cell Physiol* 2005; 1: 166–167.
48. Clark RA. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. *Am J Med Sci* 1993; 1: 42–48.
49. Mulder GD, Vande Berg JS. Cellular senescence and matrix metalloproteinase activity in chronic wounds. Relevance to debridement and new technologies. *J Am Podiatr Med Assoc* 2002; 1: 34–37.
50. Falanga V. Wound healing and chronic wounds. *J Cutan Med Surg* 1998; 3: 1–5.
51. Luttkhuizen DT, Harmsen MC, Van Luyn MJ. Cellular and molecular dynamics in the foreign body reaction. *Tissue Eng* 2006; 12: 1955–1970.
52. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol* 2008; 20: 86–100.
53. Okada F. Beyond foreign-body-induced carcinogenesis: impact of reactive oxygen species derived from inflammatory cells in tumorigenic conversion and tumor progression. *Int J Cancer* 2007; 121: 2364–2372.
54. Lim WH. The complement system. Activation, modulation, and clinical relevance. *Dermatol Clin* 1990; 8: 609–618.
55. Bohana-Kashtan O, Ziporen L, Donin N et al. Cell signals transduced by complement. *Mol Immunol* 2004; 41: 583–579.
56. Jespersen J. Pathophysiology and clinical aspects of fibrinolysis and inhibition of coagulation. Experimental and clinical studies with special reference to women on oral contraceptives and selected groups of thrombosis prone patients. *Dan Med Bul* 1988; 1: 1–33.
57. Patel ZS, Mikos AG. Angiogenesis with biomaterial-based drug- and cell-delivery systems. *J Biomater Sci Polym Ed* 2004; 15: 701–726.
58. Podack ER, Tschopp J. Membrane attack by complement. *Mol Immunol* 1984; 21: 589–603.
59. Mueller-Eberhard HJ. The killer molecule of complement. *J Invest Dermatol* 1985; 85: 47–52.
60. Langer R. Biomaterials in drug delivery and tissue engineering. *Acc Chem Res* 2000; 33: 94.

