

Bioinjekcijsko prešanje živoga tkiva^a

Priredili: Igor ČATIĆ i Gordana BARIĆ

Uvod

Jedan od najizraženijih trendova u suvremenoj umjetnoj tehnici je povezivanje dviju umjetnih tehnika, biotehnike (umjetne tehnike živoga) i tehnike (umjetne tehnike neživoga).¹ U taj trend uklapa se i postupak bioinjekcijskog prešanja živoga tkiva. Uvrštenje tog postupka među postupke injekcijskog prešanja tvari ili materijala bilo je moguće na temelju vlastite definicije injekcijskog prešanja (tlačnog lijevanja) koja je neovisna o vrsti tvari koja se praoblikuje i o njezinu podrijetlu (živo, neživo).² Ona glasi: *Injekcijsko prešanje tvari je ciklički postupak ubrizgavanja tvari potrebne smične viskoznosti u temperiranu kalupnu šupljinu. Tvar očvršćuje u tvorevinu, otpresak polimeriziranjem i/ili umreživanjem i/ili pjenjenjem, hlađenjem i/ili geliranjem ili na neki sličan način.* To se sada naziva sintezologijski pristup.³ Stoga je odlučeno da se taj tekst prenese u časopis.

Zašto bioinjekcijsko prešanje živoga tkiva?⁴

Samo u SAD-u godišnje se obavi više od milijun kirurških zahvata radi nadomještanja pojedinih kostiju ili hrskavičnoga tkiva. Rekonstrukcija oblika glave i vrata velik je izazov zbog jedinstvenoga geometrijskog oblika kostiju lica koji zahtijeva visoku kompleksnost i preciznost pri proizvodnji odgovarajućih usadaka. Zbog brojnih razloga ne zadovoljava pravljenje takvih usadaka od tuđega tkiva (imunofsne komplikacije, infekcije) i od vlastita tkiva (vrlo ograničene mogućnosti korištenja kostiju rebra i kuko-va te otežano preoblikovanje). Uporabu prethodno oblikovanih usadnih proteza načinjenih od materijala kao što su npr. polipropilen, silikon ili poli(tetrafluoretilen) često prate komplikacije kao što su povišena vjerojatnost infekcija i odvajanje usadaka s mjesta ugradnje. Stoga je razvijen patentirani postupak (bio)injekcijskog prešanja živoga tkiva (e. *injection moulding of living tissue*, nj. *Spritzgießen des lebendigen Gewebes*). Taj se postupak ubraja u područje tehnike živoga tkiva (e. *tissue engineering*), a predstavlja bitan napredak prema uobičajenim postupcima u toj tehnici.

Postupkom bioinjekcijskog prešanja može se načiniti usadak ili tvorevina od biološkoga tkiva bilo kojeg oblika ili veličine, s time što se

i veličina i oblik mogu precizno kontrolirati. Konstrukcija od živoga tkiva može se rabiti za popravak, rekonstrukciju ili modificiranje vanjskih ili unutarnjih anatomskih struktura, npr. nosa ili uha. U sklopu patenta moguće je načiniti precizno oblikovan komadić kosti – usadak, koji služi popravku oštećenja ili deformacije negdje na kosturu. Npr. može se proizvesti dio kosti za rekonstrukciju kostiju lica zbog ozljeda nastalih kao posljedica u automobilskim nesrećama.

Oprema⁴

Osnovu za bioinjekcijsko prešanje čini silikonski kalup za injekcijsko prešanje. Kao jedinica za ubrizgavanje služi štrcaljka koja završava iglom koja zamjenjuje klasičnu mlaznicu. Time je određena i priroda procesa. Riječ je o niskotlačnome injekcijskom prešanju žive tvari s niskim tlakom u kalupnoj šupljini.

Temelj uspješnoga bioinjekcijskog prešanja živoga tkiva čini odgovarajući oblik kalupne šupljine. Početne, anatomske informacije određuju se uređajem za magnetnu rezonanciju ili kompjutorsku tomografiju (CT). Izlazni podatci s uređaja za magnetnu rezonanciju ili CT uređaja služe kao ulazni podatci za sustave za konstruiranje i izradbu s pomoću računala (CAD/CAM) te za brzu proizvodnju prototipova s pomoću kojih se izrađuju vrlo kvalitetni precizni kalupi u kojima se praoblikuju željeni dijelovi tijela načinjeni od biološkoga materijala. Programska podrška za CAD/CAM je u komercijalnoj uporabi te se može rabiti kako bi se načinili kalupi pogodni za izradbu tvorevina^b od živoga tkiva.

Osim opisanoga načina pravljenja potrebnih kalupa moguća je i njihova jednostavnija proizvodnja od niskomolekulnoga silikonskoga kaučuka s reaktivnim krajnjim skupinama⁵ i potrebnih dodataka (npr. smjesa *Silastic ERTV* proizvođača *Dow Corning*). Npr. kalup se može načiniti uranjanjem polovice modela u otopinu smiješanih sastojaka *Silastic ERTV* i nakon toga se smjesa stavi u peć pri 27 °C tijekom 30 minuta. Nakon što dno očvršne, otprilike jednaka količina neumrežene smjese silikonskoga kaučuka nalije se preko modela do visine od 2 cm i umrežuje pri 27 °C. Nakon odvajanja gornjega i donjeg dijela kalupa model se može ukloniti.

Opis postupka⁴

Najprije je potrebno pripremiti potrebne stanice. One se izdvajaju iz kosti ili hrskavice standardnim postupcima odvajanja. Npr. hrskavica se reže na komadiće debljine 1 do 3 mm te se dalje usitnjava s pomoću enzima ili druge kemikalije koja razdvaja stanice, ali ih ne uništava, kao što je npr. kolagen.

Izdvojene matične stanice određenoga živoga tkiva zatim se polažu u hidrogel, primjerice 2-postotni alginat, kako bi se dobila suspenzija u otopini živih stanica i hidrogela te tvari koja omogućuje geliranje i potrebno umreživanje, a koja se zatim ubrizgava i praoblikuje u kalupu. U kalupu se s pomoću gela potiče kontrolirana razina geliranja i umreživanja praoblikovane suspenzije. Tako očvršnuta trodimenzionalna tvorevina vadi se iz kalupa. U slučaju alginata vrijeme očvršćivanja je oko 15 minuta.

Hidrogel je tvar koja nastaje kada se organski polimer (prirodni ili umjetni) počne gelirati kako bi stvorio trodimenzionalnu otvorenu rešetku koja hvata molekule vode ili druge otopine, s pomoću koje nastaje gel. Geliranje se može izazvati agregacijom, koagulacijom, hidrofobnim interakcijama i umreživanjem. Hidrogel koji se rabi u opisanome postupku vrlo brzo gelira kako bi se čestice zadržale u kalupu do nastajanja gela. Hidrogeli su biokompatibilni, naime nisu otrovni za stanice uhvaćene u njima.

Spoj hidrogela i stanica je suspenzija hidrogela koja sadržava matične stanice određenoga tkiva. Potrebne stanice mogu se izdvojiti izravno iz izvornoga tkiva ili mogu biti dobivene iz kulture određenih stanica. Tkivo čine nakupine tih stanica ugrađenih u svoju prirodnu matricu koja se proizvodi od određenih matičnih stanica. Konstrukcija od živoga tkiva je kolekcija živih stanica koja ima određeni oblik i strukturu. Kako bi ostale žive, stanice moraju imati mogućnost održavanja vlastita metabolizma, ali ne moraju biti sposobne rasti ili se reproducirati. Naravno, tvorevina od živoga tkiva može sadržavati, a u nekim je slučajevima to i poželjno, stanice koje rastu i/ili se mogu reproducirati.

Za bioinjekcijsko prešanje rabe se epidermalne stanice, hondrociti, kao i druge stanice koje oblikuju hrskavicu, stanice kože, mišića, kose, pojedinih organa, osteoblasti, osteo-

^a Kao osnova za ovaj tekst poslužio je istoimeni odlomak u knjizi: Čatić i., Johannaber F.: *Injekcijsko prešanje polimera i ostalih materijala*, Društvo za plastiku i gumu, Zagreb, 2004.

^b U izvorniku je upotrijebljena engleska riječ *construct*, koja se može prevesti kao konstrukcija ili, općenitije, tvorevina. Odlučuje se za tvorevinu.

citi i druge stanice koje tvore kosti, stanice koje oblikuju slušne kanale itd.

Hidrogel može biti alginat (koncentracije od 0,5 do 8 %), citosan, pluronik, kolagen ili agarosa. Hidrogeli također mogu biti polisaharidi, bjelančevine, polifosfazeni, poli(oksietilen)-poli(oksipropilen), blok-polimeri etilen-dimina, poliakrilne kiseline, kopolimeri akrilne kiseline, metakrilne kiseline, poli(vinil-acetat) ili polimeri na osnovi sulfona. Ovim se postupkom, ovisno o hidrogelu, stvaranje gela postiže uvođenjem odgovarajuće koncentracije dvovalentnih kationa (npr. Ca^{++}) kapljevitom hidrogelu (npr. u koncentraciji od 0,2 g/ml alginatne otopine).

Kada se željena tvorevina načini, ona se može izravno usaditi u tijelo ili dalje uzgajati kako bi stanice mogle rasti unutar

hidrogelnog oblika, npr. u vremenu od 1 do 30 dana.

Postupak omogućuje preciznu izradbu tvorevina različitih oblika, npr. mogu imati točno određen oblik hrskavice određenoga zglobnog sklopa, kosti, dijela kosti ili nastaloga oštećenja kosti. Ovim se postupkom mogu praviti potrebne tvorevine i za sisavce. Istodobno se bioinjekcijskim prešanjem smanjuje broj koraka nužnih pri pravljenju preciznih trodimenzionalnih bioloških izradaka. Postupak osigurava bolju raspoređenost matičnih stanica u tvorevini, čime je povećana učinkovitost ukupnoga sadržaja stanica u izratku.

Zahvala

Rad je pripremljen u sklopu znanstvenog projekta Primjena sustavnosne teorije u

raščlambi opće tehnike (2007. – 2010.). Autori zahvaljuju Ministarstvu znanosti, obrazovanja i športa na potpori.

Literatura

1. Čatić, I.: *Prirodna tehnika uzor je umjetnoj, čovjekovoj tehnici*, Polimeri 29(2008)3, 175-177.
2. Čatić, I., Razi, N., Raos, P.: *Analiza injekcijskog prešanja polimera teorijom sustava*, Društvo plastičara i gumaraca, 1991.
3. Čatić, I.: *Sintezologija sve važnija*, Sustavsko mišljenje 18(1)2-3(2009).
4. Bonassar, L. J., Rowley, J. A., Mooney, D. J.: *Injection molding of living tissues*, US Patent No. 6773713, 10. 8. 2004.
5. Alger, M. S.: *Polymer Science Dictionary*, Elsevier Applied Science, London 1989, str. 439.6.

Brtvljenje u prirodi i tehnici

Privedila: Đurđica ŠPANIČEK

Knjiga Dichtungstechnik Jahrbuch 2006. zanimljivošću teme, a riječ je o brtvljenju u prirodi i tehnici, prelazi okvire rubrike o prikazima knjiga. Stoga se u ovoj rubrici opširnije prenose temeljne misli o tome, i za tehniku važnom području djelovanja.

Najprije uobičajeni podatci o knjizi *Brtvljenje – Godišnjak 2006.* (urednici: Berger/Kiefer, Hüthig Verlag Heidelberg, ISBN 3-7785-2961-7).



Godišnjak o brtvljenju trajno je aktualan. Ono što ga izdvaja od sličnih izdanja jest činjenica da je upravo te godine kao primjer za jedno tako zahtjevno područje uzeta priroda i primjeri brtvljenja u prirodi. Priroda je jedinstvena i daje interesantna rješenja

za postupke brtvljenja. Stoga izdavači priručnika, u kojem je sakupljeno obilje različitih primjera iz područja brtvljenja, ali i ispitivanja, razmatranja uzorka zakazivanja te područja lijepljenja, navode kao cilj trijalog između znanosti, proizvođača brtvi i korisnika.

Može li se brtvljenje učiti od bionike? Priroda je izvor mnogobrojnih primjera postupaka brtvljenja, pa se odmah može postaviti pitanje je li biologija dovoljna kao izvor ideja. Jer proces brtvljenja poznat je i u kristalografiji i geologiji.

Bioničari uobičajeno pokušavaju preslikati mehanizme iz prirode za različite kreativne procese u različitim industrijskim granama. Upravo posljednjih godina pojavili su se mnogobrojni članci koji upućuju na kreativnu metodiku bionike, sinteze biologije i tehnike. I u *Polimerima* su višekratno objavljivani opširni tekstovi o utjecaju prirode na tehniku njemačkog bioničara W. Nachtigala (*Građevni materijal i lake konstrukcije u prirodi* (Polimeri 4(1983)9-10, 285-287 i *Bionika - granično područje biologije i tehnike*, Polimeri 17(1996)3, 151-162).

Postoji čitav niz brtvenih sustava u ljudskom tijelu: otvori poput usta, nosa, očiju, ušiju, vaginalni, urinarni, rektalni, pa konačno i pore na koži. Unutrašnjost ljudskog tijela pokazuje isto tako različite brtvene sustave: izmjenično brtvljenje dišnoga i probavnog sustava, polupropusne membrane u plućima, srčani zalisci, povratni ventili u venama. Svi ti sustavi funkcioniraju pratički

danonočno. Čitav niz bolesti javlja se kada se poremeti funkcija brtvi u organizmu.

Zanimljivi su i brtveni sustavi u životinjskom svijetu. Već samo različiti oblici očiju i šarenice zadržavaju posebice brtvljenje očnih kapaka i kože guštera. Kod svih živućih bića zaštita očiju od najveće je važnosti: zaštita od ekstremnih klimatskih uvjeta, mehaničkih oštećenja i od prejakog djelovanja sunca. Za ovo posljednje uglavnom je odgovorna šarenica, koja se s pomoću prstenastog mišića može zatvoriti do potpuno male pukotine, a u tami se širom otvara. Načela rada šarenice mogu se primijeniti kod zaslona objektivna fotoaparata. Tehnika je prstenasti mišić šarenice zamijenila zaslonom objektivna za postizanje istog učinka.

Posebno je jako zastupljeno brtvljenje kod morskih ili slatkovodnih školjaka i puževa. Kod školjaka se obje polovine ljuske drže zajedno jakim mišićem. Brtvljenje aparata za žvakanje kod morskih ježeva daljnji je primjer savršenosti prirode: peterokutni ustroj zubnih nosača fascinirao je još Aristotela, prema kojemu je taj opis nazvan Aristotelova kupola. Na pet rotacijski simetrično poravnanih udloga nalazi se pet koncentričnih zubnih nosača koje pokreću mišići. Na donjem kraju pet zubi zatvara se hermetički, jer pet vrhova tvori točan kut od jedne petine punoga kruga. Gotovo polukružno gibanje vrhova zubi omogućuje morskom ježu da pase na koraljima i kamenju.

Mnogi brtveni sustavi otkriveni su i u biljnom svijetu, posebice kod kapsula sa sjemenjem ili sporama, što je inspiriralo niz tehničkih