

Využití materiálového tisku pro přípravu tenkých vzorů z biomateriálů

Bc. Šárka Lokajová

Bakalářská práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Šárka Lokajová
Osobní číslo: T21723
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Kombinovaná
Téma práce: Využití materiálového tisku pro přípravu tenkých vzorů z biomateriálů.

Zásady pro vypracování

Technologie inkoustového tisku umožňuje cílenou depozici funkčního materiálu.

Ačkoli je metoda využívána především v oblasti tištěné elektroniky, její potenciál lze využít i v dalších průmyslných aplikacích včetně bio-aplikací.

Cílem práce bude provést průzkum (literární rešerši) na možnosti přípravy tenkých 2D (plošných) vzorů z biomateriálů pomocí materiálového tisku.

Práce by měla zahrnovat jednak současné (již používané materiály, pokud takové jsou), tak i potenciální materiály, kterými lze vytvořit dočasné nebo trvalé vrstvy pomocí metody materiálového tisku.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

1. Hoath, S. D. (ed.), *Fundamentals of Inkjet Printing: The Science of Inkjet and Droplets*, 2016, Weinheim: Wiley, ISBN 9783527337859.
2. Magdassi, S. (ed.), *The Chemistry of Inkjet Inks*, 2010, Singapore: World Scientific Publishing Company, ISBN 9789812818218.
3. Li, X. et al. Inkjet Bioprinting of Biomaterials, *Chemical Reviews* **2020**, 120 (19), 10793-10833, DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00008.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Pavol Šuly, Ph.D.**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORKY BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studentky: Šárka Lokajová

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřená na využití materiálového tisku pro přípravu 2D (plošných) vzorů z biomateriálů. Nejdříve se věnuje problematice biomateriálů, jejich definicím, základními vlastnostmi a rozdělením. V další části se zaměřuje na vybrané metody materiálového tisku využitelné především v oblasti bioaplikací (biotisku) pro přípravu tenkých vzorů o tloušťce od několika nanometrů po stovky mikrometrů, nebo tlustších v případě tisku vrstvy-po-vrstvě. Následně se zabývá popisem využitelných bioinkoustů, které mohou být rozděleny jak podle původu, tak na základě využití scaffoldů při tisku. Zmíněny jsou i potenciální a komerčně dostupné bioinkousty. Poslední, avšak nejdůležitější, část práce zahrnuje přehled aplikací materiálového tisku od buněčných a tkáňových struktur či scaffoldů, možného využití metod v oblasti farmakologie, až po přípravu biosenzorů.

Klíčová slova: biomateriály, materiálový tisk, bioinkoust, buněčné struktury, biosenzor

ABSTRACT

This bachelor thesis is focused on the use of material printing for the preparation of 2D patterns from biomaterials. First, the definition of biomaterials, their basic properties and classification are presented. Then, selected material printing methods predominantly use in bioapplication (bioprinting) are described together with applicable bioinks, which can be classified according to their origin or using of scaffolds. All methods are used to prepare thin films with a thickness from a few nanometers to hundreds of micrometers, possibly even thicker in the case of layer-by-layer printing. Potential and commercially available bioinks are also mentioned. The last, but most important, part of the thesis includes an overview of the applications of material printing, ranging from the cell and tissue structures or scaffolds, the possible use of these methods in pharmacology, to the preparation of biosensors.

Keywords: biomaterials, material printing, bioink, cellular structure, biosensors

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Pavolu Šulymu Ph.D. za ochotu, trpělivost a odborné vedení práce. Dále mé rodině a přítelovi za jejich podporu jak v průběhu studia, tak při psaní této práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
1 BIOMATERIÁLY	10
1.1 DEFINICE.....	10
1.2 VLASTNOSTI.....	10
1.2.1 Biokompatibilita.....	10
1.2.2 Bioaktivita.....	11
1.2.3 Bioinertnost.....	11
1.2.4 Bioesorbovatelnost.....	11
1.3 DĚLENÍ PODLE MATERIÁLU.....	12
1.3.1 Polymerní biomateriály.....	12
1.3.2 Keramické biomateriály.....	13
1.3.3 Kovové biomateriály.....	14
1.3.4 Kompozitní biomateriály.....	14
2 MATERIÁLOVÝ TISK	15
2.1 METODY ZALOŽENÉ NA MATERIÁLOVÉ EXTRUZI.....	15
2.2 METODY ZALOŽENÉ NA LASEROVÉ TECHNOLOGII.....	17
2.2.1 Selektivní laserové slinování.....	18
2.2.2 Stereolitografie.....	19
2.2.3 Laserově asistovaný biotisk.....	19
2.3 METODY ZALOŽENÉ NA TRYSKÁNÍ MATERIÁLU.....	21
2.3.1 Inkoustový biotisk.....	22
2.3.2 Elektro-hydrodynamický biotisk.....	24
2.3.3 Akustický biotisk.....	25
2.3.4 Mikro-ventilový biotisk.....	25
2.3.5 Srovnání metod materiálového tisku na bázi kapiček.....	26
2.4 SROVNÁNÍ METOD MATERIÁLOVÉHO TISKU.....	28
3 BIOINKOUST PRO MATERIÁLOVÝ TISK	29
3.1 DĚLENÍ PODLE PŮVODU.....	29
3.1.1 Přírodní biomateriály.....	29
3.1.2 Syntetické biomateriály.....	29
3.2 DĚLENÍ PODLE VYUŽITÍ SCAFFOLDŮ PŘI TISKU.....	30
3.3 BIOMATERIÁLY VYUŽÍVAJÍCÍ PŘI TISKU SCAFFOLDY.....	31
3.3.1 Hydrogely.....	31
3.3.2 Decelularizovaná tkáň extracelulární matrix.....	34
3.3.3 Mikronosiče.....	34
3.4 BIOMATERIÁLY NEVYUŽÍVAJÍCÍ PŘI TISKU SCAFFOLDY.....	35
3.4.1 Tkáňové sféroidy.....	35
3.4.2 Buněčné pelety.....	35
3.4.3 Tkáňová vlákna.....	35

3.5	POTENCIÁLNÍ MATERIÁLY	35
3.5.1	Hybridní hydrogely	36
3.5.2	Uhlíkové nanomateriály	36
3.5.3	Roztoky enzymů.....	37
3.5.4	Funkční biomolekuly	37
3.6	KOMERČNĚ DOSTUPNÉ BIOINKOUSTY	37
3.7	VLASTNOSTI BIOINKOUSTŮ	39
3.7.1	Materiálové vlastnosti	39
3.7.2	Procesní vlastnosti.....	39
4	APLIKACE MATERIÁLOVÉHO TISKU PŘI VÝROBĚ TENKÝCH VRSTEV Z BIOMATERIÁLŮ	41
4.1	MATERIÁLOVÝ TISK BUNĚČNÝCH STRUKTUR	41
4.2	MATERIÁLOVÝ BIOTISK TKÁŇOVÝCH STRUKTUR	42
4.2.1	Chrupavčitá tkáň	42
4.2.2	Kožní tkáň	42
4.2.3	Cévy, srdeční tkáň	43
4.2.4	Nervová tkáň	43
4.2.5	Nádorová tkáň	44
4.3	MATERIÁLOVÝ TISK SCAFFOLDŮ	44
4.4	FARMAKOLOGIE	44
4.5	BIOSENZORY	45
4.5.1	Složení biosenzoru	45
4.5.2	Vlastnosti biosenzorů	47
4.5.3	Materiálový tisk biosenzorů	48
4.5.4	Využití biosenzorů	50
4.6	PŘEHLED APLIKACÍ.....	51
	ZÁVĚR	54
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	55
	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	61
	SEZNAM OBRÁZKŮ	62
	SEZNAM TABULEK.....	63

ÚVOD

Mnohdy až v situacích, kdy se nám po vyslechnutí diagnózy obrátí svět vzhůru nohama, začneme uvažovat o tom, jak moc křehký život je. V návaznosti na to může následovat mnoho scénářů, co však všechny spojuje je snaha přijít na to, jak danému člověku co nejlépe pomoci, aby se mohl vrátit zpět do běžného života. Zde často nastupuje role tkáňového inženýrství, které se specializuje na tak vážná poškození organismu, zejména pak životně důležitých tkání a orgánů, kde již není konzervativní ani chirurgická léčba dostatečná. Oblasti zájmu tkáňového inženýrství jsou široké, avšak v rámci této práce bude pozornost zaměřena na oblast související s materiálovým tiskem tenkých vrstev, tedy takových, jejichž tloušťka se pohybuje od několika nanometrů po stovky mikrometrů.

S takovými vrstvami se lze v rámci biomedicínských aplikací setkat například při *tisku tkáňových struktur*. Díky tomu mohou být následně jak umístěny do živého organismu, tak i využity v klinickém výzkumu, kde je na nich možno například testovat léčiva. Obdobně je touto cestou možné tisknout a připravovat i *buněčné struktury*, na nichž lze mimo jiné simulovat průběh různých onemocnění a jejich reakci na léčbu. Využití lze najít i při přípravě *tkáňových scaffoldů*, které výrazně napomáhají procesu regenerace poškozené tkáně. Princip je zde založen na poskytnutí mechanické opory živým buňkám a vytvořením optimálního prostředí pro jejich adhezi, růst a následnou proliferaci. Současně stimulují i tvorbu extracelulárního matrixu, což ve výsledku umožňuje spolu s biorozložitelností scaffoldu kompletní nahrazení nativní tkáně. Kromě regenerativní medicíny má materiálový tisk nezastupitelnou roli i v oblasti *farmakologie*, kde lze pomocí něho vyrábět náplasti s mikro Jehličkami využitelných při transdermální léčbě nebo možnosti vložit do léčiv magnetické nanočástice, pomocí níž jsou následně přesunuty přímo na požadované místo. Mírně odlišnou aplikací, avšak jednou z nejrozšířenějších, je výroba *biosenzorů*, díky kterým je možné nepřetržitě monitorovat zdravotní stav pacienta. Podle typu biosenzoru může být sám schopen vyhodnocovat změny intenzity sledovaných analytů či signálů, upozornit na nastalé změny pacienta i lékaře a poskytnout pacientovi potřebnou stimulaci nebo jinak upravovat svou funkci podle aktuálních požadavků.

Kromě výše zmíněných příkladů aplikací lze diskutovat i o mnoha dalších možnostech využití. Cílem této práce bude proto provést rešerši na využitelné metody materiálového tisku pro přípravu 2D (plošných) vzorů. Dále by měly být zmíněny vhodné biomateriály, a to jak již využívané, tak i potenciální. Na závěr by měly být obě tyto části propojeny a měl by být zmíněn přehled s příklady aplikací, a to jak z klinické praxe, tak i oblasti výzkumu.

1 BIOMATERIÁLY

1.1 Definice

Biomateriály jsou přírodní či syntetické materiály vhodné pro aplikace, při kterých dochází k interakcím s živými tkáněmi, krví či jinými biologickými systémy [1]. Mezi jejich základní funkce patří schopnost nahrazovat či zlepšovat poškozené části nebo funkce lidského těla, napomáhat při diagnostických a terapeutických procesech, stejně jako v průběhu samotné léčby či následné rekonvalescence po různých onemocnění [2; 3; 4; 5; 6]. Mohou však i upravovat kosmetické problémy [5]. Nejen z toho důvodu jsou na ně kladeny vysoké požadavky, mezi které patří zejména biokompatibilita, vhodné chemické, fyzikální i mechanické vlastnosti [5; 7; 8] a odolnost vůči opotřebení a degradaci (důležité především u trvalých implantátů). Kromě toho je kladen značný důraz i na technickou vyrobiteľnost s možností obrobiteľnosti do požadovaných tvarů, nízké náklady a dostupnost [7].

1.2 Vlastnosti

1.2.1 Biokompatibilita

Základní vlastností biomateriálů je *biokompatibilita* vyjadřující dlouhodobou snášenlivost organismu vůči implantovanému biomateriálu. Současně je nutné, aby implantát neškodil okolním tkáním, neuvolňoval žádné toxiny do jeho okolí, nezpůsobil záněty a nevyvolával koagulaci [2; 9], čehož je dosaženo jeho chemickou a biologickou inertností [10]. V případě, kdy není u materiálu dostatečná biokompatibilita, dochází snadno ke vzniku trombotických reakcí a vysoké morbiditě s mortalitou [5].

Při jejím testování, které obvykle probíhá *in vitro*, se zpravidla posuzuje cytotoxicita, imunotoxicita, systémová toxicita, karcinogenost, teratogenost, mutagenost a hemokompatibilita [2; 9]. Vzhledem k tomu, že není biokompatibilita obecnou vlastností daného materiálu, ale odvíjí se od prostředí, do něhož je umístěn, je před samotným posouzením nutné vědět, k jakým účelům bude biomateriál následně používán. Tedy například biokompatibilní materiál s podkožní tkání automaticky nezaručuje biokompatibilitu v jiných částech organismu [11].

1.2.2 Bioaktivita

Schopnost stimulovat biologickou odezvu organismu na implantovaný materiál vyjadřuje *bioaktivita* [12; 13; 14]. V jejím důsledku dochází k přenosu iontů z jednoho povrchu na druhý [3; 9], což následně umožní implantátu propojit se s jeho okolím a vytvořit biologickou vazbu [7]. Z dlouhodobého hlediska tak dochází ke vzájemné fixaci na základě srůstu implantovaného biomateriálu a okolní tkáně, a to i bez jakékoliv nutnosti jejich mechanického upevnění [9]. Tého vlastnosti se v praxi využívá například u bioresorbovatelných materiálů v chirurgii [7] či při výrobě trvalých náhrad tvrdých tkání jako jsou například kloubní náhrady [9].

S bioaktivitou se můžeme setkat například u některých typů keramiky, sklokeramiky, bioskla [3; 9] nebo hydroxyapatitu [3].

1.2.3 Bioinertnost

Bioinertnost je vlastnost materiálu popisující jeho schopnost nereagovat (případně pouze minimálně) s jeho okolním prostředím [3; 9; 15]. To vede k nevyvolávání žádných reakcí mezi implantovanou a přirozenou tkání [15] a současně k zachování si svých vlastností po celou dobu jejich aplikace v těle [7]. K hlavním vlastnostem tohoto typu materiálu patří výborná chemická stabilita, mechanická pevnost, korozivzdornost a odolnost vůči opotřebení [16]. Určitou dobu po implantaci bioinertního materiálu do těla dojde k jeho zapouzdření okolní tkání [9; 15]. S jejich využitím se lze setkat zejména u dlouhodobých či trvalých implantátů [17].

Mezi materiály disponující touto vlastností patří například alumina [3], nerezová ocel, stelit, titanové slitiny či některé polymery [3; 9].

1.2.4 Bioresorbovatelnost

Vlastnost materiálu být postupně rozkládán a vstřebáván lidským tělem, přičemž je následně nahrazen novými přirozenými tkáněmi popisuje *bioresorbovatelnost* [3; 7; 15; 18]. Tento proces nastává po uplynutí předem určené doby, během níž má implantát plnit požadovanou funkci a následně se vlivem působení fyziologických reakcí přeměnit na tělem odbouratelné či přijatelné látky [19; 20].

S jejich využitím se lze setkat například v oblasti chirurgie, kde mohou plnit funkci dočasných ortopedických pomůcek umožňující fixaci tkání [20], u povrchových úprav či obalů léčiv, což napomáhá dopravit danou látku až na požadované místo, při výrobě

matric kompozitů, které se dále používají při výrobě náhrad tvrdých tkání nebo u scaffoldů pro řízenou regeneraci tkání [9; 19]. Značnou výhodou je odpadnutí nutnosti podstupovat pacientem další chirurgické zákroky, při níž by jim byl daný implantát odstraněn. Další využití biologické odbouratelnosti je například u dětí, jejichž tělo se ještě vyvíjí a požadavky na velikost implantátů se tak v průběhu let mění [21].

Z dostupných syntetických biomateriálů má tuto vlastnost například polyaktid, kyselina polyglykolová [9; 3] či kopolymery kyseliny polymléčné [3; 15]. Z přírodních jí disponuje alginát, celulóza nebo chitosan [20].

1.3 Dělení podle materiálu

1.3.1 Polymerní biomateriály

Pravděpodobně nejčastěji využívanými biomateriály v oblasti lékařství jsou polymery [9]. S jejich využitím se lze setkat například při výrobě implantátů (nitroočních čoček, protéz či náhrad kloubů) nebo lékařských jednorázových potřeb od nejrůznějších ob vazů a mimotělních zařízení až po systémy pro dodávání léků [7].

K jejich nejvýznamnějším vlastnostem patří velmi dobrá biokompatibilita, vysoká flexibilita (v závislosti na požadovaném účelu se může jednat o výhodu i nevýhodu) [22], rozmanité fyzikální, chemické i mechanické vlastnosti [6], nízká cena, snadná vyrobiteľnosť [7] i zpracovatelnost a nízký koeficient tření [9]. Nedostatkem zde je zejména malá pevnost či riziko možné únavy materiálu [22]. U některých aplikací i absence bioaktivity [9].

V závislosti na způsobu vzniku rozdělujeme polymery na přírodní a syntetické.

a) *Přírodní polymery*

Přírodní polymery se často využívají jako nosiče pro buňky či bioaktivní molekuly. Z hlediska vlastností je zde zásadní jejich schopnost biologicky rozpoznávat interakce receptor-ligand, proteolýza, netoxicitata a značná podobnost tělu přirozeným materiálům. Komplikace však může způsobit jejich náchylnost k denaturaci či rozkladu při jejich vystavení nižším teplotám [7]. S jejich aplikací se lze setkat zejména u tkáňového inženýrství, kde se využívá jejich schopnost urychlovat regeneraci tkání, dále pak ve farmacii při zajišťování dodávek účinných látek na specifická místa v těle nebo při výrobě kompozitů, kde se využívají především jejich kombinace s biosklem nebo keramickou výztuží [9]. Jako zástupce lze uvést chitosan [3; 7], celulózu, elastin, kolagen, fibrin, želatinu, kyselinu hyalurovou [7], karagen či alginát [3].

b) *Syntetické polymery*

Druhou skupinu představují syntetické polymery, které se na rozdíl od přírodních vyznačují snazší opracovatelností, přizpůsobitelností vlastností požadovanému účelu nebo možností velkovýroby, a to i při nízkých nákladech. Oproti přírodním jsou ale méně biologicky kompatibilní a u některých druhů hrozí jejich nahromadění se v těle, což může následně vést ke vzniku zánětlivých reakcí [7]. Příkladem mohou být například akryly, polyetylén, polyestery či polyamidy [3]. Pro medicínské účely se nejčastěji používá PE (polyetylen), PET (polyetylentereftalát), PTFE (polytetrafluoretylen), PU (polyuretan) a POM (polyoxymethylen) [7].

Další skupinu tvoří tzv. *biodegradabilními polymery*, jejichž degradace je v organismu založena na hydrolytickém štěpení vyskytujících se esterových vazeb. Pro příklad lze uvést například kyselinu polymléčnou (PLA), ze které se následně stává kyselina mléčná, jenž se v organismu běžně vyskytuje, nebo kyselina polyglykolová (PGA), z níž vzniká kyselina glykolová, která následně vstupuje do citrátového cyklu, případně je vylučována spolu s močí [3].

Specifickou skupinou jsou *hydrogely*, pro které je typická především schopnost absorpce okolní tekutiny a následné zvětšení jejich objemu, propustnost pro kyslík a téměř žádná zánětlivá odpověď či reakce organismu po jejich implantaci. Jejich původ může být jak z přírodních, tak i syntetických polymerů, přičemž se každý druh vyznačuje jinými vlastnostmi. Pro přírodní hydrogely je typická snazší biodegradovatelnost, naopak u syntetických lze najít větší flexibilitu, absorpci vody i rychlejší proces rozkladu. Nejčastěji se s nimi lze setkat u kontaktních či nitroočních čoček nebo v oblasti regenerativní medicíny při adhezi buněk, buněčné migrace nebo diferenciaci [22].

1.3.2 Keramické biomateriály

Dalším velmi často používaným materiálem v oblasti lékařství je keramika, kterou lze použít jak samostatně, tak i v kombinaci s jiným materiálem, kdy poté již mluvíme o tzv. *kompozitu* [9]. Keramika nachází využití zejména při výrobě dentálních náhrad [22] nebo nejrůznějších ortopedických implantátů, kdy může být keramický materiál použit i jako tenká povrchová vrstva na jinak kovovém implantátu nebo jako kompozitní plnivo [9].

Mezi výhody patří výrazná pevnost v tlaku, vysoká tvrdost, značná rezistence vůči degradaci (včetně odolnosti vůči vzniku koroze i opotřebení materiálů) a podobnost její

chemické struktury s kostní tkání. Z nevýhod je zásadní především jejich křehkost, kvůli čemuž se mohou aplikovat pouze na místa, která nebudou příliš zatěžována [9; 22].

Keramické biomateriály můžeme rozdělit podle jejich působení v organismu na **bioinertní** (alumina, zirkonia), **bioaktivní** (sklokeramika, biosklo, hydroxyapatit) a **biologicky rozložitelnou** (fosforečnan vápenatý) [3; 9].

1.3.3 Kovové biomateriály

Setkat se lze i s biomateriály na bázi kovů či jejich slitin, a to zejména díky jejich velmi dobré elektrické i tepelné vodivosti nebo vynikajícím mechanickým vlastnostem. Naopak, mezi jejich nevýhody patří například náchylnost ke korozi, vyšší hmotnost nebo složitější výroba oproti například polymerním biomateriálům [23].

Využití nacházejí hlavně v oblasti kostních implantátů, kde se mohou uplatňovat jak při fixacích zlomenin jako drobné dráty, šrouby či destičky, tak v rámci kloubních protéz, které mohou být částečné i kompletní [3]. Kromě toho se využívají i jako cévní stenty, vodící dráty katetrů nebo zubní implantáty [1].

Materiálově se lze nejčastěji setkat s titanem a jeho slitinami, nerezovou ocelí nebo slitinami Co-Cr [24].

1.3.4 Kompozitní biomateriály

V případě spojení minimálně dvou materiálů s rozlišitelnou strukturou alespoň na atomární úrovni mluvíme o tzv. *kompozitu* [4]. Jejich hlavní výhodou je kombinace vlastností obou/více materiálů, díky čemuž disponuje výsledný materiál lepšími mechanickými, fyzikálními i chemickými vlastnostmi [3]. Nevýhodou zde však představuje složitější výroba než při zpracování jednoho materiálu [4]. Nejčastěji se lze setkat s kombinací biosklo-polymer, keramika-polymer a hydroxyapatit-resorbovatelná matrice [3] a nalézt je lze například u kostního cementu či zubní pryskyřice [3; 9].

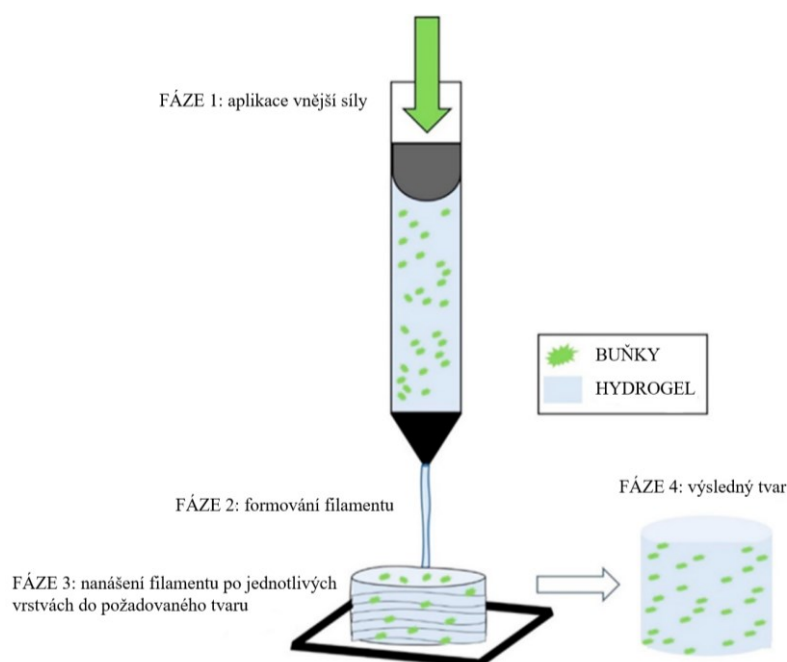
2 MATERIÁLOVÝ TISK

Přestože je oblast materiálového tisku poměrně známou oblastí, ne tak často se mluví o možnosti jeho využití u nejrůznějších bioaplikací. Jelikož je ale i tato oblast velmi široká, bude se práce zabývat pouze metodami vhodnými pro přípravu tenkých vrstev mající tloušťku pohybující se mezi několika nanometry až stovkami mikrometrů [25; 26]. Pro přehlednost budou metody rozděleny do tří skupin, a to na metody založené na materiálové extruzi, laserové technologii a tryskání materiálu, kde bude pozornost věnována biotisku na bázi kapiček, zejména pak inkoustovému tisku, který je s přípravou tenkých vrstev nejčastěji spojován.

2.1 Metody založené na materiálové extruzi

První kategorií materiálového tisku, se kterou se lze v oblasti bioaplikací setkat, jsou metody založené na extruzi materiálu [27], při kterých dochází ke kontinuálnímu vytlačování válcového vlákna bioinkoustu mikrotryskami. Mezi hlavní výhody patří tisk různých viskózních (především však viskóznějších) bioinkoustů, možnost zakomponovat do procesu tisku chemické či světelné síťování, aplikovatelnost na většinu hydrogelů a cenová dostupnost. Nedostatky způsobuje především přítomné mechanické namáhání buněk, což může vést ke snížení jejich životaschopnosti. [28]

Na Obrázku 1 je znázorněn průběh tisku hydrogelu s enkapsulovanými živými či funkčními buňkami pomocí EBB metody (biotisk na bázi extruze) [29].



Obrázek 1 – Jednotlivé fáze průběhu tisku na bázi extruze (převzato a upraveno z [29])

Vzhledem k zaměření práce zde bude zmíněna pouze jedna metoda, a to EBB.

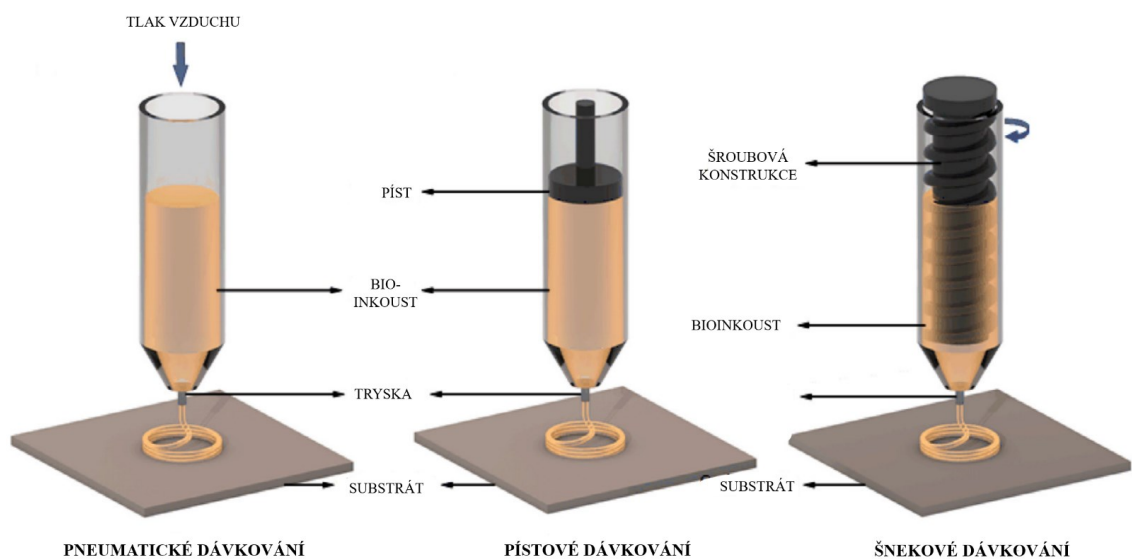
Biotisk na bázi extruze

Velmi rozšířenou technologií je biotisk na bázi extruze (EBB), označovaná také jako mikroextruze [27].

Za její oblíbeností stojí především možnost tisku hydrogelů i s vysokou viskozitou (od 30×10^7 mPa·s do 36×10^7 mPa·s) a vysokou hustotou buněk (nad 10^8 - 10^9 buněk/ml) [30]. Vždy je ale nutné, aby byl materiál v kapalně fázi, v opačném případě by mohlo dojít k ucpání dávkovací trysky nebo by nemusel být bioinkoust vůbec tisknutelný. Jeho viskozitu je však možné ovlivnit během jeho zpracování teplotními změnami nebo úpravou smykového napětí [27]. Současně se jedná i o cenově dostupnou metodu, kterou je možné použít pro velké množství různých materiálů. Z hlediska přípravy tenkých vrstev je zde ale určitým nedostatkem možnost tisku v rozlišení až od 200 μ m [29; 30], což nemusí být pro některé aplikace dostatečně přesné [29]. Lepší kvality tisku by mohlo být dosaženo použitím menšího průměru dávkovací trysky. Tím by však došlo k nárůstu smykové síly a tlaku v tisknoucím se materiálu, což by se ve výsledku mohlo projevit nižší životaschopností buněk [27].

S jejím využitím se lze setkat například při tisku chrupavčitých tkání pomocí chondrocytů [30].

Setkat se zde lze s několika typy, které se vzájemně odlišují způsobem, jakým je materiál do trysky dávkován (viz Obrázek 2) [27; 31].



Obrázek 2 – Princip EBB tisku (převzato a upraveno z [31])

a) *pneumatické dávkování*

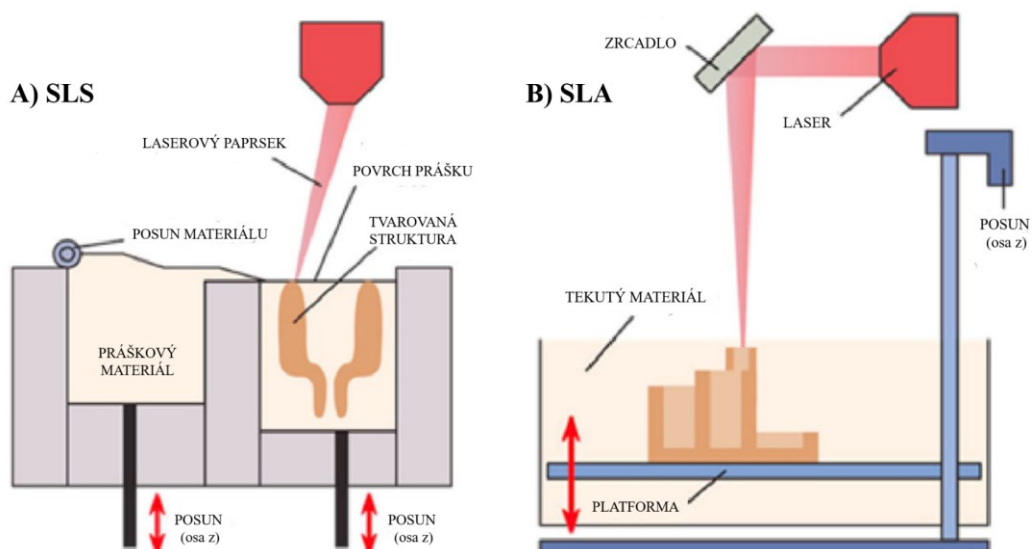
První druhem je pneumatické dávkování, u kterého se využívá síla stlačeného vzduchu [28]. Ten však musí být sterilizovaný, jelikož by jinak mohlo dojít ke kontaminaci materiálu. K tomu se využívají různé filtry nasazené na vzduchové čerpadlo [31]. S touto metodou se lze setkat ve dvou variantách – bez či s použitím ventilu, což se ve výsledku projeví na dosaženém rozlišení, kdy je v případě jeho použití značně vyšší [27]. Z hlediska tisknutelné viskozity bioinkoustu je zde poměrně velké rozpětí, jelikož je možné podle potřeby měnit tlak stlačeného vzduchu [28].

b) *mechanické dávkování – pístové, šnekové*

Mechanické dávkování lze dále rozdělit podle druhu pohonu na pístové nebo šnekové, avšak existuje i několik výzkumů, v nichž se pracovalo se zařízeními kombinující oba typy [28; 32]. Oba druhy jsou vzhledem k jejich konstrukci schopné pracovat i s viskóznějšími látkami [27; 31], což s sebou nese i značnou nevýhodu, kdy vlivem výskytu vyšší normálové a smykové síly dochází k poškozování buněk nacházející se ve vytlačovaném materiálu [27]. Jedná se však o levnější variantu, u které není nutné řešit sterilizaci stlačeného vzduchu a umožňuje mít i lepší kontrolu nad umístěním tisknouceho se vlákna bioinkoustu, než jak je tomu v případě pneumatického systému [28].

2.2 Metody založené na laserové technologii

Metody využívající pro realizaci tisku různé laserové technologie, je možné rozdělit na tři druhy – selektivní laserové slinování (SLS), stereolitografie (SLA) a laserově asistovaný biotisk (LAB) [27; 33]. Principy metod SLS a SLA jsou znázorněny na Obrázku 3.



Obrázek 3 – Princip metody SLS a SLA (převzato a upraveno z [33])

2.2.1 Selektivní laserové slinování

Technologie selektivního laserového slinování (SLS), jedna z nejvyužívanějších metod práškové lože (PBF) [34], pracuje s práškovým materiálem, který je zahříván a následně slinován (spékán) pomocí laserového paprsku [35]. Princip zde spočívá v laserovém skenování a zahřívání povrchu zásobníku obsahující prášek a následného mechanického spojení částic prášku v ozářených bodech. Platforma se poté posune o tloušťku vrstvy dolů, čímž je předešlá vrstva opět zasypána práškem a postup se opakuje, čímž dojde k natavení nové vrstvy [36; 37].

Materiálově je takto možné zpracovávat jak polymery, tak i kovy či keramiku [35; 36; 38]. Ve všech případech je však pro požadované konečné vlastnosti zásadní velikost částic prášku, přičemž se zde jako optimální rozmezí uvádí od 10 do 150 μm [27]. Přesnost tisku je kromě velikosti částic [36] ovlivněna i intenzitou průniku a průměru laserového paprsku, vzdáleností povrchu od laserového zdroje a rychlostí skenování a velikostí skenované plochy [37]. Na finální vlastnosti má vliv i rovnoměrnost distribuce jednotlivých částic materiálu a zvolené procesní parametry, jako je například tloušťka jednotlivých vrstev či teplota. Parametry tisku mají značný vliv i na vznik pórovitosti, což je vlastnost, která je u tkáňového inženýrství klíčová. Její výskyt záleží na rychlosti laserového skenování a na tloušťce jednotlivých vrstev [27].

SLS technologie se v oblasti materiálového tisku tenkých vrstev využívá při přípravě scaffoldů pro tkáňové inženýrství [36; 38]. Konkrétními příklady jsou porézní titanové scaffoldy využívaných u kostních implantátů [39] nebo tkáňové polymerní či kompozitní scaffoldy [38]. Těmi se zabýval například Tan et al. [40], kteří v rámci jejich výzkumu zkombinovali polyetherketon s hydroxyapatitem. Z využitelných přírodních materiálů je možné zmínit například celulózu, ze syntetických potom polykaprolakton (PCL) nebo ultravysokomolekulární polyethylen (UHMWPE). Setkat se lze i s tiskem práškovitých keramických materiálů jako jsou hydroxyapatit nebo křemičitan vápenatý, nebo kovových, mezi jejichž zástupce patří titan nebo tantal, a to včetně jejich slitin [27; 34].

Obdobnou metodou je *povrchové selektivní laserové slinování* (SSLS), které se od klasického SLS liší slinováním polymerních mikročástic a tavením pouze nejsvrchnější vrstvy. Uplatnění nachází především v oblasti výzkumu buněčných a tkáňových reakcí, na základě kterých je možné optimalizovat materiály pro konkrétní aplikace v tkáňovém inženýrství [41].

2.2.2 Stereolitografie

V oblasti biotisku se stereolitografie (SLA) využívá zejména pro svou schopnost tisknout ve velmi vysokém rozlišení (Bhattacharryya et al. [42] i Keriquel et al. [43] uvádí, že disponuje nejvyšším rozlišením a možností nejpřesnějšího tisku), což mimo jiné umožňuje vytvářet scaffoldy pro tkáňovou regeneraci i se složitou strukturou či pórovitostí [32]. Problémy však způsobuje přítomné UV záření, které se pro vytvrzování jednotlivých vrstev používá [27; 44]. Jeho vlivem totiž dochází k poškozování buněk, což může vést až k jejich naprostému zbavení životaschopnosti. Možností by tedy bylo nahrazení UV záření například pro buňky neškodným viditelným světlem, což v roce 2015 zkoumal Wang et al. [45]. Výsledkem byla metoda, pomocí které je možné vytvářet požadované struktury o rozlišení 50 μm při zachování životaschopnosti u 85 % buněk po dobu minimálně 5 dní. Určité problémy zde však způsobuje pouze omezené množství vhodných biomateriálů, které by bylo možné touto metodou zpracovávat [27].

Tisk probíhá pomocí UV laseru pracujícím na základě předem vytvořeného algoritmu, na základě kterého dochází k naskenování vzoru na povrch zásobníku obsahující kapalný bioinkoust a jeho následného ozáření UV laserem přes zrcadlo umožňující korigovat místo jeho dopadu. Následně dojde k zahájení síťování a ztuhnutí bioinkoustu v ozářených místech. Zásobník se následně posune o tloušťku vrstvy nahoru/dolů (záleží na provedení tiskárny) a celý postup se opakuje až do vytvoření požadované struktury [27; 32]. Konečné vlastnosti výtisku záleží zejména na rychlosti skenování, intenzitě laserového paprsku, době, po kterou byla kapalná směs laseru vystavena, době vytvrzování a zvoleném rozlišení tisku [27; 32].

2.2.3 Laserově asistovaný biotisk

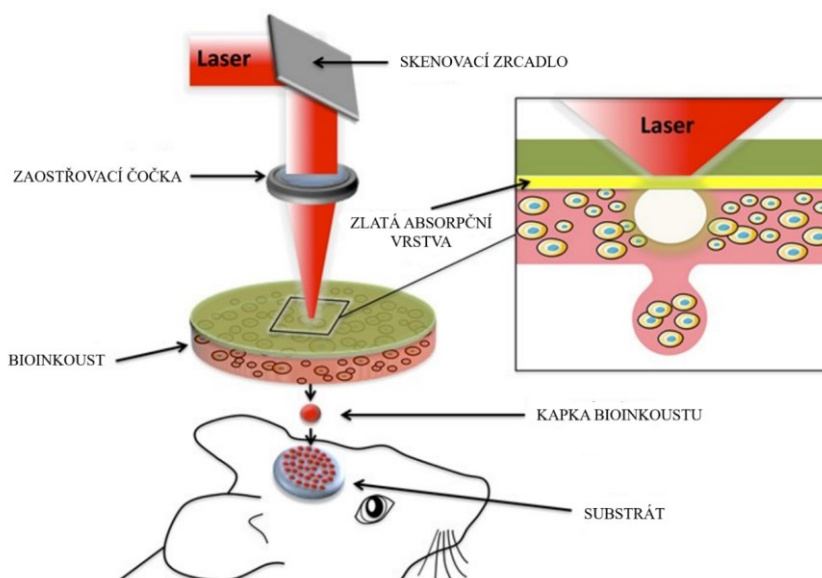
Laserově asistovaný biotisk (LAB) je metoda, která se dříve využívala při výrobě kovů (pro počítačové čipy, rezistory a jiné), ovšem v současné chvíli je její hlavní využití směřováno do oblasti biotisku [27; 28; 46].

Zásadním rozdílem oproti předchozím metodám je možnost velmi přesného bezkontaktního a beztryskového tisku, což napomáhá eliminovat rizika jako je kontaminace materiálu nebo ucpání trysek [28; 47]. Kromě toho zde nedochází k mechanickému namáhání tisknoucích se buněk, jejichž životaschopnost přesahuje 95 % [28]. Dále je schopen velmi přesného tisku s kontrolovatelnou hustotou buněk (10^8 buněk/ml) a viskozitou od 1 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ do 300 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ [48; 49], a to i bez mechanického namáhání buněk [46], reprodukovatelnost tištěných vzorů a potenciálně by ho kromě *in vitro* bylo možné využít i *in vivo* [50].

Tisknutelné rozlišení se zde pohybuje od 10 do 100 μm [46; 49]. K jejím nevýhodám patří zejména nedostatek informací ohledně potencionálních nežádoucích účinků používaného laserového paprsku na tisknoucí se buňky [27], nutnost hlubších znalostí pro ovládání tiskárny a vysoké výrobní náklady, což vede k omezenému výzkumu jejího možného využití i vývoje nových tiskáren na principu LAB [28].

S jejím využitím se lze v oblasti materiálového tisku tenkých vrstev setkat při výrobě bionsezorů na bázi buněk nebo při výzkumu buněčných interakcí. Značný potenciál však mají i v rámci tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny [50], kde byly pomocí této metody připraveny například autologní štěpy bez využití scaffoldů nebo vytisknuty lidské dermální fibroblasty, buňky rakoviny prsu, krysí nervové kmenové buňky nebo endoteliální buňky hovězí plicní tepny [47]. Guillotin et al. [51] prezentovali možnost přesnosti tisku LAB metody v mikro-měřítkovém rozlišení i s vysokou hustotou buněk, což umožňuje vytvářet struktury velmi podobné přirozeným tkáním.

Princip tisku (viz Obrázek 4) je založen na nasměrování laserového paprsku na tenký kovový film (zlato, titan) kryjící vrstvu složenou ze skleněného či křemenného nosiče a vrstvy bioinkoustu. Vlivem působení laseru dojde k lokálnímu zahřátí kovového filmu, vytvoření kapky bioinkoustu, která následně padá na substrát, kde se tímto způsobem vytváří požadovaný vzor [27; 43; 46; 47].



Obrázek 4 – Princip technologie LAB (převzato a upraveno z [43])

Na základě použité technologie při tisku je LAB možné dále dělit na **laserem indukovaný dopředný přenos** (LIFT) a **přímé navádění laserem** (LG DW).

U metody **LIFT** je podle přítomné dodatečné absorpční vrstvy možné lze rozeznávat metodu *modifikovaný laserem indukovaný dopředný přenos* (AFA-LIFT) nejčastěji využívající kovový film s tloušťkou mezi 50 a 100 nm, dále *biologické laserové zpracování* (BioLP) s UV průhlednou (transparentní) vrstvou a *matricové pulzní laserové odpařování* (MAPLE DW) pracující s bio-polymerním materiálem [27].

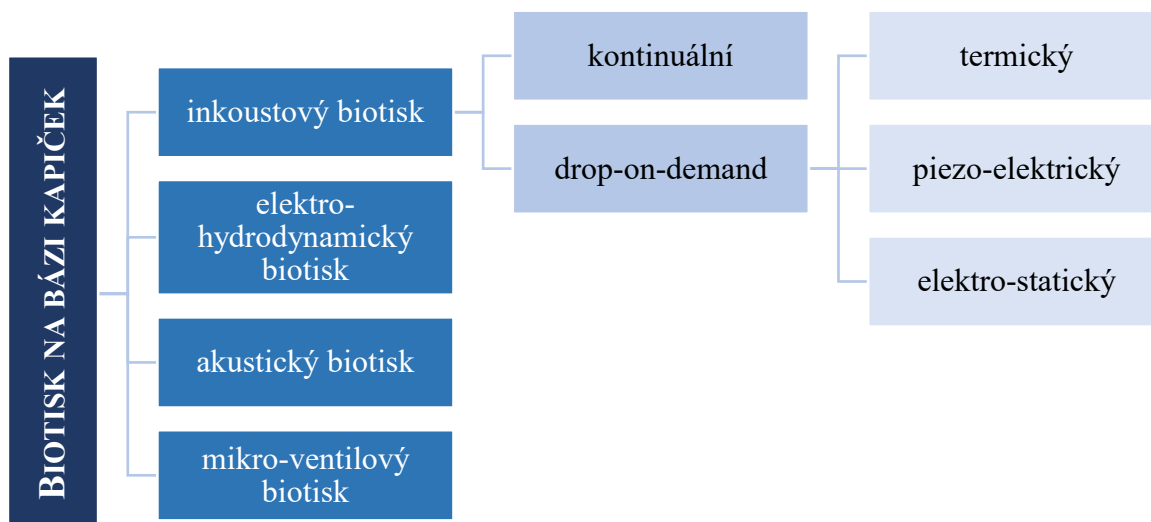
Mírně odlišnou technologií je **LG DW**, která spočívá ve vzniku laserového paprsku na základě rozptylu světla na přítomných mikročasticích, což umožňuje vznášení se jednotlivých kapiček materiálu. Určitou výhodou je zde používání slabě zaostřeného paprsku nízkoenergetického záření, jehož vlnová délka dosahuje hodnot kolem 800 nm [27].

2.3 Metody založené na tryskání materiálu

Další skupinu tvoří metody, které pro realizaci tisku využívají tryskání velmi malého množství materiálu ve formě kapiček. Vzhledem ke způsobu depozice (tryskání), se u těchto metod využívají hlavně nízko-viskózní či kapalné polymerní roztoky, případně disperze [27; 52]. Pro oblast biotisku je zásadní tzv. *biotisk na bázi kapiček* [27], kterým se bude práce dále zabývat [49].

Biotisk na bázi kapiček je typ bezkontaktního tisku, při kterém se jednotlivé vrstvy materiálu tvoří na základě vypuzování malých kapek (o objemu od 10 pl do 80 pl [53]) tryskou na substrát [27]. Vzhledem ke své jednoduchosti, univerzálnosti, rychlosti tisku a možnosti přesné kontroly nad umístováním tisknoucích se biologických látek (např. živých buněk, růstových faktorů, genů, léčiv či biomateriálů) je její použití čím dál širší a častější [54].

Rozdělení metod biotisku na bázi kapiček znázorňuje Obrázek 5.



Obrázek 5 – Schéma rozdělení biotisku na bázi kapiček (vlastní zpracování)

2.3.1 Inkoustový biotisk

Inkoustový biotisk (IJP) je metoda, která byla pro buněčný tisk patentována v roce 2003 [27; 55] a od té doby se lze v této oblasti setkat s mnohými inovacemi, a to jak v oblasti metod tisknutí, tak i samotných využitelných materiálů [27]. Její princip vychází z klasických 2D inkoustových tiskáren [27; 52; 55; 56], které používají inkoust velikostně velmi podobný biologickým látkám, s nimiž se v rámci inkoustového tisku pracuje [55]. Poprvé byla možnost jejich tisku využita Robertem J. Klebem v roce 1988, kdy použil termální inkoustovou tiskárnu pro vzorování kolagenu a fibronektinu, na čemž následně zkoumal buněčnou adhezi k substrátu [56].

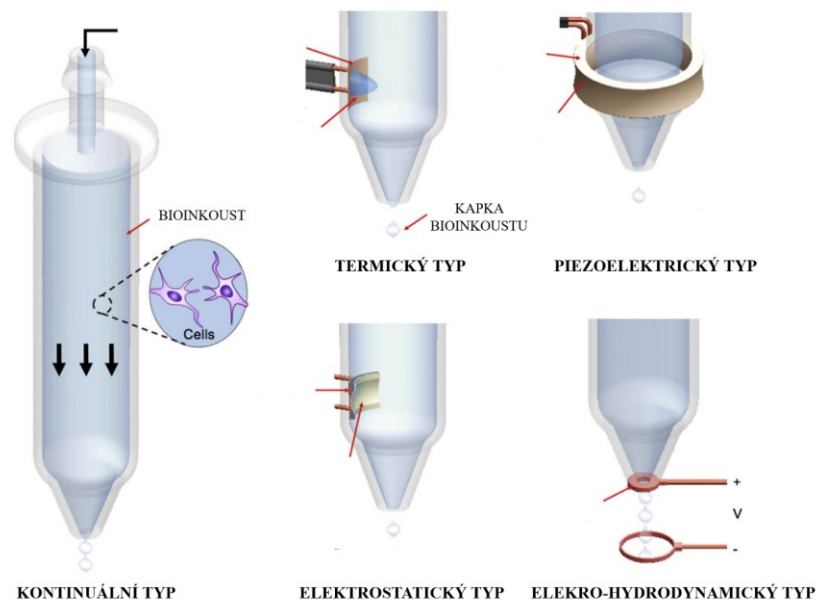
Tisk je realizován pomocí malých kapiček bioinkoustu, které jsou vytlačovány z tiskové hlavy [27], a to na základě tří nastavitelných impulzů – napětí, délka impulzu a frekvence, které ovlivňují objem vytlačované kapky [52]. Celý proces tisku je monitorován pomocí kamer, což výrazně napomáhá kontrole velikosti a umístění tisknoucích se kapek [53].

Výhody metody spočívají především v rychlosti tisku, vysokém rozlišení [49], životaschopnosti buněk [27], malé spotřebě materiálu, možnosti plně automatizovaného tisku [57] a schopnosti tisku pomocí několika tiskových hlav s různými bioinkousty najednou [58]. Naopak mezi největší omezení lze zařadit možnost využití pouze nízko-viskozních systémů, kdy se doporučuje pracovat se systémy s viskozitou pouze do 10 mPa·s [49], vysoké náklady na pořízení nových náplní, které jsou ve většině případů jednorázové, a nutnost použití vhodných rozpouštědel, přičemž se jejich viskozita i koncentrace liší v závislosti na dané aplikaci. Jejich správná volba však zamezuje ucpání trysky a současně i ovlivňuje let kapičky bioinkoustu i její následnou interakci s povrchem substrátu (například aby nedošlo k jejímu roztečení) [59].

Využití metody zahrnuje zejména přípravu kostních, chrupavčitých, srdečních, kožních [27] či nervových tkání [27; 57] v rámci regenerativní medicíny, dále ale i v oblasti syntetické biologie či výzkumu rakoviny [52], kde se velmi často pracuje s HeLa buňkami [57].

Inkoustový biotisk je dále možné rozdělit na *kontinuální* (CIJ) a tzv. *drop-on-demand* (DOD), což lze přeložit jako *kapička na vyžádání* [27], který se na základě způsobu vytlačování kapky dále dělí na termický, piezoelektrický a elektrostatický [54].

Jejich princip je znázorněn na Obrázku 6, kde je pro porovnání současně uveden i elektrohydrodynamický typ.



Obrázek 6 – Princip kontinuálního, drop-on-demand a elektrohydrodynamického typu inkoustového tisku (převzato a upraveno z [54])

2.3.1.1 Kontinuální typ

Kontinuální typ pracuje na principu vypuzování kontinuálního proudu kapiček bioinkoustu (obvykle z elektricky vodivého materiálu), přičemž se pro řízení jejich pohybu využívá elektrické nebo magnetické pole. Při jeho využití v oblasti bioaplikací se lze setkat s problémy související s potenciální kontaminací cirkulujícího bioinkoustu a nutností vyházovat nespoteřované kazety bioinkoustu [31], což v kombinaci s nemožnou kontrolou nad přesnými rozměry kapiček a neschopností zajistit ustálený proud, způsobuje, že se častěji využívá spíše druhá varianta, tedy tzv. *drop-on-demand* metoda [27].

2.3.1.2 Metoda drop-on-demand

U metody *drop-on-demand* je daná kapička materiálu vypuzena na základě dodání určitého impulzu [52] nebo po vyvolání jiného mechanismu. Oproti kontinuálnímu typu je zde možná přesnější kontrola velikosti [27] (objemově v rozmezí od 1 do 100 pl a průměrově 25 až 30 μm [52]) a umístění jednotlivých kapek bioinkoustu [27; 31], kdy dojde k jejímu vytvoření a vypuzení až po přesunutí trysky nad požadované místo [31]. Charakteristická je zde jednoduchost a rychlost tisku (v závislosti od tištěného motivu), kdy se frekvence vystřelování jednotlivých kapek může pohybovat od 1 až do 100 000 za sekundu [52].

Tisk je možné realizovat na sklíčka, kultivační desky, 3D scaffoldy, ale i do hydrogelů nebo kapalin, přičemž z materiálů se lze setkat například s nízko-viskózními roztoky alginátu, kolagenu, želatiny nebo fibrinu. [52]

Podle principu vytlačování kapičky bioinkoustu z tiskové hlavy (aktuátoru) rozlišujeme tři různé technologie tisku – termický, piezoelektrický a elektrostatický [27; 31], přičemž se lze nejčastěji setkat s prvními dvěma [52].

U **termické** (jinak označované také jako *tepelné*) **metody** dochází k zahřívání bioinkoustu, přičemž se může jeho teplota krátkodobě pohybovat až v rozmezí od 200 do 300 °C. Jelikož je ale těmto teplotám vystaven pouze na několik mikrosekund, dochází jen k minimálnímu poškození buněk, které výrazně neovlivňuje jejich životaschopnost [27]. Spolu se zahříváním materiálu dochází k jeho odpařování a vzniku bublin, které se postupně rozpínají a překonávají povrchové napětí bioinkoustu nacházejícímu se na špičce trysky až do momentu, kdy dojde k vytlačení kapičky [27; 52; 53].

Změny napětí způsobující pružné deformace v piezoelektrickém typu materiálu využívá **piezoelektrická metoda**. K jejím výhodám patří poměrně snadné ovlivnění jak velikosti kapiček, k čemuž se využívá úprava míry deformace piezoelektrického prvku umístěného na zdi kanálku, tak i jejich tvaru a rychlosti pomocí změny velikosti napětí na tryskách, jenž na daný materiál působí. Další výhodou metody zahrnuje možnost vytvářet velmi přesné vzory s vysokým rozlišením i pomocí živých buněk. [27; 52; 53]

Poslední variantou je **elektrostatická metoda**, u které se pracuje s vysokým napětím nacházejícím se na vychylující se destičce. Ta vlivem působení různě velkého napětí a jejího naklonění způsobuje vytlačení kapičky bioinkoustu [27].

2.3.2 Elektro-hydrodynamický biotisk

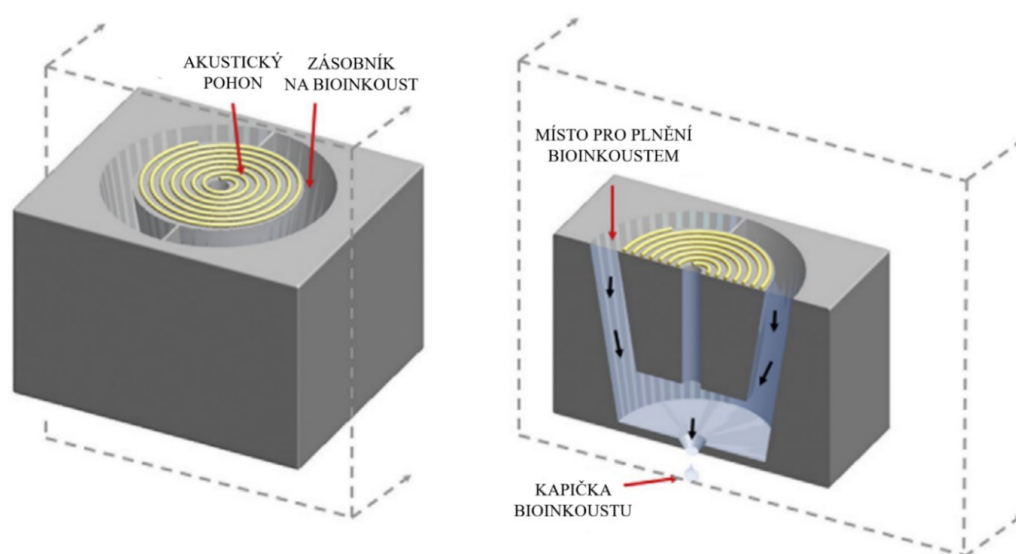
Přenos materiálu na substrát pomocí elektrického pole využívá tzv. *elektro-hydrodynamický tryskový biotisk* (EHD). Jeho princip je založen na odlišných elektrických potenciálech mezi tryskou (kladně nabitá) a substrátem (uzemněná elektroda), kdy dojde vlivem působení napětí v rozsahu mezi 0,5 kV a 20 kV k vypuzení kapičky bioinkoustu, přičemž je nutno překonat visko-elastičnost a povrchové napětí bioinkoustu. [27]

K výhodám této metody patří především široký rozsah možné velikosti vypuzovaných kapiček bioinkoustu, které se řádově pohybují mezi mikrometry až nanometry, což ve výsledku umožňuje vytvářet vzory o rozlišení kolem 100 nm. Z hlediska komplikací

vznikajících při využití této metody je nižší životaschopnost buněk způsobená vlivem používaného vysokého napětí a určitá nepřesnost tisku. [27]

2.3.3 Akustický biotisk

Akustický biotisk funguje na základě generování povrchových akustických vln, vlivem jejichž působení dojde k překonání povrchového napětí a následného vypuzení kapičky bioinkoustu ze špičky trysky [60]. Jeho princip je znázorněn na Obrázku 7.



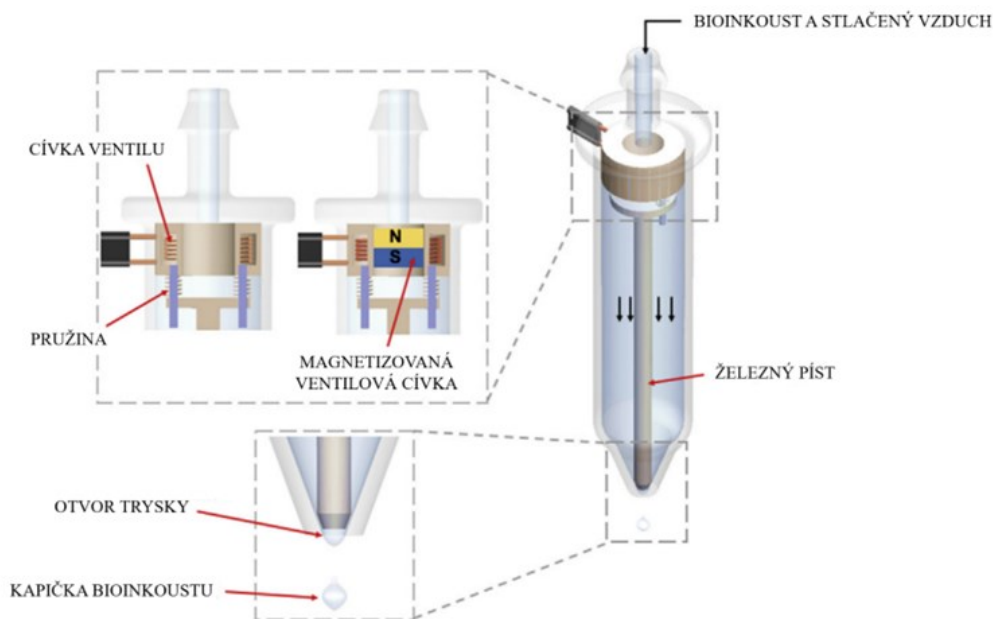
Obrázek 7 – Princip akustického biotisku (převzato a upraveno z [54])

Z vlastností je zde důležitá zejména vysoká rychlost tisku (až 100 000 kapiček za sekundu), rozlišení kolem 40 μm , životaschopnost vytištěných buněk přes 90 % (záleží na velikosti použitých akustických vln) a tisknutí i bez působení potenciálně ničivého vysokého tepla, tlaku, napětí [27] či vysokého smykového namáhání. Kvalita tisku je zde odvislá od stability vytvářených akustických vln a velikost kapek od periody pulzů jednotlivých vln spolu s koncentrací buněk [60].

2.3.4 Mikro-ventilový biotisk

Mikro-ventilový (pneumatický) biotisk využívá elektromechanické mikro-ventily, kdy dochází vlivem jejich otevírání a zavírání k vypuzování jednotlivých kapiček bioinkoustu [27]. Vzhledem k možné sedimentaci buněk a následného ucpání mikro-ventilu je nutné dodržet požadavek na maximální hustoty buněk 10^6 buněk v 1 ml [48].

Princip mikro-ventilového tisku je znázorněn na Obrázku 8.



Obrázek 8 – Schéma mikro-ventilového tisku (převzato a upraveno z [54])

2.3.5 Srovnání metod materiálového tisku na bázi kapiček

Nejdůležitější charakteristické vlastnosti jednotlivých druhů biotisku na bázi kapiček jsou shrnuty a uvedeny v Tabulce 1. Tabulka obsahuje přehled nejdůležitějších charakteristických vlastností jako je rozlišení, viskozita inkoustů a životaschopnost buněk.

Tabulka 1 – Porovnání základních vlastností biotisku na bázi kapiček (převzato z [48; 60])

METODA	ROZLIŠENÍ (μm)	VISKOZITA BIOINKOUSTU ($\text{mPa}\cdot\text{s}$)	ŽIVOTASCHOPNOST BUNĚK
INKOUSTOVÝ	10-50	< 10	> 85 %
ELEKTRO-HYDRODYNAMICKÝ	> 2000	nízká	2-1000
AKUSTICKÝ	3-200	1-10000	90 %
MIKROVENTILOVÝ	> 150	1-70	< 90 %

Tabulka 2 porovnává výhody a nevýhody jednotlivých metod biotisku na bázi kapiček.

Tabulka 2 – Porovnání výhod a nevýhod jednotlivých metod biotisku na bázi kapiček (převzato z [54])

METODA	VÝHODY	NEVÝHODY
TERMÁLNÍ DOD + ELEKTROSTATICKÝ DOD	<ul style="list-style-type: none"> - levné - vhodné pro studie proveditelnosti 	<ul style="list-style-type: none"> - možné ucpávání trysky - vhodné pouze pro určité druhy buněk - mechanické namáhání buněk (u termálního i tepelné) - obtížné čištění - omezený rozsah otvorů - pouze vícetryskové kazety
PIEZOELEKTRICKÝ DOD	<ul style="list-style-type: none"> - kontrola nad rozměry kapky - kontrola místa depozice - široký výběr průměrů trysek - možnost i jednotryskových kazet - možnost čištění 	<ul style="list-style-type: none"> - ucpávání trysek - mechanické namáhání buněk - vyrobeno ze skla, což není vhodné pro některé druhy bioinkoustů (např. fibrinogen)
ELEKTRO- HYDRODYNAMICKÝ	<ul style="list-style-type: none"> - kapky menší než průměr trysek - nízké mechanické namáhání buněk - není nutná vysoká viskozita bioinkoustu 	<ul style="list-style-type: none"> - drahé - nedostupné kompletní systémy - nebezpečné pro obsluhu - nemožnost tisku po jednotlivých kapkách
AKUSTICKÝ	<ul style="list-style-type: none"> - bez mechanického namáhání buněk - snadné 	<ul style="list-style-type: none"> - nutnost viskózních bioinkoustů - nedostupné kompletní systémy
MIKRO-VENTILOVÝ	<ul style="list-style-type: none"> - levné - možnost čištění - vyměnitelné trysky 	<ul style="list-style-type: none"> - výrazně větší průměry kapek než má otvor trysky - smykové namáhání buněk

2.4 Srovnání metod materiálového tisku

V Tabulce 3 jsou uvedeny výhody a nevýhody jednotlivých metod materiálového tisku.

Tabulka 3 – Srovnání metod materiálové tisku [49; 61; 62]

MATERIÁL	VÝHODY	NEVÝHODY
MATERIÁLOVÁ EXTRUZE	- vysoká hustota buněk	- nízké rozlišení tisku
	- vysoká viskozita bioinkoustu - možnost tisku i více tryskami s použitím různých biomateriálů	- nepřesný tisk - pomalá rychlost tisku - nižší životaschopnost buněk
LASEROVÉ TECHNOLOGIE	- bezkontaktní tisk - vysoké rozlišení a přesnost tisku - možnost tisku vysoké hustoty buněk	SLS + SLA - poškození buněk UV zářením - cytotoxické - omezený výběr vhodných bioinkoustů
	- vysoká rychlost tisku - dobrá životaschopnost buněk (u LAB vysoká – nad 95 %)	LAB - časově náročné - drahé
BIOTISK NA BAZI KAPÍČEK	- bezkontaktní tisk	- nízká hustota buněk
	- přesná depozice kapek - vysoká životaschopnost buněk - vysoká rychlost tisku	- nízká viskozita bioinkoustu

Základní parametry nejpoužívanějších metod biotisku při přípravě tenkých vrstev jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 4 – Základní parametry nejpoužívanějších metod biotisku (převzato z [49])

	MATERIÁLOVÁ EXTRUZE	LIFT	INKOUSTOVÝ TISK
VISKOZITA BIOINKOUSTU	30-36×10 ⁷ mPa·s	1-300 mPa·s	<10 mPa·s
HUSTOTA BUNĚK V BIOINKOUSTU	Vysoká (> 10 ⁸ -10 ⁹ [30])	10 ⁸ buněk/ml	<10 ⁶ buněk/ml
ROZLIŠENÍ TISKU	200-1000 μm	10-100 μm	10-50 μm
RYCHLOST TISKU	700 mm/s – 10 μm/s	200-1600 mm/s	100 000 kapek/s
ŽIVOTASCHOPNOST BUNĚK	80-90 %	> 95%	> 85%

3 BIOINKOUST PRO MATERIÁLOVÝ TISK

Biotisk se realizuje pomocí tzv. *bioinkoustu* představující směs buněk nebo mikro-částí tkání zabudovaných do tekutého gelového prostředí, které zde figuruje zejména jako nosič buněk. Důležité je, aby kromě strukturální podpory vytvářelo i vhodné podmínky pro růst, proliferaci a udržování vlhkosti buněk. [58]

Materiály, které je možné využít v rámci biotisku, je možné rozdělit podle několika možných kategorií. V této práci budou zmíněné dvě, a to na základě původu, tedy přírodní či syntetické [63], a zda jsou tisknuty v kombinaci s pevným nosičem (scaffoldem) nebo samostatně [55].

3.1 Dělení podle původu

3.1.1 Přírodní biomateriály

Jak již jejich název napovídá, pocházejí převážně z rostlin a živočichů [57], z nichž jsou následně extrahovány pomocí různých fyzikálních či chemických metod [27]. V souvislosti s jejich původem disponují přirozenou biokompatibilitou [57] a velmi podobnou strukturou (nepravidelnou a síťovitou) jako se nachází u přirozeně se vyskytujícího extracelulárního matrix, což umožňuje jejich tisk spolu s buňkami [64]. Vzhledem k jejich složení jsou schopny napodobovat i nativní tkáň, a to především jejich biologické a fyziologické vlastnosti [27], včetně interakcí s okolními buňkami [57]. Jejich nevýhodou jsou ale možné komplikace během jejich tisku způsobené jejich tendencí se smršťovat či jinak deformovat a horší mechanické vlastnosti, které však lze zlepšit jejich modifikací, případně vhodnou kombinací se syntetickými biomateriály. [64].

Na základě jejich chemické povahy se dají rozdělit na *polysacharidy* (např. alginát, agaróza, methylcelulóza, chitosan, kyselina hyalurová, celulóza), *proteiny* (např. dECM, kolagen, želatina, matrigel, fibrin, elastin) [63], *glykoproteiny* (např. mucin, lektin, nektin) a *proteoglykany* (např. dekorin, syndekan, versican) [27].

3.1.2 Syntetické biomateriály

Zpracování syntetických materiálů je o něco snazší, než jak je tomu u přírodních, a to zejména díky kombinaci vyšší mechanické pevnosti [61] a rychlejšímu tuhnutí po jejich vytisknutí, což umožňuje vytvářet i velmi přesné struktury [64]. Kromě toho lze poměrně snadno upravit jejich fyzikální vlastnosti podle požadavků konkrétní aplikace [27; 61].

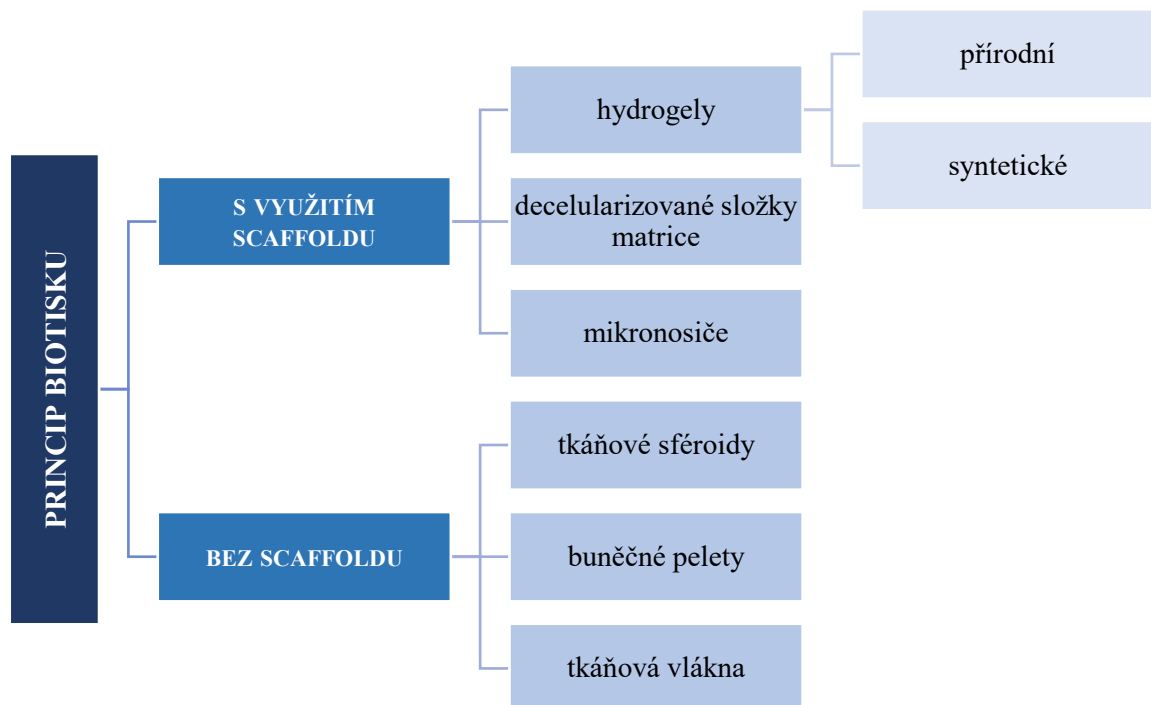
Naopak ale výrazně zaostávají z hlediska buněčné adheze, schopnosti zapouzdření buněk [57], nízké imunogenicitě, biokompatibilitě a často i chybějící pružnosti [61].

Jako příklad lze uvést kyselinu polyakrylátovou (PAA), polykaprolakton (PCL), polyethylenglykol (PEG), Pluronic F127, polyhydroxyethylmethakrylat (pHEMA) nebo polyvinylalkohol (PVA) [63].

3.2 Dělení podle využití scaffoldů při tisku

Jedno z nejdůležitějších dělení z hlediska materiálové tisku je na základě toho, zda se při biotisku využívají scaffoldy nebo se tisknou pouze samotné buňky. V prvním případě obsahuje bioinkoust kombinaci biomateriálu a enkapsulovaných živých buněk. Biomateriály se následně biologicky rozkládají a přítomné zapouzdřené buňky postupně rostou a obsazují daný prostor, čímž se vytváří požadované struktury. Druhý případ více připomíná běžný embryonální růst buněk, jelikož se tisknou pouze samotné živé buňky. Ty jsou ukládány do specifického uspořádání, v němž následně srostou, čímž vznikne funkční tkáňová struktura [65; 66].

Schéma rozdělení bioinkoustů podle využití scaffoldů při tisku znázorňuje Obrázek 9.



Obrázek 9 – Dělení bioinkoustů na základě využití scaffoldů při tisku [55; 82]

3.3 Biomateriály využívající při tisku scaffoldy

3.3.1 Hydrogely

Prvním zástupcem skupiny bioinkoustů využívající při tisku scaffoldy jsou *hydrogely*, což jsou z chemického hlediska zesíťované polymerní látky, přičemž mohou být složeny jak z jednoho, tak i několika monomerů současně [67]. Podle toho je poté můžeme dělit na *homopolymery* složené z jednoho monomeru a *heteropolymery* obsahující více typů monomerů [68].

3.3.1.1 Mechanismy síťování hydrogelů

Proces zesíťování může probíhat třemi různými mechanismy – fyzikálně, chemicky a enzymaticky [55; 68].

a. Fyzikální síťování

Fyzikální síťování nevyužívá žádné exogenní činidla, což u vznikajícího hydrogelu eliminuje možnosti kontaminace nebo vzniku toxicity způsobenou chemikáliemi. Kromě toho se tímto způsobem vytváří i příznivější prostředí pro buňky, proteiny či jiné biologické látky, které jsou do hydrogelu následně umístěny [55]. Naopak mají horší mechanické vlastnosti a reagují na mnoho vnějších podnětů, jako je například teplota, pH, druh rozpouštědla nebo změny intenzity iontové síly, což je dělá poměrně nestabilními [68]. Proces zesíťování je zde ovlivněn především Coulombickými silami [69], iontovými či vodíkovými vazbami, hydrofobními interakcemi, stereo-komplexací nebo samo-skládáním amfifilních peptidů či polymerů do micelárních struktur [55].

b. Chemickým síťování

U chemického síťování dochází ke vzniku kovalentních vazeb mezi jednotlivými polymerními řetězci hydrogelů, přičemž se často využívají buď exogenní síťovací činidla, což může vést ke kontaminaci i vzniku cytotoxicity [55; 68], nebo mechanismus fotopolymerace. Na rozdíl od hydrogelů připravených pomocí fyzikálního síťování mají ale mnohem lepší mechanickou stabilitu [55].

c. Enzymatického síťování

Pomocí enzymatického síťování se nejčastěji připravuje fibrin skládající se z fibrinogenu a trombinu, přičemž trombin přeměňuje fibrinogen na fibrin. Vzhledem k dobré

cytokompatibilitě a buněčné adhezi je fibrin v rámci tkáňového inženýrství velmi často využíván jako bioinkoust. [55]

3.3.1.2 Vlastnosti

Typickou vlastností hydrogelů je schopnost pohlcovat a zadržovat značný objem vody (až tisícinásobek své původní hmotnosti) nebo vysoká propustnost pro kyslík, živiny a další ve vodě rozpustné sloučeniny [55].

Díky jejich vlastnostem, kterými se podobají extracelulární matrix, tedy přirozeně se vyskytujícímu tkáňovému prostředí v lidském těle, je jejich využití v oblasti regenerativní medicíny velmi široké. Jejich biokompatibilita závisí na stupni jejich hydratace [55], obecně se však považuje za velmi dobrou. Kromě toho jsou schopny chránit buňky při tisku před smykovým namáháním, které jinak ohrožuje jejich životaschopnost [68].

V rámci tkáňového inženýrství se dají hydrogely rozdělit na dvě kategorie. Do první řadíme ty s *přírodním původem*, tedy například želatinu, kolagen, alginát, chitosan nebo celulózu. V rámci druhé naopak najdeme ty se *syntetickým původem* – například Pluronic, polyethylenglykol, polykyselinu mléčnou nebo polyvinylalkohol [55; 68]. U přírodních hydrogelů se je možné setkat i s dalším dělením, a to podle jejich původu, kdy mohou pocházet buď z těl obratlovců (kolagen, fibrin, želatina) nebo jiných organismů (například alginát či agaróza pocházející z mořských řas). Mezi vzájemné rozdíly patří třeba přítomnost signálních molekul pro buněčnou adhezi, jenž hydrogely získávané z obratlovců mají, zatímco ty z jiných organismů ne [55].

3.3.1.3 Využití

Vzhledem k jejich značné schopnosti absorbování vody se hydrogely využívají pro zapouzdřování buněk, jimž poskytují vhodné prostředí, kde se mohou libovolným směrem pohybovat a vzájemně spolu komunikovat [55]. Kromě toho i dopravují k buňkám živiny a odstraňují přebytečné buněčné produkty [70]. S jejich využitím se lze velmi často setkat i v oblasti tkáňového inženýrství, kdy se používají například v rámci obvazů na rány, při podávání léčiv nebo u výroby kontaktních čoček [55].

3.3.1.4 Příklady

Příklady hydrogelů, které je možné v rámci materiálového tisku využít, jsou shrnuty v Tabulce 5, která zároveň poskytuje i přehled jejich výhod a nevýhod.

Tabulka 5 – Výhody a nevýhody vybraných hydrogelů [54; 55; 60; 71]

MATERIÁL	VÝHODY	NEVÝHODY
ALGINÁT	<ul style="list-style-type: none"> - biokompatibilní, neimunogenní - jednoduché a rychlé gelovatění - nízké pořizovací náklady - středně pružné 	<ul style="list-style-type: none"> - špatné mechanické vlastnosti - špatná adheze buněk - při vyšší koncentraci v bioinku dochází k ucpávání trysky
AGARÓZA	<ul style="list-style-type: none"> - reaguje na teplotu - rychlé gelovatění za fyziologických teplot - nízké pořizovací náklady - vysoká mechanická pevnost - neimunogenní 	<ul style="list-style-type: none"> - špatná adheze buněk - nadměrné množství vody - křehké - při DDB tisku vyžaduje regulování teploty
CHITOSAN	<ul style="list-style-type: none"> - dostupné - antibakteriální 	<ul style="list-style-type: none"> - nízké mechanické vlastnosti - pomalé gelovatění
KOLAGEN	<ul style="list-style-type: none"> - biokompatibilní, biomimetické - vysoká porozita - dobrá adheze buněk - podpora proliferace buněk - vstřebatelnost - neimonugenní - schopnost přenášet signály 	<ul style="list-style-type: none"> - špatné mechanické vlastnosti - vláknité - pomalé gelovatění - snadné ucpání trysky
ŽELATINA	<ul style="list-style-type: none"> - biologická rozložitelnost - bikompatibilita - nízká antigenicita - levné 	<ul style="list-style-type: none"> - malá pevnost - tepelně nestabilní
PEG	<ul style="list-style-type: none"> - výborná hydrofilnost - netoxicity - snadno modifikovatelný - přizpůsobitelné mechanické i degradační vlastnosti - schopnost zapouzdřit buňky 	<ul style="list-style-type: none"> - špatná oxidační stabilita - při fotozesíťování dochází vlivem UV záření k odumírání buněk
PCL	<ul style="list-style-type: none"> - vhodná mechanická pevnost - rychlost biologického rozkladu 	<ul style="list-style-type: none"> - špatná hydrofilita - nemožnost zapouzdření buněk

3.3.2 Decelularizovaná tkáň extracelulární matrix

Extracelulární matrix, ze které je pomocí chemických, fyzikálních a enzymatických metod odstraněno přibližně 98 % buněčného materiálu, se označuje jako *decelularizovaná tkáň extracelulárního matrix*, neboli dECM [55]. Skládá se především z kolagenu, glykosaminoglykanů a bioaktivních molekul (například růstového faktoru) [46] a jejím rozpuštěním na požadovanou koncentraci vzniká gelovitá látka, ze které se následně pomocí biotisku připravují aplikace vhodné jak pro alogenní, tak i xenogenní transplantace. K typickým vlastnostem patří kromě přirozené biokompatibility schopnost poskytovat buňkám vhodné prostředí spolu s biochemickými a biomechanickými podněty potřebnými pro proliferaci, diferenciaci či jiné buněčné funkce [46; 55]. Dále je schopna zadržovat bioaktivní látky v její porézní mikrostruktuře. Rovněž bylo při výzkumu prokázáno, že po *in vivo* transplantaci kmenových buněk v dECM nedošlo k cytotoxicitě ani vyvolání zánětu [55].

Vzhledem k horším mechanickým vlastnostem [72] se pro jejich zvýšení často využívá kombinace s jinými přírodními či syntetickými polymery [46], případně se při tisku využívají speciální rámy (například z PCL), díky kterým je zabráněno zhroucení výtisku [72].

3.3.3 Mikronosiče

Mikronosiče mají v oblasti biotisku roli zpevňujících materiálů, které vzhledem k jejich tvaru a vzájemně propojené pórovité struktuře umožňují buňkám přichycení a následný růst na jejich povrchu, což výrazně napomáhá procesu kultivace buněk. Hlavním důvodem jejich použití je zprostředkování efektivnějšího přenosu živin a plynů mezi kultivačním médiem a buňkami než při využití 2D buněčných kultur. [55]

[55] Jejich využití v oblasti materiálového tisku je možné demonstrovat na metodě EBB, která umožňuje vytištění naplněných mikronosičů do hydrogelu. To umožňuje realizaci tisku o vysokých koncentracích buněk, a to i bez ohrožení jejich životaschopnosti. Nutné je však zajistit neustálý pohyb bioinkoustu, k čemuž se využívají bioreaktory. [55]

Z vhodných materiálů se lze setkat například s celulózou, kolagenem nebo želatinou (přírodní materiály), s dextranem, sklem či různými druhy kovů (syntetické materiály) [55].

3.4 Biomateriály nevyužívající při tisku scaffoldy

3.4.1 Tkáňové sféroidy

Tkáňové sféroidy označují bioinkoust obsahující agregované buňky do shluků o průměru 200-400 μm [55]. Z hlediska jejich výroby se lze setkat s několika metodami, přičemž mezi nejčastější patří metody visící kapky, magnetická levitace, metoda založená na míchání, tzv. „*forced-floating*“ metoda nebo metoda mikrofluidní kultury [73].

3.4.2 Buněčné pelety

Princip tisku buněčných pelet spočívá ve využití odstředivých a gravitačních sil, pomocí kterých dojde ke koncentrování buněk na dno kónické zkumavky. Odtud jsou odebrány a v mikropipetě dále zpracovávány, přičemž výsledkem je vznik mezibuněčných interakcí podporující soudržnost buněk. Jelikož je zde však omezen přístup vzduchu, dochází po 24 hodinách k výraznému poklesu životaschopnosti buněk. [55]

3.4.3 Tkáňová vlákna

Poměrně novým materiálem v oblasti biotisku tkání jsou tzv. *tkáňová vlákna* vznikající vstříknutím a zabalením buněk o velké hustotě do dutých alginátových trubiček. Vzhledem k semipermeabilitě alginátu se k buňkám dostávají potřebné živiny i přísun kyslíku, díky čemuž jim je umožněno dále růst. To jim v kombinaci s nepřichytáváním se ke stěnám trubiček umožňuje libovolné shlukování se a vytváření různých novotvarů. V momentě jejich vzniku je následně za pomoci roztoku desíťovacího činidla alginátová trubička rozpuštěna. Metoda je vhodná zejména pro biotisk chrupavčitých tkání. [55]

3.5 Potenciální materiály

Na potenciální biomateriály využitelné v oblasti materiálového tisku lze pohlížet ze dvou různých úhlů.

Nejprve by se dalo zabývat optimalizací vlastností již používaných biomateriálů, avšak z různých důvodů nevhodných pro biotisk, případně majících určité vlastnosti, kvůli kterým je není možné v rámci určitých aplikací využívat [57].

Druhý pohled se naopak zaměřuje na vývoj zcela nových biomateriálů [57]. Jeden z výzkumných směrů by se zde mohl zaměřit na prozkoumání dalších přírodních materiálů (rostlinných i živočišných) a jejich možné využití v rámci materiálového tisku.

do hydrogelu dojde ke 2-4x většímu zrychlení metabolismu kyslíku a procesu diferenciaci nervových kmenových buněk.

3.5.3 Roztoky enzymů

Přestože se v oblasti inkoustového biotisku pracuje s mnoha různými typy biomateriálů, nebylo realizováno příliš mnoho výzkumů pracujících s roztoky enzymů jakožto vhodným bioinkoustem. Efrat Gdor et al. [75] však jeden uskutečnili, v němž pracovali se třemi enzymy (glukózooxidázou, invertázou a křenovou peroxidázou) a glutardialdehydem zajišťují jejich imobilizaci. Po jejich vytištění bylo zjištěno, že nedošlo k žádnému zhoršení enzymatické aktivity jak v rámci procesu formulace bioinkoustu, tak ani po vytištění imobilizovaného enzymatického roztoku. Rovněž ve studii uvedli, že má jejich postup univerzální použití a lze pomocí něj připravovat i složitější struktury, včetně biosenzorů.

3.5.4 Funkční biomolekuly

Dalším předmětem výzkumu jsou specifické funkční biomolekuly (růstový faktor, exozomy, signální molekuly) ovlivňující chování buněk, které by mohly být nápomocné v oblasti regenerativní medicíny. Zatím je však náročné i v jednoduchém simulačním laboratorním prostředí propojit extracelulární matrix, živé buňky a zmiňované specifické funkční biomolekuly tak, aby došlo k vytvoření vhodného mikroprostředí pro kmenové a funkční buňky, které by byly následně schopny obnovovat a regenerovat funkční tkáň. Rovněž by poté došlo k většímu napodobení přirozeného prostředí, v němž mohou buňky interagovat s více různými druhy růstových faktorů, což je pro regenerační procesy zásadní. V rámci provedených studií ale bylo již možné napodobit procesy přirozeně probíhající v lidském embryu, při nichž dochází například k migracím buněk či morfogenezí tkání. [56]

Výzkumy se dále zaměřují na možnost zakomponování exozomů do scaffoldů, a jejich lokální a řízené uvolňování, nebo způsoby, díky kterým by bylo možné řídit diferenciaci kmenových buněk do různých prostorových linií [56].

3.6 Komerčně dostupné bioinkousty

Na trhu se lze setkat s mnoha různými materiály, přičemž každý disponuje jinými vlastnostmi. Pro příklad zde bude uvedeno několik bioinkoustů, které nabízí například firma CELLINK. Kromě inkoustu společnost nabízí také řadu biotiskáren.

Příkladem kolagenového (kolagen typu 1) bioinkoustu je **Lifeink® 260 Collagen Bioink, Acidic pH**, který má kyselé pH a viskozitu 70 mg/ml. Je dodáván v kyselém solném pufovacím roztoku, díky čemuž se po jeho vytištění do roztoku LifeSupport® pH i koncentrace solí stanou fyziologickými. V rámci použití se s ním lze setkat například při tisku velmi přesných kolagenových scaffoldů, které je následně možné osadit živými buňkami. Výsledkem je adherence buněk a buněčná remodelace vytištěných struktur. Pořídit lze 4 ml za 525 €. [76]

Photo Alginate® je sterilní metakrylový alginát, který se vyznačuje vysokou biokompatibilitou a možností jeho smíchání s buňkami určenými pro biotisk, což z něj v kombinaci s jeho vlastnostmi, jenž se velmi podobají přirozenému extracelulárnímu matrix, dělá velmi často využívaný materiál. Setkat se s ním lze například při transplantaci buněk, podávání léčiv či aplikacích podporující hojení ran. Z hlediska jeho přípravy je optimální metodou zesíťování pomocí světla či vápníku, tedy s využitím LAB tisku. Vzhledem k tomu, že je ho možné připravit v různých koncentracích, lze díky němu připravit gely o různé tuhosti, což jeho četnosti využití ještě více napomáhá. Pořídit lze 10 ml za 325 €. [77]

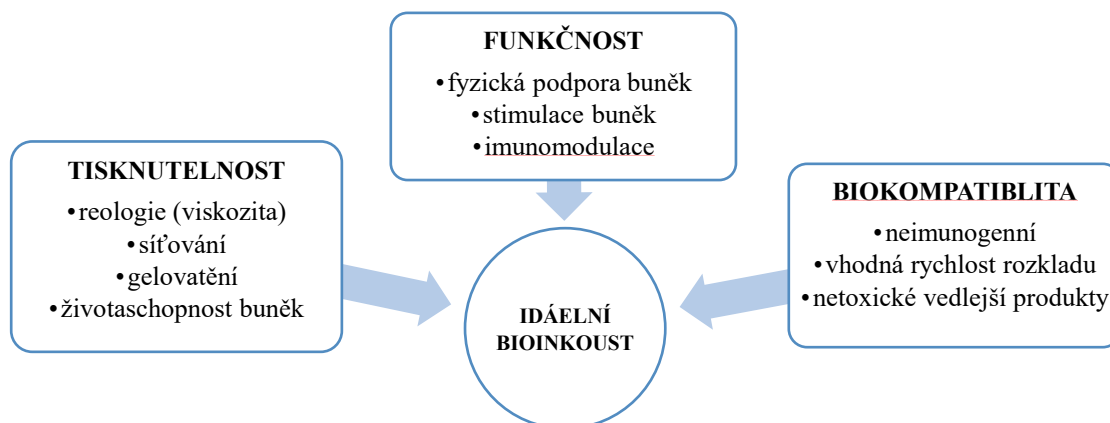
Bioinkoust **CELLINK BONE** je oblíben zejména pro své schopnosti napodobovat zdravé i nemocné tkáně, čehož se využívá v rámci vývoje léčiv a v oblasti regenerativní medicíny. Kromě toho obsahuje i částice trikalciemfosfátu zvyšující tvorbu nové kostní tkáně. K dispozici jsou 3 ml (včetně vhodného zesíťovacího činidla) za 179 €. [78]

Dalším bioinkoustem je **CELLINK FIBRIN**, který je díky svému poloprůhlednému vzhledu využíván i v rámci zobrazování či analýzy buněk. Kromě nanofibrilované celulózy obsahuje i fibrinogen, který se pomocí síťovacího roztoku s trombinem přemění na fibrinovou síť vytvářející vhodné fyziologické prostředí pro hojení ran, napodobující proces srážení krve a podporující vaskularizaci. Obdobně jako CELLINK BONE se využívá v oblasti vývoje nových léčiv. Pořídit lze 3 ml za 425 €. [79]

GeIXA SKIN je určen pro aplikace související s kůží, tedy zejména tvorbu modelů kůže, jenž se následně využívají pro výzkum a testování různých přípravků. Vzhledem k obsahu fibrinogenu je velmi účinný i při hojení ran, kdy se mění na fibrin a pomocí polymerace napomáhá tvorbě a obnově poškozené tkáně. Standardně je dodáván se speciálním síťovacím roztokem obsahujícím trombin umožňujícím dosáhnout velmi vysoké stability výsledných struktur. Pořídit lze 3 ml za 375 €. [80]

3.7 Vlastnosti bioinkoustů

Přestože se požadavky na bioinkoust liší na základě způsobu jeho zpracování i následné aplikace, všechny se snaží svými vlastnostmi co nejvíce přiblížit „ideálnímu“ bioinkoustu. Jeho vlastnosti uvádí například Manita et al. [81] a jsou shrnuty v Obrázku 10.



Obrázek 10 – Vlastnosti „ideálního“ bioinkoustu [81]

3.7.1 Materiálové vlastnosti

Pro biotisk jsou z hlediska materiálových vlastností důležité biotisknutelnost, nerozpustnost v nosném médiu, vysoká mechanická i strukturální soudržnost a stabilita, schopnost napomáhat buněčné regeneraci, rychlost biologického odbourávání shodná s regenerovanou tkání, schopnost splnutí natisknutí a pravé tkáně, netoxičnost a neimunogenicita [55; 62]. V rámci vývoje se klade důraz i na životaschopnost buněk, možnost buněčné migrace, schopnost proliferace a funkčnost vzniklých biologických komplexů [55; 49].

Mezi důležité parametry patří i faktory související s výrobou daného bioinkoustu, tedy jednoduchost jejich přípravy, nutná doba zrání při a po biotisku, možnosti aplikace a cenová dostupnost. Vzhledem k vysokým požadavkům na materiál lze setkat často se situacemi, kdy je materiál z hlediska vlastností vhodný pro použití v lidském těle, avšak z důvodu dosud chybějící technologie pro jejich biotisk v praxi nepoužitelný. [55]

3.7.2 Procesní vlastnosti

Procesní vlastnosti bioinkoustů se odvíjí od metody jejich přípravy. Požadavky na bioinkoust a orientační vlastnosti vhodných materiálů shrnuje Tabulka 6.

Zařadit sem lze i vlastnosti týkající se samotného tisku daných materiálů jako je přesnost či doba jejich tisku [55; 82]. Obecně lze říct, že parametry tisku jsou spolu s reologickými vlastnostmi bioinkou nejzásadnějšími faktory ovlivňující kvalitu konečných struktur [29].

Tabulka 6 – Přehled základních požadavků na bioinkousty a doporučené vlastnosti materiálů [49; 55; 62; 83]

METODA	POŽADAVKY NA BIOINKOUST	ORIENTAČNÍ VLASTNOSTI MATERIÁLŮ
MATERIÁLOVÁ EXTRUZE	<ul style="list-style-type: none"> - tixotropní chování - nízké povrchové napětí - nízká přilnavost - rychlé gelovatění - ztenčení smykem - udržení tvaru po výtisku 	<ul style="list-style-type: none"> - viskozita: 30–36×10⁷ mPa·s - hustota buněk: vysoká (včetně tkáňových sféroidů [83]) - tisknutelné rozlišení: 200–1000 μm
LASEROVÁ TECHNOLOGIE	<p>Založené na fotopolymeraci (SLS, SLA)</p> <ul style="list-style-type: none"> - schopnost fotopolymerace - použití světelného absorbentu a fotoiniciatoru s nízkou toxicitou - stabilita a vysoká mechanická pevnost <p>Založené na přenosu buněk (LIFT)</p> <ul style="list-style-type: none"> - zachování rovnoměrného rozložení buněk - přilnavost na mezivrstvy - nízké povrchové napětí - viskoelasticita - absorpce kinetické energie - rychlé gelovatění 	<ul style="list-style-type: none"> - viskozita: 1–300 mPa·s - hustota buněk: střední (10⁸ buněk/ml) - tisknutelné rozlišení: 10–100 μm
INKOUSTOVÝ TISK	<ul style="list-style-type: none"> - nízká viskozita - nevláknitá povaha - střední povrchové napětí - rychlé gelovatění 	<ul style="list-style-type: none"> - viskozita: < 10 mPa·s [62] 3,5-12 mPa·s [83] - hustota buněk: nízká (< 10⁶ buněk/ml) - tisknutelné rozlišení: 10–50 μm

4 APLIKACE MATERIÁLOVÉHO TISKU PŘI VÝROBĚ TENKÝCH VRSTEV Z BIOMATERIÁLŮ

Tenký film představuje vrstvu deponovaného materiálu, jehož tloušťka se pohybuje od nanometrů do několika (někdy až stovek) mikrometrů [25; 26]. Tenké filmy (vrstvy) mohou být připraveny různými metodami, z nichž některé byly již popsány v předešlé části této práce. Postupným nanášením vrstvy po vrstvě (z angl. *layer-by-layer*) ale lze docílit i přípravy tlustších filmů, které mohou najít využití v různých průmyslových odvětvích. V následující části bude uvedený přehled několika možných aplikací tenkých vrstev z biomateriálů připravených pomocí různých metod materiálového tisku s důrazem především na vrstvy připravené pomocí metod založených na tryskání kapiček, tj. na vrstvy a aplikace připravené pomocí inkoustového (inkjetového) tisku.

V rámci následující kapitoly se práce blíže zabývá aplikacemi zahrnující tisk buněčných či tkáňových struktur, možnostmi jeho využití v oblasti farmacie a biosenzorů. Na závěr jsou pak uvedeny dvě shrnující tabulky, v nichž je uvedeno několik dalších možných aplikací.

4.1 Materiálový tisk buněčných struktur

Aplikace materiálového tisku v oblasti buněčných struktur byly zkoumány například na buněčném micro-array pro screening léků nebo na biomimetickém mikroprostředí pro buňky při tvorbě modelů nemocí [54].

Z vhodných a účinných metod se zde uplatňuje zejména inkoustový tisk, u kterého se kromě současných aplikací začíná pracovat i s myšlenkou buněčných modifikací, transferací genů či rozšířením možných aplikací v oblasti regenerativní medicíny. Využívá se ale i laserově asistovaný biotisk, mikro-ventilový, akustický či elektrodynamický tisk. [57]

Příklady typů buněk připravených pomocí biotisku na bázi kapek shrnuje Tabulka 7.

Tabulka 7 – Příklady využití materiálové tisku při přípravě buněčných struktur [57; 60]

TYP BUNĚK	METODA TISKU	ŽIVOTASCHOPNOST BUNĚK
NEURONY	inkoustový tisk	> 90%
EMBRYONÁLNÍ	mikro-ventilový biotisk	> 95%
KMENOVÉ BUŇKY	akustický biotisk	> 90%
NEURONOVÉ BUŇKY	elektrodynamický biotisk	nespecifikováno

4.2 Materiálový biotisk tkáňových struktur

Aplikace materiálového biotisku, zejména pak inkoustového, je v oblasti přípravy tkáňových struktur využívána zejména pro schopnost vytvářet velmi přesné vzory o vysokém rozlišení [52]. V rámci posledních výzkumů se však ukázalo, že není nutné vytvářet přesné repliky biologických orgánů. V případě, kdy je tisknoucím se buňkám poskytnuto vhodné prostředí, dokáží se samy seskupit a začít fungovat jako přirozeně se vyskytující tkáň. [57]

4.2.1 Chrupavčitá tkáň

Jedním z typických příkladů aplikací biotisku jsou chrupavčité tkáně, a to především kvůli jejich omezené schopnosti regenerace způsobené malým počtem vyskytujících se buněk a nedostatkem krevních cév [30]. Pomocí implantovaných scaffoldů je však možné napomoci proliferaci chondrocytů a výrazně tak podpořit proces její obnovy [39].

Xiaofeng Cui et al. [84] přišel s metodou, v níž se kombinuje termická inkoustová tiskárna se simultánní fotopolymerizací, při níž je životaschopnost buněk i výsledné rozlišení tisku výrazně vyšší oproti klasickým laserově asistovaným metodám tisku. Výsledkem pak je věrné napodobení přirozené anatomické struktury chrupavky, včetně typických mechanických vlastností.

4.2.2 Kožní tkáň

Vzhledem k poměrně jednoduché vrstevnaté struktuře lidské kůže jde o typ tkáně, který lze pomocí materiálového tisku snadno napodobit. Využívá se zde kombinace kolagenu, fibroblastů a keratinocytů [85], přičemž se často využívá i kombinace s živými lidskými buňkami [27]. Zlepšení mechanických vlastností je možné přidáním kolagenu s PCL [85]. Aplikace takto připravené umělé kožní tkáně nejčastěji směřuje k léčbě popálených pacientů, kde je tímto způsobem možné výrazně snížit jejich úmrtnost a do výzkumu pro testování nových léčiv či kosmetiky [39].

Dalším využitím biotisku v této oblasti je vytvoření acelulární dermální náhrady poskytující aktivní ochranu postižené (např. popálené) oblasti a současně i napomáhající regeneraci pokožky pomocí podpoření adhezních, proliferačních a migračních procesů buněk [27]. Jedním z příkladů je například MatriDerm®, který je použitelný jak pro akutní, tak chronické rány. Princip regenerace kůže je zde založen na vytvoření vrstvy napodobující přirozeně se vyskytující extracelulární matrix, díky čemuž dojde k vytvoření neodermis, která napomáhá navrácení anatomických a fyziologických funkcí poškozené tkáně [86].

Pro příklad realizace biotisku kožní tkáně v praxi bude uveden výzkum provedený Kimem et al. V rámci něho se snažili připravit model kožní tkáně, který by odpovídal po strukturní i funkční stránce lidské kůže. Využit k tomu byl několika krokový postup, jehož výsledkem byl model s rozlišením na dermis, epidermis a podkoží, včetně dostatečného množství cév. [39]

4.2.3 Cévy, srdeční tkáň

V roce 2014 byl vytvořen vaskulární model pomocí kombinace vytištění kanálků ve vrstvách kolagenu, do kterých byla umístěna suspenze endoteliálních buněk [85]. V rámci jiného výzkumu, při němž byla vnitřní výstelka rovněž tvořena endoteliálními buňkami, ale vnější vrstvu tvořily buňky hladké svaloviny a fibroblasty, bylo zjištěno, že v případě, kdy mají průměr do 6 mm, může dojít ke vzniku trombózy či intimální hyperplazie [42].

Další aplikací je vytvoření komplexní cévní sítě, která by následně mohla pomoci regeneraci myokardu či srdečních chlopní. Zatím je však tento model pouze v oblasti výzkumu, pro převedení do klinické praxe je potřeba zlepšit stávající elektro-fyzikální, hydrodynamické a mechanické vlastnosti [42].

Z hlediska přípravy srdeční tkáně se využívají zlaté nanodrátky a uhlíkové nanočástice, pomocí kterých dochází ke zlepšení adheze srdečních buněk, podpoře jejich samoorganizace i k synchronizovaným kontrakcím díky jejich elektrickému přemostování [42].

4.2.4 Nervová tkáň

Biotisk je i vhodný pro regeneraci centrálních a periferních nervů, a to především díky možnosti velmi přesného umístění jednotlivých buněk a využití kombinace různých buněk, jako jsou například Schwannovy, pluripotentní či mezenchymální kmenové, spolu s vhodnými biomateriály a biomolekulami. Pro příklad v rámci obnovy poškozené periferní nervové tkáně byla použita kombinace alginátu s hydroxyapatitem (HA), želatinou-metykrylátem (GelMA) či polyethylen-glykol-diakrylátem (PEGDA). Z hlediska dalších aplikací bylo zjištěno, že v případě zavedení stimulačně reagujících polymerů do hydrogelu, je možné vytvářet i systém, pomocí něhož je možné přenášet vzruchy až na eferentní končetiny [42].

Pomocí inkoustového tisku je také možné vytvářet scaffoldy napomáhající uchycení, umístění a následnou proliferaci nervových buněk po jejich poranění, což výrazně usnadňuje samoregenerační schopnosti nervů [87].

4.2.5 Nádorová tkáň

Materiálový tisk nádorových tkání se využívá v rámci výzkumů týkajících se nádorových onemocnění, kdy je možné nasimulovat a následně zkoumat především jejich vývoj a průběh [85]. Současně lze na nich testovat protinádorové terapie a hodnotit jejich účinnost *in vitro* [88].

4.3 Materiálový tisk scaffoldů

Specifickou oblastí biotisku je výroba scaffoldů, u níž je základním požadavkem podobnost k přirozeně se vyskytující extracelulární matrix. Důraz je tedy kladen zejména na biokompatibilitu a případnou biodegradabilitu [89], jelikož je kromě biologicky odbouratelných scaffoldů možné připravit i biologicky inertní. Principem tisku scaffoldů je vytvoření opory buňkám, která jim rovněž poskytuje potřebnou stabilitu a mechanické vlastnosti. Kromě toho mohou přímo stimulovat okolní buňky k vyvolání žádoucích buněčných odpovědí. Hlavní výhodou využití tisku při tvorbě scaffoldů je možnost rovnoměrného osazení buňkami, a to i uprostřed, což je při jejich přípravě jinou cestou často zásadním problémem [90]. Kromě toho je možné také přizpůsobovat pórovitost a propustnost podle konkrétních požadavků na danou aplikaci [65].

Jejich využití je v oblasti tkáňového inženýrství velmi široké, kdy se lze setkat se scaffoldy jak pro kosti, chrupavky či vaziva, tak i pro kosterní svalstvo. Z materiálů se využívá například hydroxyapatit, sójový protein, chitin, chitosan či celulóza. [89]

4.4 Farmakologie

S biotiskem se lze setkat i ve farmakologii, kde může napomáhat při výrobě i následném testování vyvíjených léčiv. Využití piezoelektrického inkoustového tisku nachází uplatnění ale například i při výrobě mikro Jehliček zprostředkávající podávání léčivých látek v rámci transdermální léčby [27; 91]. Například Boehm et al. [91] použili při jejich přípravě metodu mikrostereolitografie, pomocí které vytvořili z kopolymeru kyselého anhydridu vnější obal, jenž následně naplnili pomocí piezoelektrické inkoustové tiskárny mikronazolem.

V[91] rámci výzkumu je nyní věnována pozornost i použití technologií inkoustového tisku pro genové terapie založené na buňkách nebo tzv. *digitálnímu biotisku*, při kterém je materiál opatřen magnetickými nanočásticemi, pomocí kterých je následně umožněno přesunout materiál na požadované místo. Další směr vývoje je zaměřen na samotné léky,

kteřé by mohly být buď samotné nebo zabudované do mikro- a nanosfér, a vloženy do konstruktů optimalizující proces vzniku tkání [57].

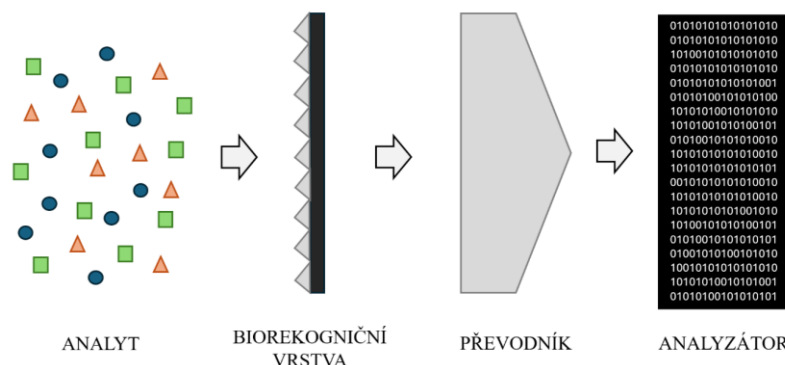
4.5 Biosenzory

Od předchozích příkladů mírně odlišnou, avšak jednou z nejrozšířenější, aplikací jsou biosenzory. Jedná se o analytická zařízení skládající se z biologicky citlivého receptoru a fyzikálně chemického převodníku, přičemž jsou tyto dvě části v těsném kontaktu, a spolu se podílí detekci biomolekul (analytu) a jejich následném chemickém zpracování. Výsledkem je získání digitálního či analogového signálu [92], který je prostřednictvím analyzátoru zpracován a převeden na zobrazovací zařízení [93].

Jiným způsobem by je bylo možné popsat také jako miniaturní zařízení, která jsou schopná zajišťovat nepřetržité snímání a monitorování biochemických, bioelektrických, fyzikálních, fyziologických či metabolických funkcí člověka bez jakéhokoliv omezení v běžném životě. V průběhu let se lze setkávat se stále menšími, chytřejšími a energeticky méně náročnými zařízeními, které kromě samotného monitorování dokáží v určitých případech zjištěná data i sama analyzovat a například zprostředkovávat určitou stimulaci, případně přizpůsobovat svou funkčnost či jinak reagovat na aktuálně nastalý stav [94].

4.5.1 Složení biosenzoru

Biosenzory se skládají ze tří základních částí – biorekogniční vrstvy, fyzikálně-chemický převodníku a analyzátoru zajišťující zpracování [93]. Schematické zobrazení složení biosenzoru je zobrazeno na Obrázku 11.



Obrázek 11 – Schematické zobrazení jednotlivých částí biosenzoru (vlastní zpracování)

4.5.1.1 Biorekogniční vrstva

Základní částí biosenzorů je biorekogniční vrstva, jejíž hlavním úkolem je rozpoznávat analyty (až na molekulové úrovni) podle změny jeho intenzity v závislosti na koncentraci produktu [95] a zpracovávat takto přijatý chemický signál [92].

Podle způsobu detekce analytu ji můžeme rozdělit na dvě základní skupiny – katalytická enzymová a afinitní. **Katalytická enzymová vrstva** se používá především při nutnosti detekovat malé molekuly a nejčastěji ji lze nalézt v kombinaci s optickými či elektrochemickými převodníky signálu. Její použití je však omezené pouze na poměrně malé množství enzymových reakcí a vhodných enzymů, které by měly být odolné vůči denaturaci z důvodu jejich vystavení nefyziologickým podmínkám či modifikaci enzymu při procesu jejich znehybnění při detekci biosenzorem. Naopak **afinitní vrstvu** je možné aplikovat na široké spektrum molekul, a to i při zajištění vysoké specifity detekce žádaného analytu. Nevýhodou je ale poměrně drahá a komplikovaná příprava receptorů. Uplatnění nacházejí zejména při detekci molekul obsahující antigenní strukturu – proteiny a některé nízkomolekulární látky, pro které je typické navazovat se na různé nosiče, jež následně umožní vytvořit vazbu s detekční vrstvou. Jako zástupce biosenzorů s **afinitní vrstvou** lze uvést imunosenzory využívající imunoglobulinové protilátky a **afinitní biosenzory** vycházející z vlastností molekul aptamerů. [92]

4.5.1.2 Fyzikálně-chemický převodník

Další částí je fyzikálně-chemický převodník, pomocí kterého dochází k převodu biosignálu (např. změna pH, uvolnění tepla, tok elektronů vytvoření nové chemické sloučeniny [93] na jiný druh signálu, který může být následně zpracován. [95; 96]

Podle typu fyzikálně-chemických převodníků se můžeme setkat s několika různými druhy biosenzorů. Změny elektrických vlastností, ke kterým dochází při reakci analytu s bioreceptorem zaznamenávají **elektrochemické biosenzory** [93], což je zároveň nejdéle i nejvíce používaný typ ze všech [97]. Detekci optických změn, ke kterým dochází při biochemických reakcích, zajišťují **optické biosenzory**. *Tepelné* reagují na změny teploty, ke které dochází při biochemických reakcích a u **piezoelektronických** je zásadní změna hmotnosti, se kterou se lze setkat při biomolekulární interakci [66]. Existují ale i **kalorimetrické** nebo **akustické** [97].

4.5.1.3 Analyzátor

Pro funkčnost biosenzorů je zásadní tzv. analyzátor, pomocí kterého se zpracovávají signály (nejčastěji elektrické) na zobrazovacích zařízeních, kdy může být komunikace například v případě nositelných biosenzorů zajištěna pomocí NFC nebo Bluetooth [93].

4.5.2 Vlastnosti biosenzorů

4.5.2.1 Citlivost

Citlivost biosenzorů se odvíjí od nejnižší koncentrace, kterou je zařízení schopné detekovat. Často se uvádí i jeho dynamické rozmezí funkčnosti, které zahrnuje kromě nejnižší hodnoty i nejvyšší, jenž je možné spolehlivě a přesně změřit. [96; 98]

4.5.2.2 Rychlost odezvy

Rychlost odezvy je závislá především na rychlosti difuze analytu z okolí k povrchu biosenzoru a rychlosti vnitřní difuze v systému biosenzoru, která se odvíjí od koncentrace analytu, velikosti difuzních koeficientů a počtu vrstev biosenzoru, které musí analyt překonat. [96; 98]

4.5.2.3 Doba odezvy

Čas, který je potřeba pro dosažení dané velikosti signálu ve výsledném ustáleném stavu, jenž je následně možné zaznamenat pomocí biosenzoru, popisuje tzv. *doba odezvy*. Její rychlost závisí na typu biorekogniční části, která je v případě přítomnosti enzymu odvislá od koncentrace enzymu a substrátu. Pokud je zde však použita protilátka či bioreceptor, odvíjí se od velikosti afinitní konstanty K_a . [96; 98]

4.5.2.4 Selektivita

Principem selektivity biosenzorů je vytvořit odezvu pouze v případě, kdy se v jeho přítomnosti nachází určitá látka. Jelikož se ale často v okolním prostředí nacházejí rušivé elementy, které mohou tuto odezvu zkruslovat vlivem zředění či přidání selektivní bariéry, je mnohdy jejich působení nutné eliminovat. [96; 98]

4.5.2.5 Životnost

Životnost biosenzorů je možné posuzovat z dvou hledisek – operační stabilitu a stabilitu při skladování. Zatímco první skupina závisí na počtu a druhu analyzovaných vzorků, a není ji tak při správném používání příliš množné prodlužovat, druhou můžeme navýšit například jejich skladováním v suchu a při nižších teplotách. Je však nutné myslet na to, že je každý přístroj jiný a ideální skladovací podmínky se tak mohou lišit. [96]

Z hlediska životnosti je však nejnáchylnějším prvkem biorekogniční část [98].

4.5.3 Materiálový tisk biosenzorů

Biosenzory je možné připravovat mnoha různými způsoby, od inkoustového tisku, přes síťotisk litografií či *roll-to-roll hrubotisk* až po metodu přenosu razítkem.

4.5.3.1 Inkoustový tisk

Biosenzory je možné připravovat pomocí již zmiňovaného inkoustového biotisku, který je blíže popsán v kapitole 2.3.1. K přednostem této metody patří zejména bezkontaktnost tisku, spotřeba pouze skutečně vytisknutého materiálu, přesná kontrola umístění tisknouceho se materiálu, snadná reprodukovatelnost vzoru, velké množství potisknutelných substrátů, tisknutelnost enzymů, možnost realizace aditivního i přímého vzorování a v neposlední řadě rychlá a snadná úprava digitálně připravených tisknoucích se vzorů. [59; 99; 100; 101]

V rámci výzkumu provedeného kolektivem Tae-Hyung Kanga byly pomocí sekvenčního inkoustového tisku nanobioinkoustu, elektrolytů či roztoků enzymů připraveny biosenzory se schopností detekce změny koncentrace glukózy v rozlišení už 20 μM . Měření glukózy následně proběhlo i v potu, což se ukázalo jako srovnatelné s hodnotami naměřenými v krvi. [99]

4.5.3.2 Síťotisk

V současné době je nejčastěji využívanou metodou při výrobě elektronických prvků síťotisk, neboli *screen printing* [97]. K jejím značným přednostem patří kromě rychlosti, snadné možnosti reprodukce či univerzální použití [59], což ve výsledku s kombinací nutnosti nízkých nákladů na provoz umožňuje využití této technologie i v měřítku průmyslové velkovýroby [93]. Problémem zde ale naopak může být vysoká spotřeba materiálu, což je limitující zejména při práci s drahými materiály (např. ušlechtilé kovy) [59].

Jedná se o metodu založenou na tzv. *technologii tlusté vrstvy*, u které jde principiálně o nanesení pasty na základní podložku (keramickou nebo plastovou) a jejímu vytvrzení pomocí vyšší teploty (vysušení) či UV záření. Složení zmiňované pasty záleží na požadavcích na vyráběný senzor (elektrodu), kdy právě zvolené materiály zásadně ovlivňují následnou kinetiku transportu elektronů. Obecně se však lze setkat především s pastami plněnými uhlíkem, zlatem nebo stříbrem, přičemž jsou jako pojiva nejčastěji používány různé rozpuštěné polymery (polykarbonát či acetát celulózy) v organických rozpouštědlech, (cyklohexanon, aceton nebo etylenglykol). [97]

Samotný tisk probíhá v několika vrstvách, kdy je po vytvoření každé vrstvy nutné provést vyžihání dosavadního podkladu. První vrstva je tisknutá obvykle pomocí Ag/AgCl inkoustu a vzniká tak vodivá vrstva, která následně tvoří referenční elektrodu. Pro druhou, polovodivou, vrstvu definující pracovní a pomocnou elektrodu se využívá inkoust na bázi uhlíku (příp. kovu), přičemž se do něho přidává i enzym. Díky tomu je biosenzoru následně umožněno provádět selektivní biomonitoring. Třetí vrstva je vytvořena pomocí izolačního inkoustu. [93]

4.5.3.3 Litografie

U litografie je princip tisku založen na přenosu požadovaného vzoru (nanášené vrstvy) na substrát pomocí razítka. Při výrobě biozařízení se lze setkat se třemi metodami – fotolitografií, měkkou litografií a nanotiskovou litografií [90]. Při *fotolitografii* dochází k nanášení požadovaného vzoru na fotomasku, odkud je následně pomocí UV záření přenesen na fotorezist umístěný na substrátu. *Měkká litografie* využívá pro přenos vzorů elastomerová razítka, která je následně možné aplikovat i na pružné, měkké či zakřivené povrchy. U *nanotiskové litografie* je razítkem tvrdá forma, obvykle vyrobená z křemíků, která je následně umístěna na substrát. Vlivem působení tepla a/nebo UV záření dojde k vytvrzení vzoru, který je po odstranění razítka ještě doupřaven pomocí leptání. [93]

4.5.3.4 Roll-to-roll hrubotisk

Další průmyslově využitelnou technologií je tzv. *roll-to-roll hrubotisk*, nacházející uplatnění zejména při výrobě flexibilních nositelných biosenzorů [53]. Během prvního kroku *roll-to-roll hrubotisku* proběhne nános stříbrné (případně jiné) vrstvy definující referenční elektrodu a spodní vrstvu pracovní a referenční elektrody pomocí rotujících válců, které postupně realizují přenos vzoru od zdroje na substrát [59]. Následuje vrstva uhlíkového (příp. jiného) inkoustu, na základě které dojde k finální vrstvě obou elektrod. Současně je díky ní umožněno vytvoření elektrochemicky inertního povrchu nebo zajištění prostředí pro možný průběh oxidačně-redukčních dějů. Na závěr je jako izolační vrstva nanášena polyethylenová pryskyřice. Výjimkou však není ani použití jiného izolačního materiálu [93].

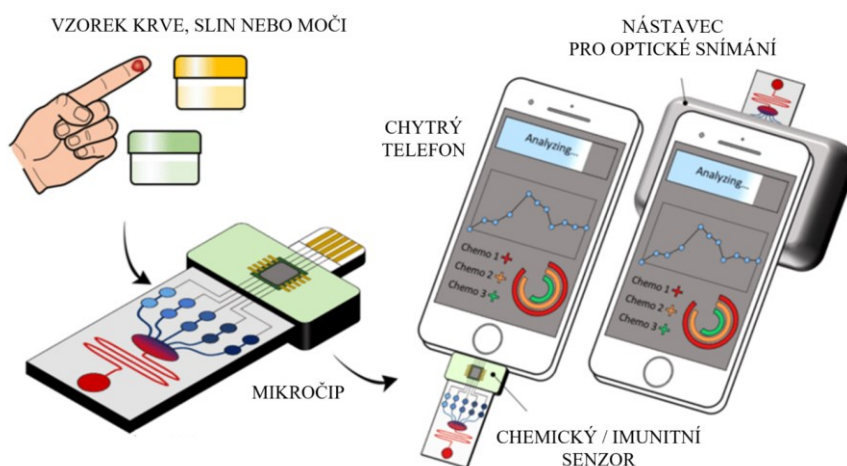
4.5.3.5 Přenos razítkem

Pro metodu nazývanou jako „přenos razítkem“ jsou typická elastomerní razítka, kterými se postupně nanášejí jednotlivé vrstvy elektrod, a to i na nerovné povrchy či velké

plochy. Výsledné elektrody jsou výkonnostně srovnatelné s vytištěnými elektrodami, navíc mají ale i větší odolnost vůči mechanickému zdeformování. [93]

4.5.4 Využití biosenzorů

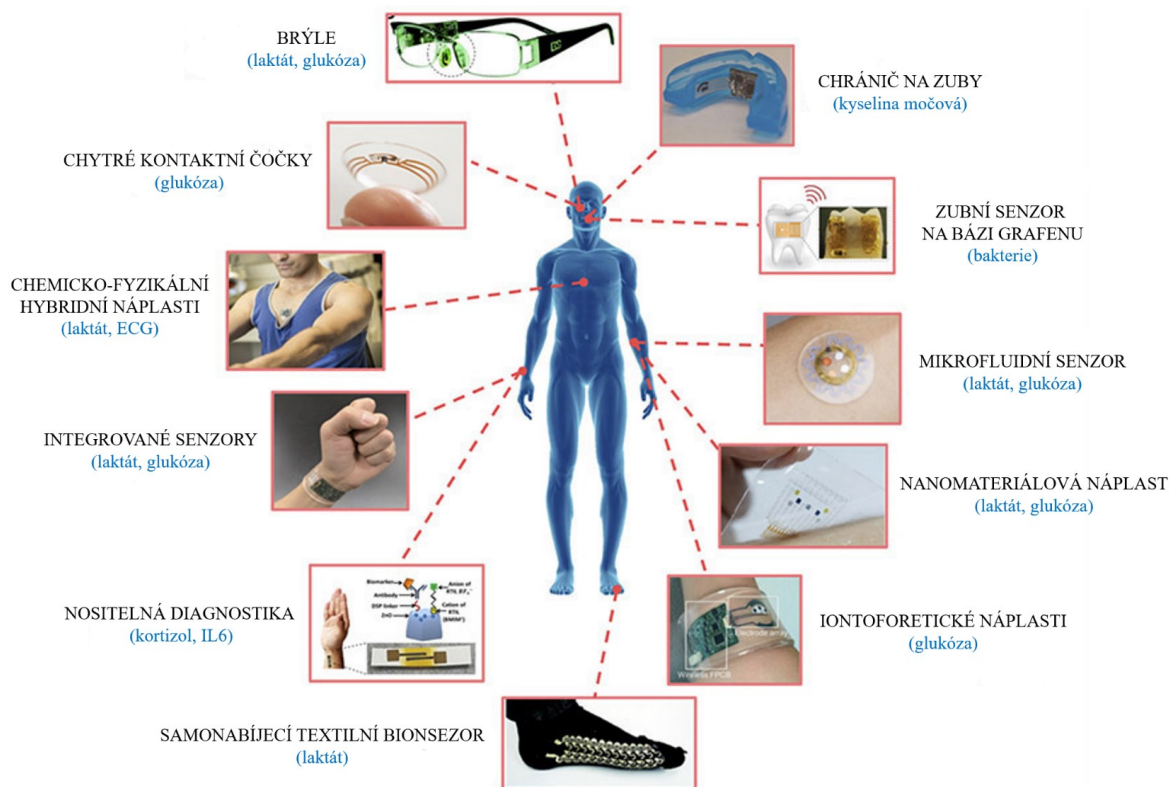
Biosenzory se používají zejména v oblasti medicíny, kde se s nimi můžeme setkat při klinické diagnostice – například při stanovování glukózy v krvi nebo jiných testech, u kterých dochází k imunodetekci analytu. V současnosti se jejich vývoj orientuje z velké části na tzv. *point-of-care* systémy vyznačující se zejména přenositelností, snadnou obsluhou, nízkou cenou a rychlým stanovením výsledku. Zejména poslední bod je zásadní v případě nutnosti zahájit případnou léčbu v co nejkratším čase a odpadnutí prodlevy mezi odběrem vzorku a zjištěním výsledků laboratoří, do níž musí být zasláný, zde tak může hrát naprosto klíčovou roli [92]. Pro příklad je na Obrázku 12 uveden biosenzor umožňující analyzovat vzorky krve, moči nebo slin pomocí mobilního zařízení [102].



Obrázek 12 – Princip point-of-care biosenzoru (převzato a upraveno z [102])

Dalším typem jsou tzv. *nositelné biosenzory*, k jejichž základní charakteristice patří připevnění biosenzoru na nositelnou platformu, kterou mohou být nejrůznější náramky z pružných materiálů či náplasti, oblečení, obuv, brýle, kontaktní čočky nebo chrániče na zuby. Typ biosenzoru i platformy pak závisí na zpracovávaném analytu – tělní tekutině, na kterou se daný biosenzor zaměřuje. Mezi zmiňované tělní tekutiny patří například pot, slzy nebo sliny [93; 103]. Mezi jejich značné výhody patří možnost aplikace i odstranění bez nutnosti lékaře, bezbolestné a neinvazivní odebrání analytu a možnost neustálého sledování bez jakéhokoliv omezování jedince v běžném životě. Díky tomu je pomocí nich možné zachytit náhlou změnu zdravotního stavu, což může napomoci včasnému zahájení léčby. [93]

Příklady nositelných biosenzorů jsou znázorněny na Obrázku 13.



Obrázek 13 – Příklady nositelných biosenzorů, včetně zkoumaného analytu (převzato a upraveno z [103])

Široké využití mají i u chirurgických implantátů, kde výrazně napomáhají při nutnosti nepřetržitého sledování v rámci preventivní, pooperační či rehabilitační péče u onemocnění jako jsou například kardiovaskulární nemoci, cukrovka, chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) či Alzheimerova choroba. Pro ilustraci možných aplikací lze zmínit například elektrochemické biosenzory, pomocí kterých lze sledovat například různé koncentrace iontů, z čehož lze získat informace týkající se stavu tkání či souvisejících biochemických procesech, dále jsou schopny detekovat látky jako je například kyslík, glukóza či laktát nebo se zaměřit na bakterie nebo biologické markery rakoviny. Z dalších příkladů využití biosenzorů lze zmínit možnost monitorovat gastroezofageální reflux, arteriální či plicní tlak nebo funkci neurostimulátorů pro snímání mozkové aktivity včetně schopnosti zastavení záchvatů. [94]

4.6 Přehled aplikací

Následující dvě tabulky zachycují několik dalších možných aplikací materiálového tisku. Tabulka 8 se zaměřuje pouze na inkoustový tisk, Tabulka 9 zahrnuje i jiné metody materiálového tisku využitelných v rámci bioaplikací.

Tabulka 8 – Příklady aplikací inkoustového tisku (převzato z [54])

METODA	APLIKACE VYCHÁZEJÍCÍ Z PROVEDENÝCH VÝZKUMŮ
TERMÁLNÍ DOD	<ul style="list-style-type: none"> - kolagenové scaffoldy - kožní štěpy se zabudovanými cévními sítěmi pro studie hojení ran <i>in vivo</i> - vysokokapacitní miniaturní screening léčiv
PIEZOELEKTRICKÝ DOD	<ul style="list-style-type: none"> - tisk bakteriálních buněk ke studiu komunikací mezi nimi - komplexní tubulární tkáň - mikrosféry s jednotlivými zapouzdřenými buňkami - čipy lidské jaterní tkáně složené z hepatocytů - hedvábné mřížky pro umístění buněk E.Coli umožňující biosenzoriku
ELEKTROSTATICKÝ DOD	<ul style="list-style-type: none"> - duté tkáňové struktury z HeLa buněk
ELEKTRO-HYDRODYNANICKÝ	<ul style="list-style-type: none"> - biotisk lidských astrocytomových buněk, bílých krvinek a erytrocytů - mikroenkapsulace buněk - kolagenové a fibronektinové scaffoldy
AKUSTICKÝ	<ul style="list-style-type: none"> - zapouzdření jedné/více buněk - 2D heterogenní tkáňové struktury (např. buňky karcinomu prsu)
MIROVENTILOVÝ	<ul style="list-style-type: none"> - tisk plicní tkáně - zapouzdření buněk - tkáňová struktura hladké svaloviny potkaního močového měchýře s kolagenem - heterogenní tkáň ovariálního karcinomu a normální lidské buňky - fibrochrupavové tkáňové modely - tisk kožní tkáně z lidských dermálních fibroblast, epidermálních keratinocytů a kolagenu - tisk nervové tkáně z krysích astrocytů, neuronů a kolagenu - tisk chrupavčité tkáně z chondrocytů, fibrinogenu a kolagenu - scaffoldy z fibrinového gelu uvolňující vaskulární endotelový růstový faktor

Tabulka 9 – Využití vybraných biomateriálů (převzato z [60], doplněno z [54])

MATERIÁL	METODA TISKU	VYUŽITÍ
AGARÓZA	- mikro-ventilový tisk	- příprava cévní tkáně
ALGINÁT	- inkoustový tisk - laserově asistovaný biotisk - mikro-ventilový tisk	- příprava srdeční pseudotkáně - příprava cévní či jaterní tkáně - komplexní heterogenní tkáňové struktury - enkapsulace lidských pluripotentních kmenových buněk - testování <i>in vivo</i> a <i>in vitro</i> funkčnosti a diferenciací kmenových buněk
CHITOSAN	- inkoustový tisk - elektro-hydrondamický tisk	- výzkum buněčného chování - nanočásticové nosiče léčiv
KOLAGEN	- inkoustový tisk - laserově asistovaný biotisk - mikro-ventilový tisk - akustický biotisk - elektrohydrondamický tisk	- vláknité scaffoldy pro tkáňové struktury - vzorování substrátu pro buněčný výzkum - příprava chrupavčité tkáně - mezivrstvy kožních štěpů - mezivrstvy pro umělé kožní tkáně vyrobených z fibroblastů a keratinocytů
ŽELATINA	- inkoustový tisk - elektro-hydrondamický tisk	- regenerace kůže - obnova chrupavek - výzkum buněčných funkcí
PEG	- inkoustový tisk - elektro-hydrondamický tisk	- podpora obnovy lidské chrupavky - antibakteriální membrány - prevence nitrobřišní adheze - podpora tvorby kostní a chrupavek
PCL	- elektro-hydrondamický tisk	- regenerace paradontu - podpora hojení diabetických vředů

ZÁVĚR

Práce je členěná do několika kapitol, přičemž postupně popisuje klíčové body práce.

Na začátku se zabývá biomateriály, jejich základní definicí, vlastnostmi, mezi které patří zejména biokompatibilita, bioaktivita, bioinertnost a bioresorbovatelnost, a základním rozdělením, kdy postupně prochází polymerní, keramické, kovové a kompozitní biomateriály. U každého typu jsou zmíněny nejdůležitější vlastnosti, příklady jejich využití a několik konkrétních materiálů.

V druhé kapitole se práce věnuje vybraným metodám materiálového tisku, pomocí níž lze připravovat tenké vrstvy mající rozměry od několika nanometrů až po stovky mikrometrů, a to zejména pro biomedicíální využití. Jednotlivé metody jsou děleny na základě způsobu tisku do tří kategorií – založené na materiálové extruzi, využívající laser nebo na principu tryskání kapiček bioinkoustu. Konec kapitoly zahrnuje souhrn jednotlivých metod depozice ve formě tabulek, a to na základě různých hledisek. V rámci nich jsou porovnány metody na bázi kapiček podle životaschopnosti buněk po tisku a jejich výhod či nevýhod. Ty jsou následně zmíněny i pro jednotlivé metody materiálového tisku

Následně je diskutována problematika bioinkoustů využitelných pro materiálový tisk. Na začátku jsou stručně charakterizovány a poté rozděleny podle původu na přírodní a syntetické. Druhé členění bioinkoustů je na základě využití scaffoldů při tisku, kdy se s nimi lze setkat u hydrogelů, decelularizovaných složek matric a mikronosičů, zatímco u tkáňových sféroidů, buněčných pelet a tkáňových vláken ne. Největší pozornost je věnována hydrogelům, u nichž je uvedeno i několik konkrétních příkladů s jejich výhodami a nevýhodami. Další část kapitoly se věnuje současným i potenciálním materiálům, kde jsou zde zmíněny hybridní hydrogely, biotisk uhlíkových nanomateriálů, roztoků enzymů a biotisk funkčních biomolekul. Na závěr je uvedeno několik příkladů komerčně dostupných bioinkoustů, a souhrn základních materiálových a procesních vlastností kladených na bioinkousty.

Poslední kapitola je zaměřena na aplikace materiálového tisku při výrobě tenkých vrstev z biomateriálů. Zahrnuje popis materiálového tisku buněčných a tkáňových struktur, možnosti jeho využití v oblasti farmakologie a při přípravě biosenzorů, jenž představuje jednu z hlavních aplikací. V závěru práce se nachází souhrn ve formě tabulek, z nichž jedna uvádí příklady aplikací inkoustového tisku na základě provedených výzkumů a druhá využití nejběžnějších biomateriálů pomocí možných metod jejich zpracování.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KRATOCHVÍLOVÁ, Lucie. *Kostní cement na bázi fosforečnanu vápenatého modifikovaný povrchově upravenými nanodiamanty*. Diplomová práce. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta strojní, 2023.
- [2] VRTĚLOVÁ, Ivana. *Zkoumání morfologie povrchu materiálů používaných ve zdravotnictví pomocí mikroskopických a jiných experimentálních technik*. Bakalářská práce. Pardubice: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2020.
- [3] PETRUSOVÁ, Bára. *Pulsní laserová depozice titanátu vápenatého pro zvýšení bioaktivity titanových povrchů*. Bakalářská práce. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, fakulta pedagogická, Katedra chemie, 2020.
- [4] EHRLICH, Hermann. Biomaterials and Biological Materials, Common Definitions, History, and Classification. Online. *Biological Materials of Marine Origin*. Biologically-Inspired Systems. 2010, s. 3-22. ISBN 978-90-481-9129-1. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-90-481-9130-7_1. [cit. 2024-05-13].
- [5] KARAKULLUKCU, Altun Buse; TABAN, Emel a OJO, Olatunji Oladimeji. Biocompatibility of biomaterials and test methods: a review. Online. *Materials Testing*. 2023, roč. 65, č. 4, s. 545-559. ISSN 0025-5300. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/mt-2022-0195>. [cit. 2024-05-13].
- [6] HE, Wei a BENSON, Roberto. Polymeric Biomaterials. Online. *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices*. 2014, s. 55-76. ISBN 9780323228053. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-22805-3.00004-9>. [cit. 2024-05-14].
- [7] PLEVÁKOVÁ, Veronika. *Biologické vlastnosti biomateriálů*. Diplomová práce. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2019.
- [8] SMALLMAN, R.E. a BISHOP, R.J. Biomaterials. Online. *Modern Physical Metallurgy and Materials Engineering*. 1999, s. 394-405. ISBN 9780750645645. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-075064564-5/50013-6>. [cit. 2024-05-13].
- [9] SOMR, Josef. *Porézní bioaktivní materiály funkcionalizované nanočásticemi deponovanými pomocí laserové ablace*. Diplomová práce. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta strojní, 2021.
- [10] WILLIAMS, David F. On the mechanisms of biocompatibility. Online. *Biomaterials*. 2008, roč. 29, č. 20, s. 2941-2953. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>. [cit. 2024-05-13].
- [11] KOHANE, Daniel S a LANGER, Robert. Polymeric Biomaterials in Tissue Engineering. Online. *Pediatric Research*. 2008, roč. 63, č. 5, s. 487-491. ISSN 0031-3998. Dostupné z: <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000305937.26105.e7>. [cit. 2024-05-14].
- [12] JONES, J.R. a HENCH, L.L. Biomedical Materials. Online. *Encyclopedia of Condensed Matter Physics*. 2005, s. 108-116. ISBN 9780123694010. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B0-12-369401-9/00405-8>. [cit. 2024-05-13].
- [13] JONES, JULIAN R. Scaffolds for tissue engineering. Online. *Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering*. 2005, s. 201-214. ISBN 9781855737372. Dostupné z: <https://doi.org/10.1533/9781845690861.4.201>. [cit. 2024-05-13].
- [14] RIZWAN, M.; BASIRUN, Wan Jeffrey; RAZAK, Bushroa Abd a ALIAS, Rodianah. Bioinspired ceramics for bone tissue applications. Online. *Ceramic Science and Engineering*. 2022, s. 111-143. ISBN 9780323899567. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89956-7.00010-3>. [cit. 2024-05-13].
- [15] N. OKTAR, Faik. Editorial note on bioinert materials. Online. *Bioceramics Development and Applications*. 2021, roč. 11, č. 4. ISSN 2090-5025. Dostupné z: <https://www.hilarispublisher.com/open-access/editorial-note-on-bioinert-materials-73832.html>. [cit. 2024-05-13].
- [16] ANJANEYULU, U.; ZHANG, Vríz a REN, Pei-Gen. Bioinert Ceramics for Biomedical Applications. Online. 2019. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/338253271_Bioinert_Ceramics_for_Biomedical_Applications. [cit. 2024-05-13].
- [17] MANO, João F; SOUSA, Rui A; BOESEL, Luciano F; NEVES, Nuno M a REIS, Rui L. Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments. Online. *Composites Science and Technology*. 2004, roč. 64, č. 6, s. 789-817. ISSN 02663538. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2003.09.001>. [cit. 2024-05-13].

- [18] DAS, Debarun; ZHANG, Ziyang; WINKLER, Thomas; MOUR, Meenakshi; GÜNTER, Christina I. et al. Bioresorption and Degradation of Biomaterials. Online. *Tissue Engineering III: Cell - Surface Interactions for Tissue Culture*. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. 2011, s. 317-333. ISBN 978-3-642-28281-2. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/10_2011_119. [cit. 2024-05-13].
- [19] LI, Linhao; LIANG, Yanbing; WANG, Guohang; XU, Peng; YANG, Lingbing et al. In Vivo Disintegration and Bioresorption of a Nacre-Inspired Graphene-Silk Film Caused by the Foreign-Body Reaction. Online. *IScience*. 2020, roč. 23, č. 6. ISSN 25890042. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101155>. [cit. 2024-05-13].
- [20] PAUL, W. a SHARMA, C.P. Natural bioresorbable polymers. Online. *Degradation Rate of Bioresorbable Materials*. 2008, s. 67-94. ISBN 9781845693299. Dostupné z: <https://doi.org/10.1533/9781845695033.2.67>. [cit. 2024-05-13].
- [21] KADLEC, Adam. *Využití 3D tisku v medicíně aplikacích*. Bakalářská práce. Pardubice: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2019.
- [22] BARTOŠÍKOVÁ, Jan. *Interakce biomateriálů s imunitním systémem*. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, 2020.
- [23] KRATOCHVÍLOVÁ, Lucie. *Kostní cement na bázi fosforečnanu vápenatého modifikovaný povrchově upravenými nanodiamanty*. Diplomová práce. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta strojní, 2023.
- [24] KOVÁČ, Jan. *Povrchové úpravy biokompatibilních materiálů*. Bakalářská práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie, 2018.
- [25] PALIČ, Michal. *Vliv doby aplikace monovrstvy z vícevrstvé TiN/CrN struktury na mechanické a tribologické vlastnosti povlaku*. Bakalářská práce. Liberec: Technická univerzita v Liberci, Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, 2020.
- [26] ČEJKA, Marek. *Optimalizace tvorby tenkých vrstev kovových materiálů*. Diplomová práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav elektrotechnologie, 2014.
- [27] PUČALÍKOVÁ, Renata. *Aditivní výroba s využitím biokompatibilních polymerních materiálů*. Diplomová práce. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2020.
- [28] PERSAUD, Alicia; MAUS, Alexander; STRAIT, Lia a ZHU, Donghui. 3D Bioprinting with Live Cells. Online. *Engineered Regeneration*. 2022, roč. 3, č. 3, s. 292-309. ISSN 26661381. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2022.07.002>. [cit. 2024-05-13].
- [29] RAMESH, Srikanthan; HARRYSSON, Ola L.A.; K. RAO, Prahalada; TAMAYOL, Ali; R. CORMIER, Denis et al. Extrusion bioprinting: Recent progress, challenges, and future opportunities. Online. *Bioprinting*. 2021, roč. 21, č. 2021. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00116>. [cit. 2024-05-07].
- [30] TEJADA JACOB, Guillermo; PASSAMAI, Verónica E.; KATZ, Sergio; CASTRO, Guillermo R. a ALVAREZ, Vera. Hydrogels for extrusion-based bioprinting: General considerations. Online. *Bioprinting*. 2022, roč. 27. ISSN 24058866. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2022.e00212>. [cit. 2024-05-13].
- [31] GU, Zeming; FU, Jianzhong; LIN, Hui a HE, Yong. Development of 3D bioprinting: From printing methods to biomedical applications. Online. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020, roč. 15, č. 5, s. 529-557. ISSN 18180876. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.11.003>. [cit. 2024-05-12].
- [32] GU, Zeming; FU, Jianzhong; LIN, Hui a HE, Yong. Development of 3D bioprinting: From printing methods to biomedical applications. Online. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020, roč. 15, č. 5, s. 529-557. ISSN 18180876. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.11.003>. [cit. 2024-05-13].
- [33] VANAEI, S.; PARIZI, M.S.; VANAEI, S.; SALEMIZADEHPARIZI, F. a VANAEI, H.R. An Overview on Materials and Techniques in 3D Bioprinting Toward Biomedical Application. Online. *Engineered Regeneration*. 2021, roč. 2, s. 1-18. ISSN 26661381. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.12.001>. [cit. 2024-05-15].
- [34] SCHAPPO, Henrique; SALMORIA, Gean Vitor; MAGNAUDEIX, Amandine; DUMUR, Adeline; RENAUDIE, Emeline et al. Laser powder bed fusion of ultra-high-molecular-weight polyethylene/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. Online. *Powder Technology*. 2022, roč. 412. ISSN 00325910. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2022.117966>. [cit. 2024-05-07].

- [35] KARAKURT, İlbey a LIN, Liwei. 3D printing technologies: techniques, materials, and post-processing. Online. *Current Opinion in Chemical Engineering*. 2020, roč. 28, s. 134-143. ISSN 22113398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.coche.2020.04.001>. [cit. 2024-05-14].
- [36] SONG, Yongzhi; GHAFARI, Y.; ASEFNEJAD, A. a TOGHRAIE, D. An overview of selective laser sintering 3D printing technology for biomedical and sports device applications: Processes, materials, and applications. Online. 2024, roč. 171. ISSN 00303992. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2023.110459>. [cit. 2024-05-14].
- [37] XIE, Zelong; GAO, Ming; LOBO, Anderson O. a WEBSTER, Thomas J. 3D Bioprinting in Tissue Engineering for Medical Applications: The Classic and the Hybrid. Online. *Polymers*. 2020, roč. 12, č. 8. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym12081717>. [cit. 2024-05-14].
- [38] GU, Bon Kang; CHOI, Dong Jin; PARK, Sang Jun; KIM, Min Sup; KANG, Chang Mo et al. 3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications. Online. *Biomaterials Research*. 2016, roč. 20, č. 1. ISSN 2055-7124. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40824-016-0058-2>. [cit. 2024-05-14].
- [39] SINGH, Mahima a JONNALAGADDA, Sriramakamal. Advances in bioprinting using additive manufacturing. Online. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020, roč. 143. ISSN 0928-0987. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.powtec.2022.117966>. [cit. 2024-05-07].
- [40] TAN, K.H; CHUA, C.K; LEONG, K.F; CHEAH, C.M; CHEANG, P et al. Scaffold development using selective laser sintering of polyetheretherketone–hydroxyapatite biocomposite blends. Online. *Biomaterials*. 2003, roč. 24, č. 18, s. 3115-3123. ISSN 01429612. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00131-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00131-5). [cit. 2024-05-14].
- [41] ANTONOV, E. N.; BAGRATASHVILI, V. N.; HOWDLE, S. M.; KONOVALOV, A. N.; POPOV, V. K. et al. Fabrication of polymer scaffolds for tissue engineering using surface selective laser sintering. Online. *Laser Physics*. 2006, roč. 16, č. 5, s. 774-787. ISSN 1054-660X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1134/S1054660X06050070>. [cit. 2024-05-12].
- [42] BHATTACHARYYA, Amitava; JANARTHANAN, Gopinathan a NOH, Insup. Nano-biomaterials for designing functional bioinks towards complex tissue and organ regeneration in 3D bioprinting. Online. *Additive Manufacturing*. 2021, roč. 37. ISSN 22148604. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.addma.2020.101639>. [cit. 2024-05-07].
- [43] KERIQUEL, Virginie; OLIVEIRA, Hugo; RÉMY, Murielle; ZIANE, Sophia; DELMOND, Samantha et al. In situ printing of mesenchymal stromal cells, by laser-assisted bioprinting, for in vivo bone regeneration applications. Online. *Scientific Reports*. 2017, roč. 7, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01914-x>. [cit. 2024-05-14].
- [44] LI, Wanlu; WANG, Mian; MA, Huiling; A. CHAPA-VILLARREA, Fabiola; LOBO, Anderson Oliveira et al. Stereolithography apparatus and digital light processing-based 3D bioprinting for tissue fabrication. Online. *IScience*. 2023, roč. 26, č. 2. ISSN 2589-0042. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106039>. [cit. 2024-05-07].
- [45] WANG, Zongjie; ABDULLA, Raafa; PARKER, Benjamin; SAMANIPOUR, Roya; GHOSH, Sanjoy et al. A simple and high-resolution stereolithography-based 3D bioprinting system using visible light crosslinkable bioinks. Online. *Biofabrication*. 2015, roč. 7, č. 4. ISSN 1758-5090. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1758-5090/7/4/045009>. [cit. 2024-05-14].
- [46] VENTURA, Reiza Dolendo. An Overview of Laser-assisted Bioprinting (LAB) in Tissue Engineering Applications. Online. *Medical Lasers*. 2021, roč. 10, č. 2, s. 76-81. ISSN 2287-8300. Dostupné z: <https://doi.org/10.25289/ML.2021.10.2.76>. [cit. 2024-05-14].
- [47] LI, Jipeng; CHEN, Mingjiao; FAN, Xianqun a ZHOU, Huifang. Recent advances in bioprinting techniques: approaches, applications and future prospects. Online. *Journal of Translational Medicine*. 2016, roč. 14, č. 1. ISSN 1479-5876. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1028-0>. [cit. 2024-05-14].
- [48] DUDMAN, Joseph; FERREIRA, Ana Marina; GENTILE, Piergiorgio; WANG, Xiao a DALGARNO, Kenneth. Microvalve Bioprinting of MSC-Chondrocyte Co-Cultures. Online. *Cells*. 2021, roč. 10, č. 12. ISSN 2073-4409. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells10123329>. [cit. 2024-05-16].
- [49] HÖLZL, Katja; LIN, Shengmao; TYTGAT, Liesbeth; VAN VLIERBERGHE, Sandra; GU, Linxia et al. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting. Online. *Biofabrication*. 2016, roč. 8, č. 3. ISSN 1758-5090. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/3/032002>. [cit. 2024-04-28].
- [50] KÉROURÉDAN, Olivia; RÉMY, Murielle; OLIVEIRA, Hugo; GUILLEMOT, Fabien; DEVILLARD, Raphaël et al. Laser-Assisted Bioprinting of Cells for Tissue Engineering. Online. In: *Laser Printing of Functional Materials: 3D Microfabrication, Electronics and Biomedicine*. Wiley-VCH Verlag GmbH

- & Co., 2018, s. 349-373. ISBN 9783527805105. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9783527805105.ch15>. [cit. 2024-05-14].
- [51] GUILLOTIN, Bertrand; SOUQUET, Agnès; CATROS, Sylvain; DUOCATELLA, Martí; PIPPENGER, Benjamin et al. Laser assisted bioprinting of engineered tissue with high cell density and microscale organization. Online. *Biomaterials*. 2010, roč. 31, č. 28, s. 7250-7256. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.05.055>. [cit. 2024-05-14].
- [52] DETSCH, Rainer; BLOB, Sebastian; ZEHNDER, Tobias a R. BOCCACCINI, Aldo. Evaluation of cell inkjet printing technique for biofabrication. Online. *BioNanoMaterials*. 2016, roč. 17, č. 3-4. ISSN 2193-066X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515>. [cit. 2024-04-26].
- [53] NĚMEC, Pavel. *Tištěné tranzistory*. Bakalářská práce. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta elektrotechnická, Katedra technologií a měření, 2017.
- [54] GUDUPATI, Hemanth; DEY, Madhuri a OZBOLAT1, Ibrahim. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: Past, present and future. Online. *Biomaterials*. 2016, roč. 102, č. 1, s. 20-42. ISSN 0142-9612. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.06.012>. [cit. 2024-04-30].
- [55] HOSPODIUK, Monika; DEY, Madhuri; SOSNOSKI, Donna a OZBOLAT, Ibrahim T. The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. Online. *Biotechnology Advances*. 2017, roč. 35, č. 2, s. 217-239. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.006>. [cit. 2023-09-24].
- [56] LI, Xinda; LIU, Boxun; PEI, Ben; CHEN, Jianwei; ZHOU, Dezhi et al. Inkjet Bioprinting of Biomaterials. Online. *Inkjet Bioprinting of Biomaterials*. 2020, roč. 120, č. 19, s. 10793-10833. ISSN 0009-2665. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00008>. [cit. 2024-05-01].
- [57] WÜST, Silke; MÜLLER, Ralph a HOFMANN, Sandra. Controlled Positioning of Cells in Biomaterials—Approaches Towards 3D Tissue Printing. Online. *Journal of Functional Biomaterials*. 2011, roč. 2, č. 3, s. 119-154. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jfb2030119>. [cit. 2024-04-26].
- [58] HANZÁLEK, Karel. *Optimalizace dispenzoru bioinkoustu pro 3D biotisk na plošné substrát*. Diplomová práce. Kladno: České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínské techniky, 2021.
- [59] DOBEŠ, Daibor. *Tištěné elektrochemické senzory*. Diplomová práce. Praha: České vysoké učení technické v Praze, Fakulta elektrotechnická, 2021.
- [60] ZHOU, Dezhi; CHEN, Jianwei; LIU, Boxun; ZHANG, Xinzhi; LI, Xinda et al. Bioinks for jet-based bioprinting. Online. *Bioprinting*. 2019, roč. 16, č. 1, s. 511-536. ISSN 24058866. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2019.e00060>. [cit. 2024-05-01].
- [61] WU, Catherine A.; ZHU, Yuanjia a WOO, Y. Joseph. Advances in 3D Bioprinting: Techniques, Applications, and Future Directions for Cardiac Tissue Engineering. Online. *Bioengineering*. 2023, roč. 10, č. 7. ISSN 2306-5354. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/bioengineering10070842>. [cit. 2024-05-11].
- [62] TURKSEN, Kursad. *Bioprinting in Regenerative Medicine - Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*. Online. Švýcarsko: Springer Cham, 2015. ISBN 978-3-319-21385-9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-21386-6>. [cit. 2024-04-28].
- [63] LAVICKÝ, Josef. *Biomateriály pro 3D tisk kmenových buněk*. Bakalářská práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, 2017.
- [64] SPUSTOVÁ, Karolína. *Utváření tkáňových struktur 3D tisku kmenových buněk*. Diplomová práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, 2018.
- [65] GOPINATHAN, Janarthanan a NOH, Insup. Recent trends in bioinks for 3D printing. Online. *Biomaterials Research*. 2018, roč. 22, č. 1. ISSN 2055-7124. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0122-1>. [cit. 2024-05-08].
- [66] YU, Yin; MONCAL, Kazim K.; LI, Jianqiang; PENG, Weijie; RIVERO, Iris et al. Three-dimensional bioprinting using self-assembling scalable scaffold-free “tissue strands” as a new bioink. Online. *Scientific Reports*. 2016, roč. 6, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/srep28714>. [cit. 2024-05-14].
- [67] OLIVOVÁ, Barbora. *Vytváření modelu tkáně plíc pomocí 3D tisku kmenových buněk*. Diplomová práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2022.
- [68] PREBEG, Teodora; PERIĆ KAČAREVIĆ, Željka a MATIJAŠIĆ, Gordana. Hybrid hydrogels for bioink development and potential use in dental tissue engineering. Online. *International Journal of*

- Dental Biomaterials Research*. 2023, roč. 1, s. 22-29. ISSN 29551897. Dostupné z: <https://doi.org/10.56939/DBR23122p>. [cit. 2024-05-08].
- [69] KOVÁŘOVÁ, Lenka. *Vývoj materiálu na bázi hydrogelů kyseliny hyalurové pro regeneraci myokardu*. Dizertační práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie, 2020.
- [70] JIRKOVEC, Radek. *Využití buněčného tisku k přípravě biologického kompozitního materiálu*. Diplomová práce. Liberec: Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, 2016.
- [71] CHEN, X. B.; ANVARI-YAZDI, A. Fazel; DUAN, X.; ZIMMERLING, A.; GHARRAEI, R. et al. Biomaterials / bioinks and extrusion bioprinting. Online. *Bioactive Materials*. 2023, roč. 28, č. 19, s. 511-536. ISSN 2452-199X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.06.006>. [cit. 2024-05-01].
- [72] HACIOGLU, Askican; YILMAZER, Hakan a USTUNDAG, Cem Bulent. 3D Printing for Tissue Engineering Applications. Online. *Journal of Polytechnic*. ISSN 1302-0900. Dostupné z: <https://doi.org/10.2339/politeknik.389596>. [cit. 2024-05-14].
- [73] VOJTĚCHOVÁ, Tereza. *Optimalizace přípravy jaterních sféroidů*. Diplomová práce. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biochemických věd, 2022.
- [74] HUANG, Chao-Ting; KUMAR SHRESTHA, Lok; ARIGA, Katsuhiko a HSU, Shan-hui. A graphene-polyurethane composite hydrogel as a potential bioink for 3D bioprinting and differentiation of neural stem cells. Online. *Journal of Materials Chemistry B*. 2017, roč. 5, č. 44, s. 8854-8864. ISSN 2050-750X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C7TB01594A>. [cit. 2024-05-08].
- [75] GDOR, Efrat; SHEMESH, Shay; MAGDASSI, Shlomo a MANDLER, Daniel. ŠPATNÝ: Multienzyme Inkjet Printed 2D Arrays. Online. 2015, roč. 7, č. 32, s. 17985-17992. ISSN 1944-8244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsami.5b04726>. [cit. 2024-05-08].
- [76] *Lifeink® 260 Collagen Bioink, Acidic pH*. Online. CELLINK, A bico company. 2024. Dostupné z: <https://www.cellink.com/product/lifeink-260-collagen-bioink-acidic-ph>. [cit. 2024-04-23].
- [77] *PhotoAlginate®-INK*. Online. CELLINK, A bico company. 2024. Dostupné z: <https://www.cellink.com/product/photoalginate-ink/>. [cit. 2024-04-23].
- [78] *CELLINK BONE*. Online. CELLINK, A bico company. 2024. Dostupné z: <https://www.cellink.com/product/cellink-bone/>. [cit. 2024-04-23].
- [79] *CELLINK FIBRIN*. Online. CELLINK, A bico company. 2024. Dostupné z: <https://www.cellink.com/product/cellink-fibrin/>. [cit. 2024-04-29].
- [80] *GelXA SKIN*. Online. CELLINK, A bico company. 2024. Dostupné z: <https://www.cellink.com/product/gelxa-skin/>. [cit. 2024-04-29].
- [81] MANITA, Paula Gabriela; GARCIA-ORUE, Itxaso; SANTOS-VIZCAINO, Edorta; HERNANDEZ, Rosa Maria a IGARTUA, Manoli. 3D Bioprinting of Functional Skin Substitutes: From Current Achievements to Future Goals. Online. *Pharmaceuticals*. 2021, roč. 14, č. 4. ISSN 1424-8247. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ph14040362>. [cit. 2024-05-15].
- [82] MARQUES, C. F.; DIOGO, G. S.; PINA, S.; OLIVEIRA, J. M.; SILVA, T. H. et al. Collagen-based bioinks for hard tissue engineering applications: a comprehensive review. Online. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2019, roč. 30, č. 3, s. 20-42. ISSN 0957-4530. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6234-x>. [cit. 2024-04-27].
- [83] JOVIC, Thomas H.; KUNGWENGWE, Garikai; MILLS, Adam C. a WHITAKER, Iain S. Plant-Derived Biomaterials: A Review of 3D Bioprinting and Biomedical Applications. Online. *Frontiers in Mechanical Engineering*. 2019, roč. 5. ISSN 2297-3079. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmech.2019.00019>. [cit. 2024-05-08].
- [84] CUI, Xiaofeng; GAO, Guifang; YONEZAWA, Tomo a DAI, Guohao. Human Cartilage Tissue Fabrication Using Three-dimensional Inkjet Printing Technology. Online. *Journal of Visualized Experiments*. 2014, č. 88. ISSN 1940-087X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3791/51294>. [cit. 2024-04-26].
- [85] SPUSTOVÁ, Karolina. *Utváření mikrotkání pomocí 3D tisku kmenových buněk*. Bakalářská práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, 2016.
- [86] LIPOVÝ, Břetislav; RAŠKA, Filip; MAGER, Radimír; SUCHÁNEK, Ivan; KNOZ, Martin et al. Použití dermální náhrady Matriderm® v rekonstrukci hlubokého kožního defektu způsobeného chemickým traumatem u kojence. Online. *Laboratorní a klinické aspekty regenerativní medicíny*. 2022, roč. 21, č. 6, s. 422-425. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/ped/2020/06/08.pdf>. [cit. 2024-04-27].

- [87] SUN, Weizhen; ZHANG, Yi; GREGORY, David A.; JIMENEZ-FRANCO, Ana; TOMEH, Mhd Anas et al. Patterning the neuronal cells via inkjet printing of self-assembled peptides on silk scaffolds. Online. *Progress in Natural Science: Materials International*. 2020, roč. 30, č. 5, s. 686-696. ISSN 10020071. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2020.09.007>. [cit. 2024-04-27].
- [88] PARODI, Ilaria; DI LISA, Donatella; PASTORINO, Laura; SCAGLIONE, Silvia a FATO, Marco Massimo. 3D Bioprinting as a Powerful Technique for Recreating the Tumor Microenvironment. Online. *Gels*. 2023, roč. 9, č. 6. ISSN 2310-2861. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/gels9060482>. [cit. 2024-05-14].
- [89] MOHAN, Tamilselvan a KLEINSCHEK, Karin Stana. *Functional Biomaterial, Design and Development for Biotechnology, Pharmacology, and Biomedicine*. 1&2. Německo: WILEY-VCH GmbH, 2023. ISBN 978-3-527-82764-0.
- [90] SAUNDERS, Rachel Elizabeth a DERBY, Brian. Inkjet printing biomaterials for tissue engineering: bioprinting. Online. *International Materials Reviews*. 2014, roč. 59, č. 8, s. 430-448. ISSN 0950-6608. Dostupné z: <https://doi.org/10.1179/1743280414Y.0000000040>. [cit. 2024-05-07].
- [91] BOEHM, Ryan D.; MILLER, Philip R.; DANIELS, Justin; STAFSLIEN, Shane a NARAYAN, Roger J. Inkjet printing for pharmaceutical applications. Online. *Materials Today*. 2014, roč. 17, č. 5, s. 247-252. ISSN 13697021. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.04.027>. [cit. 2024-04-26].
- [92] BEDNÁŘ, Petr. *Vývoj impedančního point-of-care biosenzoru pro detekci lidského sérového albuminu*. Diplomová práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav biochemie, 2016.
- [93] HODINA, David. *Nositelné biosenzory*. Bakalářská práce. Pardubice: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2022.
- [94] YANG, Guang-Zhong. *Implantable Sensors and Systems, From Theory to Practice*. Londýn: Springer, 2018. ISBN 978-3-319-69748-2.
- [95] KERESTEŠ, Ondřej. *Biosenzory pro testování inhibitorů cholinesteras*. Diplomová práce. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy, 2020.
- [96] MIŠO, Milan. *Význam biosenzorů a biomarkerů pro posuzování kontaminace životního prostředí*. Bakalářská práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí, 2012.
- [97] HASALA, Robert. *Enzymové senzory s teplotní regulací*. Bakalářská práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav biochemie, 2010.
- [98] ČADKOVÁ, Michaela. *Imunosenzory a jejich kombinace s magnetickými částicemi*. Bakalářská práce. Pardubice: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2009.
- [99] KANG, Tae-Hyung; LEE, Seung-Woo; HWANG, Kywook; SHIM, Wonbo; LEE, Ki-Young et al. All-Inkjet-Printed Flexible Nanobio-Devices with Efficient Electrochemical Coupling Using Amphiphilic Biomaterials. Online. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2020, roč. 12, č. 21, s. 24231-24241. ISSN 1944-8244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsami.0c02596>. [cit. 2024-05-05].
- [100] GDOR, Efrat; SHEMESH, Shay; MAGDASSI, Shlomo a MANDLER, Daniel. Multienzyme Inkjet Printed 2D Arrays. Online. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2015, roč. 7, s. 17985 - 17992. ISSN 1944-8244. Dostupné z: issue 32, <https://doi.org/10.1021/acsami.5b04726>. [cit. 2024-05-05].
- [101] MANI, Naresh Kumar; PRABHU, Anusha a KUMAR, Annamalai Senthil. Recent Updates on Inkjet-Printed Sensors. Online. *Bioelectrochemical Interface Engineering*. 2019, s. 371–384. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119611103.ch19>. [cit. 2024-05-05].
- [102] MOGHADAM, Ehsan Y. *Microfluidic point-of-care diagnostic devices for global health: Microfluidic devices integrated by biosensors and smartphone to load blood, urine or saliva samples for the detection of pancreatic cancer patients at Point-Of-Care (Samandari et al., 2018)*. Online. In: Univerzité Concordia University. 2020. Dostupné z: <https://www.concordia.ca/cunews/offices/vprgs/sgs/public-scholars-20/2020/09/29/microfluidic-point-of-care-diagnostic-devices-for-global-health.html>. [cit. 2024-05-15].
- [103] KIM, Jayoung; CAMPBELL, Alan S.; DE ÁVILA, Berta Esteban-Fernández a WANG, Joseph. Wearable biosensors for healthcare monitoring. Online. *Nature Biotechnology*. 2019, roč. 37, č. 4, s. 389-406. ISSN 1087-0156. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0045-y>. [cit. 2024-05-15].

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK*Abecedně seřazený seznam použitých zkratek*

AFA-LIFT	modifikovaný laserem indukovaný dopředný přenos
BioLP	biologické laserové zpracování
CIJ	kontinuální inkjetový tisk
DBB	biotisk na bázi kapiček
dECM	decelularizovaná tkáň extracelulární matrix
DOD	kapička na vyžádání
EBB	biotisk na bázi vytlačování
EHD	elektro-hydrodynamický tryskový biotisk
GelMA	želatina-metakrylát
HA	hydroxyapatit
IJP	inkoustový tisk
LAB	laserově asistovaný biotisk
LG DW	přímé navádění laserem
LIFT	laserem indukovaný dopředný přenos
MAPLE DW	matricové pulzní laserové odpařování
NFC	blízkopolní komunikace
PAA	kyselina polyakrylátová
PBF	metoda práškové lože
PCL	polykaprolakton
PE	polyethylen
PEG	polyethylenglykol
PEGDA	polyethylen-glykol-diakrylát
PET	polyetylentereftalát
pHEMA	polyhydroxyethylmethakrylat
POM	polyoxymethylen
PTFE	polytetrafluoretylen
PU	polyuretan
PVA	polyvinylalkohol
SLA	stereolitografie
SLS	selektivní laserové slinování
UHMPWE	ultravysokomolekulární polyethylen

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1 – Jednotlivé fáze průběhu tisku na bázi extruze (převzato a upraveno z [29])</i> ..	15
<i>Obrázek 2 – Princip EBB tisku (převzato a upraveno z [31])</i>	16
<i>Obrázek 3 – Princip metody SLS a SLA (převzato a upraveno z [33])</i>	17
<i>Obrázek 4 – Princip technologie LAB (převzato a upraveno z [43])</i>	20
<i>Obrázek 5 – Schéma rozdělení biotisku na bázi kapiček (vlastní zpracování)</i>	21
<i>Obrázek 6 – Princip kontinuálního, drop-on-demand a elektro-hydrodynamického typu inkoustového tisku (převzato a upraveno z [54])</i>	23
<i>Obrázek 7 – Princip akustického biotisku (převzato a upraveno z [54])</i>	25
<i>Obrázek 8 – Schéma mikro-ventilového tisku (převzato a upraveno z [54])</i>	26
<i>Obrázek 9 – Dělení bioinkoustů na základě využití scaffoldů při tisku [55; 82]</i>	30
<i>Obrázek 10 – Vlastnosti „ideálního“ bioinkoustu [81]</i>	39
<i>Obrázek 11 – Schematické zobrazení jednotlivých částí biosenzoru (vlastní zpracování)</i> ..	45
<i>Obrázek 12 – Princip point-of-care biosenzoru (převzato a upraveno z [102])</i>	50
<i>Obrázek 13 – Příklady nositelných biosenzorů, včetně zkoumaného analytu (převzato a upraveno z [103])</i>	51

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1 – Porovnání základních vlastností biotisku na bázi kapiček (převzato z [48; 60])</i>	26
<i>Tabulka 2 – Porovnání výhod a nevýhod jednotlivých metod biotisku na bázi kapiček (převzato z [54])</i>	27
<i>Tabulka 3 – Srovnání metod materiálové tisku [49; 61; 62]</i>	28
<i>Tabulka 4 – Základní parametry nejpoužívanějších metod bitoisku (převzato z [49])</i>	28
<i>Tabulka 5 – Výhody a nevýhody vybraných hydrogelů [54; 55; 60; 71]</i>	33
<i>Tabulka 6 – Přehled základních požadavků na bioinkousty a doporučené vlastnosti materiálů [49; 55; 62; 83]</i>	40
<i>Tabulka 7 – Příklady využití materiálové tisku při přípravě buněčných struktur [57; 60]</i>	41
<i>Tabulka 8 – Příklady aplikací inkoustového tisku (převzato z [54])</i>	52
<i>Tabulka 9 – Využití vybraných biomateriálů (převzato z [60], doplněno z [54])</i>	53