

# **Grafeenipohjaiset hydrogeelit biologisissa sovelluksissa**

Kandidaatintutkielma

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

7.4.2019

Jenni Niemi



## Tiivistelmä

Tämä kandidaatintutkielma käsittelee grafeenipohjaisten hydrogeelejä ja niiden biologisia sovelluksia. Grafeenipohjaiset hydrogeelit on tutkielmassa eritelty grafeenioksidipohjaisiin, pelkistettyä grafeenioksidia sisältäviin ja grafeeniperoksidipohjaisiin hydrogeeleihin. Näitä on hyödynnetty muun muassa luukudosteknologiassa, sydänekudosteknologiassa, hermokudosteknologiassa, lihaskudosteknologiassa, haavasidoksissa sekä lääkkeiden kuljetuksessa.

Tutkimusprojektissa perehdyttiin alhaisen molekyylipainon gelaattorien valmistukseen ja niiden geelinmuodostusominaisuuksien alustavaan tutkimukseen. Projektin aikana syntetisoitiin ja karakterisoitiin fenyylialaniinipohjaisia potentiaalisia gelaattoreita ja valmistettiin hydrogeelejä Fmoc-fenyylialaniinia käyttäen joko ilman grafeenioksidia tai grafeenioksidin kanssa. Valmistettuja geelejä kuvattiin optisella mikroskoopilla. Kuivattuja kserogeelejä kuvattiin AFM-mikroskoopilla ja niistä mitattiin IR-spektrit.

## **Esipuhe**

Kandidaatintutkielman kirjallinen osa aloitettiin tammikuussa 2019 ja se saatiin valmiiksi huhtikuussa 2019. Tutkielman kirjallisuuslähteiden etsinnässä käytettiin pääasiassa SciFinder- ja Web of Science-tietokantoja. Tutkimusprojekti tehtiin maaliskuussa 2019 Jyväskylän yliopiston Nanotiedekeskuksessa.

Tutkielman ohjaajana toimi professori Maija Nissinen ja tutkimusprojektin ohjaajana tohtoritutkija Efstratios Sitsanidis. Haluankin kiittää ohjaajiani Maija Nissistä ja Efstratios Sitsanidista hyvästä ohjauksesta ja mielenkiintoisesta aiheesta.

# SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ	i
ESIPUHE	ii
SISÄLLYSLUETTELO	iii
KÄYTETYT LYHENTEET	iv
1 JOHDANTO	1
2 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT JA NIIDEN OMINAISUUDET	2
2.1 GRAFEENIOKSIDIPOHJAISET HYDROGEELIT	2
2.2 PELKISTETTYÄ GRAFEENIOKSIDIA SISÄLTÄVÄT HYDROGEELIT	4
2.3 GRAFEENIPEROKSIDIPOHJAISET HYDROGEELIT	6
3 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT BIOMATERIAALISOVELLUKSISSA	8
3.1 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT LUUKUDOSTEKNOLOGIASSA	8
3.2 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT SYDÄNKUDOSTEKNOLOGIASSA	9
3.3 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT HERMOKUDOSTEKNOLOGIASSA	12
3.4 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT LIHASKUDOSTEKNOLOGIASSA	13
3.5 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT HAAVASIDOKSISSA	14
3.6 GRAFEENIPOHJAISET HYDROGEELIT LÄÄKKEIDEN KULJETUKSESSA	16
4 YHTEENVETO	16
5 KIRJALLISUUSLUETTELO	18

**Käytetyt lyhenteet**

<b>CSD</b>	kitosaanijohdannaiset
<b>fGO</b>	funktionalisoitu grafeenioksidi
<b>fGO<sub>VEGF</sub></b>	DNA:ta koodaava verisuonen endoteelin kasvutekijä sidottuna funktionalisoituun grafeenioksidiin
<b>GeIMA</b>	kollageenin denaturoitu muoto, kemiallisesti muokattua gelatiinia
<b>GO</b>	grafeenioksidi
<b>GOP</b>	grafeenioksidiperoksidi
<b>GPO</b>	grafeeniperoksidi
<i>in vivo</i>	elävässä organismissa tehty tutkimus
<b>MSC</b>	mesenkymaalinen kantasolu
<b>PAM</b>	polyakryyliamidi
<b>PNIPAAm</b>	poly(N-isopropyyliakryyliamidi)
<b>QCMC</b>	kvaternoitu karboksimeetyli-kitosaani
<b>rBMSC</b>	rotan luuytimen mesenkymaaliset kantasolut
<b>rGO</b>	pelkistetty grafeenioksidi

## 1 Johdanto

Grafeeni on yksi hiilen kidemuodoista. Se koostuu  $sp^2$ -hybridisoituneista hiiliatomeista, jotka ovat pakkautuneet tiiviisti kaksiulotteiseen (2D) hunajakennohilaan. Jokaisella grafeenin hiiliatomilla on kolme  $\sigma$ -sidosta ja yksi tasosta ulkoneva  $\pi$ -sidos. Tasosta ulkoneva  $\pi$ -sidos voi sitoutua naapuriatomien kanssa.<sup>1</sup>

Grafeenin ominaisuudet, kuten korkea lämmön- ja sähkönjohtokyky, äärimmäinen kemiallinen stabiilisuus sekä suuri pinta-ala johtuvat sen atomirakenteesta ja elektronien jakautumisesta. Ominaisuuksiensa ansiosta grafeeni onkin yksi monipuolisimmista nanomateriaaleista.<sup>2</sup> Viime aikoina grafeenipohjaisia nanomateriaaleja on käytetty laajalti erilaisissa biolääketieteellisissä sovelluksissa ja tutkimukset ovat osoittaneet niiden tukevan esimerkiksi solujen lisääntymistä, adheesiota ja erilaistumista ilman sytotoksisia vaikutuksia tai pienin sytotoksisin vaikutuksin.<sup>3,4</sup>

Hydrogeelit ovat tulleet yhä tärkeämmiksi kudosteknologiassa pääosin niiden ainutlaatuisen ominaisuuksien vuoksi. Hydrogeelit ovat hyvin läpäiseviä ja niiden fysikaalisia ominaisuuksia voidaan muokata. Hydrogeelejä on hyödynnetty muun muassa alustana nanopartikkelipohjaisten geeninsiirtojärjestelmien tukemiseksi.<sup>5</sup>

Hydrogeelit koostuvat tavallisesti luonnossa esiintyvistä tai synteettisistä polymeereistä. Niiden mekaaniset ominaisuudet ovat tavallisesti suhteellisen heikkoja ja niiden pieni tasapaino-  
turvotussuhde rajoittaa niiden käyttöä. Tutkijat ovatkin kiinnittäneet huomionsa erityisesti grafeeniin ratkaistakseen nämä ongelmat. Tämä johtuu siitä, että grafeenia voidaan valmistaa edullisesti ja suuria määriä grafeenioksidista (graphene oxide, GO), mikä helpottaa myös grafeenihydrogeelien valmistusta kustannustehokkaasti.<sup>6</sup>

Grafeenia voidaan käyttää myös tehokkaana täytteenä hydrogeelien mekaanisten ominaisuuksien parantamiseksi. Grafeenihydrogeelit ovat rakenteeltaan huokoisia ja niillä on suuri vedenimemiskyky sekä erinomainen bioyhteensopivuus.<sup>6</sup> Grafeenipohjaisia hydrogeelejä käytetäänkin ominaisuuksiensa ansiosta biologisissa sovelluksissa, kuten tukirunkoina kudosteknologiassa<sup>7</sup>, apuna geeninsiirtojärjestelmissä<sup>5</sup> sekä haavasidoksissa<sup>6</sup>.

## 2 Grafeenipohjaiset hydrogeelit ja niiden ominaisuudet

Viime vuosikymmenien aikana hydrogeelien suunnittelussa, syntetisoinnissa ja käytössä, esimerkiksi kudosteknologian ja bionanoteknologian sovelluksissa ja lääkeaineiden kuljetuksessa, on edistytty huomattavasti. Hydrogeelien soveltuvuus biolääketieteelliseksi materiaaliksi ja niiden suorituskyky sovelluksissa riippuu suurimmaksi osaksi niiden rakenteesta. Tärkeimmät parametrit hydrogeelien verkkorakenteen karakterisoinnissa ovat polymeerin tilavuusfraktio turvonneessa tilassa, polymeeriketjun molekyylipaino kahden vierekkäisen yhdistymispisteen välillä sekä vastaava verkon silmäkoko.<sup>8</sup>

Hydrogeelit kykenevät jäljittelemään pehmytkudoksien rakennetta, joten niitä on käytetty kudorakenteita jäljittelevien materiaalien valmistamiseen. Ne ovat kolmiulotteisia polymeeriverkkoja, joilla on korkea vesipitoisuus ja huokoinen rakenne. Hydrogeelejä voidaan valmistaa useista eri materiaaleista. Yksi suurimmista hydrogeelien heikkouksista on niiden heikko mekaaninen lujuus. Viime vuosina hydrogeelejä onkin vahvistettu nanokokoisten materiaalien avulla. Polymeeriverkkoon upotetut nanomateriaalit eivät ainoastaan jäykistä ja koveta rakennetta, vaan voivat myös tarjota uusia hyödyllisiä ominaisuuksia. Hydrogeelien ominaisuuksien parantamiseksi on valmistettu grafeenipohjaisia hydrogeelejä. Useimmat grafeenipohjaiset hydrogeelit valmistetaan käyttämällä grafeenioksidia (GO), grafeenioksidiperoksidia (graphene oxide peroxide, GOP) tai pelkistettyä grafeenioksidia (reduced graphene oxide, rGO).<sup>9</sup>

### 2.1 Grafeenioksidipohjaiset hydrogeelit

Grafeenioksidi (GO) on tärkeä grafeenin johdannainen. Sen pinta sisältää runsaasti happea sisältäviä ryhmiä, kuten karbonyyli- ja hydroksyyli-ryhmiä, jotka parantavat suuresti sen pinnan kykyä sitoutua muihin materiaaleihin. Lisäksi grafeenioksidilla on hyvä biologinen yhteensopivuus, joten sillä on monia mahdollisia käyttötarkoituksia biomateriaalisovelluksissa. Grafeenioksidin on myös havaittu parantavan hydrogeelin mekaanisia ominaisuuksia.<sup>10</sup>

Li *et al.*<sup>10</sup> ovat valmistaneet grafeenioksidi/polyakryyliamidi-hydrogeelin (graphene oxide/polyacrylamide hydrogel, GO/PAM hydrogel) ja tutkineet sen ominaisuuksia. GO/PAM-hydrogeelin ominaisuuksia verrattiin puhtaan polyakryyliamidi-hydrogeelin (polyacrylamide hydrogel, PAM hydrogel) ominaisuuksiin. Osoittautui, että grafeenioksidin konsentraation kasvaessa



GO/PAM-hydrogeelin väri muistutti enemmän puhtaan grafeenioksidiliuoksen väriä. Lisäksi huomattiin, että GO/PAM-hydrogeelin pinnan huokosrakenne muuttui huomattavasti grafeenioksidin konsentraation vaihdellessa. Aluksi grafeenioksidin konsentraatiota lisättäessä geelin pinnan huokosrakenteesta tuli selvempi, mutta konsentraation edelleen kasvaessa huokosrakenteesta tuli vaikeammin havaittava.<sup>10</sup>

Hydrogeelin pinnan huokoskoko puolestaan ei riippunut suoraan grafeenioksidin konsentraatiosta. Hydrogeelin pinnan huokokset olivat suurimmillaan geelin grafeenioksidipitoisuuden ollessa 0,4 mg/ml. GO/PAM-hydrogeelin pinnan huokoisuus kuitenkin pieneni, kun grafeenioksidikonsentraatio nostettiin 0,8 – 1,2 mg/ml:aan.<sup>10</sup>

GO/PAM-hydrogeelin turvotussuhdetta verrattiin puhtaan PAM-hydrogeelin turvotussuhteeseen. GO/PAM-hydrogeelin turvotussuhde muistutti puhtaan PAM-hydrogeelin turvotussuhdetta grafeenioksidin konsentraation ollessa alhainen, mutta suuremmilla grafeenioksidikonsentraatioilla hydrogeelit pystyivät turpoamaan eniten. Tämä selittyy grafeenioksidin sisältämien hydrofiilisten ryhmien kyvystä sitoutua vesimolekyyleihin. Turpoamismaksimin saavuttamiseen kuluneessa ajassa ei kuitenkaan ollut eroa puhtaan PAM-hydrogeelin ja GO/PAM-hydrogeelien välillä.<sup>10</sup>

Vetolujuuskokeiden perusteella havaittiin, että grafeenioksidikonsentraation kasvaessa hydrogeelin vetolujuusominaisuudet kasvoivat merkittävästi. Tulosten perusteella voitiin päätellä, että grafeenioksidin lisääminen paransi puhtaan PAM-hydrogeelin mekaanisia ominaisuuksia.<sup>10</sup>

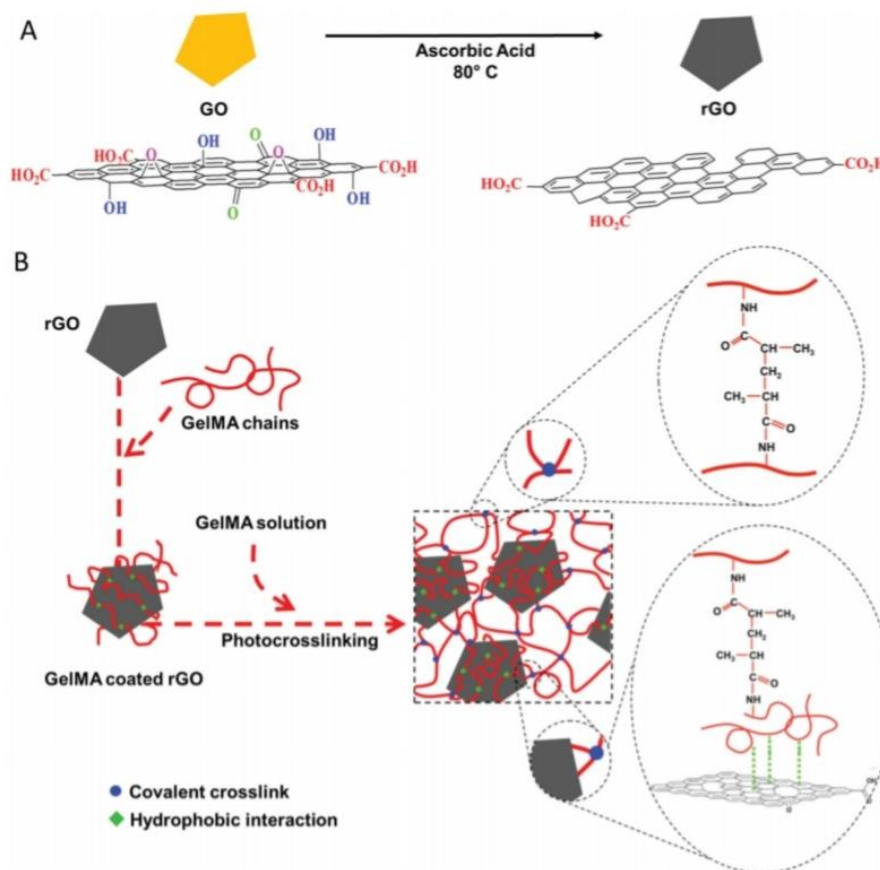
Hydrogeelin hajoamissuhdemäärittämisissä huomattiin, että puhtaan PAM-hydrogeelin hajoamissuhde oli ensimmäisen päivän jälkeen noin 30 %, kun taas GO/PAM-hydrogeelin hajoamissuhde oli vain noin 17 %. Kummassakaan hydrogeelissä hajoamisessa ei havaittu ilmeistä muutosta päivien 1 ja 26 välillä.<sup>10</sup>

Grafeenipohjaisilla hydrogeeleillä on havaittu myös muita ominaisuuksia edellä mainittujen lisäksi. Esimerkiksi Hou *et al.*<sup>11</sup> havaitsivat valmistamallaan grafeeni-polymerihydrogeelillä hyvän sähkönjohtokyvyn, suuren mekaanisen lujuuden sekä palautuvat ärsykeherkät tilavuudenmuutokset. Hydrogeeleissä käytetty polymeeri oli poly(*N*-isopropyyliakryyliamidi) (poly(*N*-isopropylacrylamide), PNIPAAm). Palautuvia ärsykeherkkiä tilavuudenmuutoksia ei oltu aiemmin havaittu millään muulla grafeenipohjaisella materiaalilla.<sup>11</sup>

## 2.2 Pelkistettyä grafeenioksidia sisältävät hydrogeelit

Pelkistetty grafeenioksidi on noussut uudeksi nanomateriaalityypiksi useille biolääketieteellisille sovelluksille. Osittain pelkistetyllä grafeenioksidilla voidaan esimerkiksi parantaa solujen adheesiota ja nopeaa leviämistä. Pelkistettyä grafeenioksidia sisältävien hydrogeelien hyödyntämisessä huolenaiheena on kuitenkin niiden solumyrkyllisyys hydrogeelimatriisin hajoamisen jälkeen.<sup>7</sup>

Shin *et al.*<sup>7</sup> ovat tutkimuksessaan valmistaneet pelkistettyä grafeenioksidia sisältävän GelMA-hydrogeelin (CNT-gelatin methacryolyl, GelMA), jossa pelkistetyllä grafeenioksidilla pyrittiin parantamaan hydrogeelin mekaanisia ja sähköisiä ominaisuuksia. GelMA on kemiallisesti muokattua gelatiinia, joka on kollageenin denaturoitu muoto. GelMA:lla on erinomainen biologinen yhteensopivuus ja siinä on soluja sitovia osia. Grafeenioksidin sähköisten ominaisuuksien parantamiseksi grafeenioksidiarkkeja pelkistettiin askorbiinihapon avulla (Kuva 1).<sup>7</sup>



**Kuva 1.** rGO-GelMA synteessin menetelmä. A) Pelkistetyn grafeenioksidin valmistaminen grafeenioksidista askorbiinihappoa käyttäen. B) rGO-GelMA-hydrogeelien valmistusmenetelmä.<sup>7</sup> [Small, 2016, 12, 3677-3689] – © WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

GelMA-hydrogeelin läpäisyelektronimikroskooppikuvista huomattiin, että pelkistetyt grafeenioksidiarkit olivat kooltaan huomattavasti pienempiä kuin grafeenioksidiarkit. Atomivoimamikroskooppikuvien avulla nähtiin, että yksittäiset levyt eivät kuitenkaan olleet kaikki samankokoisia ja samalla pystyttiin määrittämään myös arkkien paksuus. Grafeenioksidiarkkien paksuus oli 1 nm, kun taas GelMA-päällysteisten rGO-arkkien paksuus oli 7 nm. Tästä voitiin päätellä, että pelkistettyjä grafeenioksidiarkkeja oli monta päällekkäin. Tämä johtui todennäköisesti hydrofobisten vuorovaikutusten lisääntymisestä pelkistysvaiheessa arkkien välillä.<sup>7</sup>

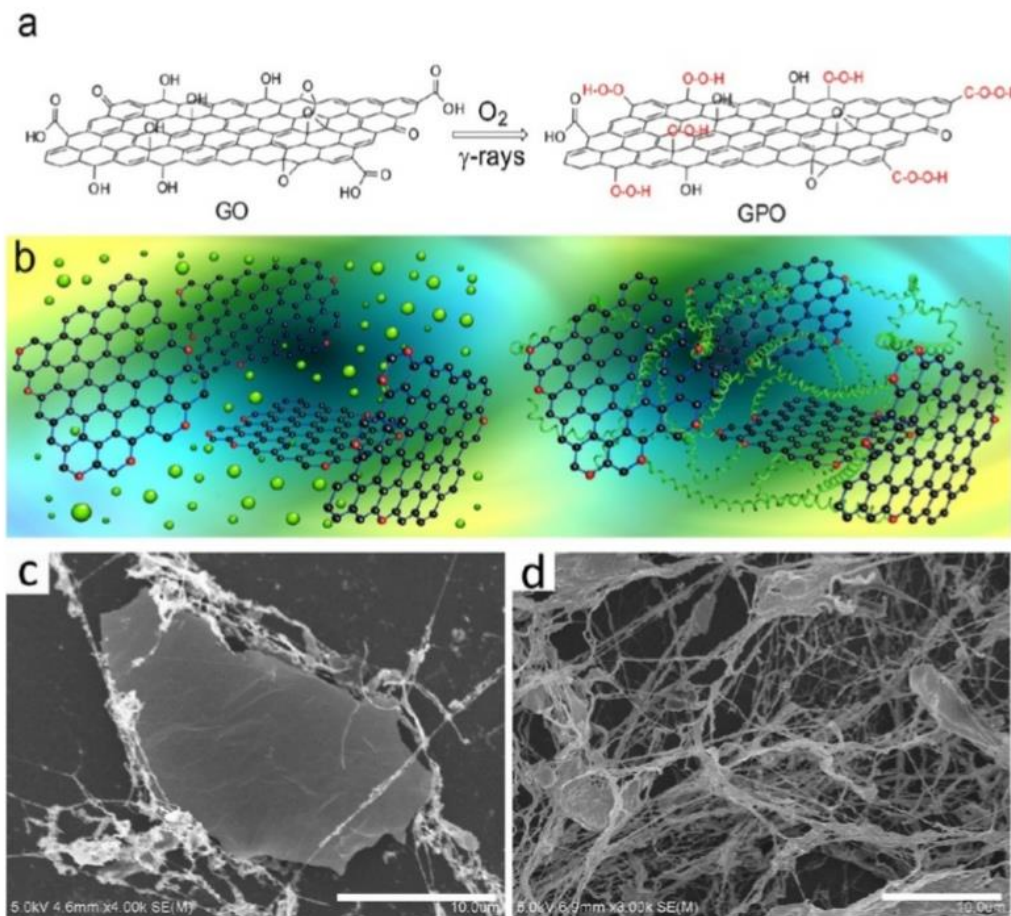
rGO-GelMA-hydrogeelien värin huomattiin tummenevan pelkistetyn grafeenioksidikonsentraation kasvaessa. Pyyhkäisyelektronimikroskooppikuvien avulla havaittiin, että rGO-GelMA-hydrogeeleillä oli huomattavasti huokoisempi rakenne kuin puhtaalla GelMA-geelillä. rGO-GelMA-hydrogeelien huokoisuus kuitenkin pieneni rGO-konsentraation kasvaessa 0 mg/ml:sta 3 mg/ml:aan ja rGO-konsentraation ollessa 5 mg/ml, rGO-GelMA-hydrogeelin huokoisuus oli lähellä puhtaan GelMA-geelin huokoisuutta. Tämän lisäksi rGO-GelMA-hydrogeelien huokosten seinämät olivat sileitä, mikä osoitti GelMA-päällysteisten rGO-partikkeleiden hyvän leviämisen geeliin.<sup>7</sup>

rGO-GelMA-hydrogeeleille määritettiin myös Youngin moduuli ja sähkönjohtavuus. Kokeet osoittivat, että rGO-GelMA-hydrogeelin Youngin moduuli oli huomattavasti korkeampi (22,6 kPa) kuin puhtaan GelMA-hydrogeelin (2 kPa). Tämän perusteella voidaan sanoa, että rGO-nanopartikkelit paransivat hydrogeelin mekaanisia ominaisuuksia. rGO-partikkelien lisääminen edelleen ei kuitenkaan parantanut mekaanisia ominaisuuksia, vaan pikemminkin heikensi niitä (12,6 kPa konsentraation ollessa 5 mg/ml). Verrattuna GO-GelMA-hydrogeeleihin, rGO-GelMA-hydrogeelien impedanssin arvot olivat paljon matalampia, kun mittaukset suoritettiin samoilla massakonsentraatioilla ja samalla taajuudella. rGO-GelMA-hydrogeelin impedanssi oli noin 4 k $\Omega$  ja GO-GelMA-hydrogeelin impedanssi noin 120 k $\Omega$ .<sup>7</sup>

Pelkistettyä grafeenioksidia sisältävillä hydrogeeleillä on havaittu edellä mainittujen ominaisuuksien lisäksi myös muita ominaisuuksia. Esimerkiksi Xu *et al.*<sup>12</sup> havaitsivat valmistamiensa grafeenioksidipohjaisten hydrogeelien muuttuvan tiiviimmäksi pelkistetyn grafeenioksidin konsentraation kasvaessa. Tämän seurauksena hydrogeelien vesipitoisuus heikkeni myös pelkistetyn grafeenioksidin määrän kasvaessa. Kyseiset hydrogeelit valmistettiin lämmittämällä valmistettua grafeenioksidin vesidisversiota autoklaavilla 180 °C:ssa 1 – 12 tunnin ajan.<sup>12</sup>

### 2.3 Grafeeniperoksidipohjaiset hydrogeelit

Funktionalisoidulla grafeenilla on ainutlaatuinen rakenne ja monia ainutlaatuisia ominaisuuksia funktionalisoinnin tyypistä riippuen. Tästä syystä sitä onkin pidetty yhtenä tärkeimmistä materiaaleista polymeerinanokomposiittien valmistamisessa. Liu *et al.*<sup>13</sup> ovat valmistaneet grafeeniperoksidi-polyakryliamidihydrogeelejä eri grafeeniperoksidikonsentraatioilla ja tutkineet niiden ominaisuuksia. Grafeeniperoksidin (graphene peroxide, GPO) mahdollinen rakenne sekä hydrogeelin muodostumisprosessi on esitetty kuvassa 2.<sup>13</sup>



**Kuva 2.** GPO:n ja GPO-hydrogeelin muodostumismekanismit. a) Grafeenioksidin ja grafeeniperoksidin mahdolliset kaavamallit. b) 3D-malli GPO-hydrogeelin muodostumisesta ennen (vasemmalla) ja jälkeen (oikealla) polymerisaatiota. c) Pyyhkäisyelektronimikroskoopin kuva GPO-hydrogeelin muodostumisprosessista, reaktioaika 6 minuuttia. d) Pyyhkäisyelektronimikroskoopin kuva GPO-hydrogeelin muodostumisprosessista, reaktioaika 12 minuuttia.<sup>13</sup> - Reprinted with permission from (ACS Nano, 2012, 6, 8194 – 8202). © (2012) American Chemical Society.

Grafeeniperoksidihydrogeelit eivät lienneet suureen ylimäärään vettä edes kuukauden upottamisen jälkeen. Tämä viittaa siihen, että grafeeniperoksidihydrogeeleissä on kemiallista silloittumista. Pyyhkäisyelektronimikroskooppitutkimukset, jotka suoritettiin eri reaktioaikojen kuluttua, osoittivat, että eristetyt grafeeniperoksidiarkit yhdistyivät pitkillä säikeillä, joiden avulla kolmiulotteinen rakenne muodostuu. Nämä säikeet alkoivat usein grafeeniperoksidiarkkien reunoista.<sup>13</sup>

Grafeeniperoksidipohjaisten hydrogeelien ominaisuuksia verrattiin tavanomaisen hydrogeelin sekä grafeenioksidihydrogeelin ominaisuuksiin. Tavanomaisen hydrogeelin huomattiin olevan ominaisuuksiltaan heikointa. Sen murtovetolujuus oli vain noin 0,064 MPa. Grafeenioksidin lisääminen geeliin kaksinkertaisti tavanomaisen hydrogeelin murtovetolujuuden. Grafeeniperoksidipohjaisen hydrogeelin murtovetolujuudeksi määritettiin 0,65 MPa. Tämän lisäksi grafeeniperoksidipohjaisen hydrogeelin elastinen kerroin (noin 52 kPa) oli korkeampi kuin grafeenioksidia sisältävän hydrogeelin (30 kPa) ja tavanomaisen hydrogeelin (27 kPa). Tulokset osoittavat, että grafeeniperoksidin käyttö hydrogeeleissä voi parantaa huomattavasti niiden mekaanisia ominaisuuksia.<sup>13</sup>

Grafeeniperoksidipohjaisten hydrogeelien värin huomattiin muuttuvan ruskeasta mustaksi grafeeniperoksidin konsentraation kasvaessa. Kasvava grafeeniperoksidikonsentraatio vaikutti grafeeniperoksidihydrogeelien mikrorakenteeseen kahdella tavalla: grafeeniperoksidikonsentraation kasvaessa geeliin muodostui enemmän, mutta lyhyempiä haaroittuneita polymeeriketjuja. Lisäksi grafeeniperoksidiarkkien välinen etäisyys pieneni, minkä ansiosta silloitus arkkien välillä oli helpompaa. Haaroittuneiden polymeeriketjujen määrän kasvaminen läheisissä grafeeniperoksidiarkeissa johti parempaan murtovetolujuuteen ja korkeampaan elastiseen kertoimeen.<sup>13</sup>

Valmistetut grafeeniperoksidipohjaiset hydrogeelit omasivat poikkeukselliset mekaaniset ominaisuudet. Hydrogeeleillä oli hyvin suuri vetolujuus, keskisuuri elastinen kerroin, erittäin suuret venymät, hyvin matala hystereesi ja erinomainen joustavuus. Verrattuina tavanomaisiin hydrogeeleihin, grafeeniperoksidihydrogeelin mekaaniset ominaisuudet olivat huomattavasti parempia.<sup>13</sup>

### 3 Grafeenipohjaiset hydrogeelit biomateriaalisovelluksissa

Kudosteknologiassa hyödynnetään lääketieteen, biologian sekä tekniikan osaamista kehitettäessä biomimeettisiä kudosteknologiaa ja toimivia korvikkeita vaurioituneille kudoksille ja elimille. Toimiva kudosteknologia vaatii solujen tehokkaan järjestäytymisen alkuperäistä kudosta morfologisesti ja fysiologisesti muistuttaviin kudoksiin. Biomateriaalit ovat hyvin keskeisiä komponentteja kudosteknologiassa, sillä ne voivat auttaa spesifisiä solutoimintoja, ohjata solujen erilaistumista ja muuttaa solujen välisiä vuorovaikutuksia.

Eri kudosten mekaaniset, sähköiset ja fysikaaliset ominaisuudet ovat erilaisia. Tämän vuoksi keinotekkoisten kudosten valmistamisessa käytetään laajasti hybridimateriaaleja, jotka soveltuvat monenlaisiin eri tarkoituksiin erilaisissa kudostyypeissä. Alkuperäisten kudosten ominaisuuksia voidaan jäljitellä esimerkiksi sisällyttämällä hydrogeelimateriaaliin erilaisia nanomateriaaleja, kuten grafeenia ja sen johdannaisia.<sup>4</sup> Grafeenipohjaisten materiaalien poikkeukselliset mekaaniset ja sähköiset ominaisuudet tekevät niistä erityisen hyvin soveltuvia kudosteknologian ja regeneratiivisen lääketieteen sovelluksiin. Grafeeni voidaan yhdistää erilaisiin bioaktiivisiin materiaaleihin, jolloin voidaan valmistaa materiaaleja kunkin käyttötarkoituksen kannalta haluttuja ominaisuuksia sisältäviä materiaaleja.<sup>3</sup> Grafeenipohjaisia hydrogeelejä on hyödynnetty muun muassa luukudosteknologiassa<sup>14</sup>, sydänekudosteknologiassa<sup>7</sup>, hermokudosteknologiassa<sup>9</sup>, lihaskudosteknologiassa<sup>11</sup>, haavasidoksissa<sup>6</sup> sekä lääkkeiden kuljetuksessa<sup>15</sup>.

#### 3.1 Grafeenipohjaiset hydrogeelit luukudosteknologiassa

Xie *et al.*<sup>14</sup> ovat valmistaneet grafeeni/hydroksiapatiittinopartikkeli-hydrogeelin. Grafeenipohjaisen hydrogeelin ympärille muodostui grafiitinkaltainen kuori. Tätä kuorta voitiin käyttää esimerkiksi dialyysikalvona ylimääräisten ionien poistamiseksi. Valmistetut grafeenipohjaiset hydrogeelit olivat mekaanisesti vahvoja, biohteensopivia ja ne johtivat sähköä.<sup>14</sup>

Geelin rakenteen muutosten huomattiin vastaavan hyvin vastaavia muutoksia mekaanisissa ominaisuuksissa ja sähkönjohtavuudessa. Vaikka hydrogeelien mekaaniset ominaisuudet vaihtelivat eri näytteiden välillä, ne olivat yleensä verrattavissa polymeerihydrogeeleihin ja biologisiin

kudoksiin, kuten rustoon. Hydrogeelien mekaaniset ominaisuudet ja sähkönjohtavuus heikkenivät selvästi hydroksiapatiittipitoisuuden ollessa matala tai korkea.<sup>14</sup>

Grafeenipohjaisilla hydrogeeleillä huomattiin olevan lineaarinen suhde virran ja jännitteen välillä. Tämä todisti, että hydrogeeleissä oli hyvin kytketty grafeeniverkko, mikä mahdollisti hyvän sähkönjohtokyvyn. Hydrogeelien hyvä sähkönjohtavuus ja niiden mekaaniset ominaisuudet voivat edistää luiden uudistumista.<sup>14</sup>

Tutkimuksessa tehtiin myös alustava soluviljelmä käyttäen hiiren multipotentteja mesenkymaalaisia kantasoluja (mesenchymal stem cell, MSC). Grafeenipohjaisessa hydrogeelissä solujen elinkelpoisuus oli korkea ja verrattavissa kudosisviljelypolystyreenissä havaittuun elinkelpoisuuteen. Grafeenipohjaisten hydrogeelien hieno huokoinen rakenne paransi todennäköisesti solujen kiinnittymistä, vaikka grafeeni on jo yksinkin hyvin bioyhteensopivaa.<sup>14</sup>

Tutkimuksissa havaittiin, että grafeenipohjaisilla hydrogeeleillä oli erinomaiset mekaaniset ominaisuudet, hyvä sähkönjohtavuus, suuri spesifinen pinta-ala ja hyvä soluyhteensopivuus. Näiden havaintojen perusteella voitiin päätellä, että grafeenipohjaiset hydrogeelit ovat erinomaisia ehdokkaita luukudosteknologiin sovelluksiin.<sup>14</sup>

Myös Yu *et al.*<sup>16</sup> ovat tutkineet grafeenipohjaisia hydrogeelejä luukudosteknologiassa. Heidän valmistamansa hydroksiapatiitti/grafeenioksidi/kitosaani-hydrogeelit olivat mekaanisilta ominaisuuksiltaan vahvoja. Elektronimikroskooppikuvien avulla hydrogeelien huokosten koon huomattiin olevan suotuisa osteoblastien lisääntymiselle ja erilaistumiselle. Alustavassa soluviljelmässä rotan luuytimen mesenkymaalisilla kantasoluilla (rat bone marrow mesenchymal stem cells, rBMSC) oli korkea elinkyky. Ominaisuuksiensa perusteella hydroksiapatiitti/grafeenioksidi/kitosaani-hydrogeelit vaikuttavat olevan hyvin sovellettavissa luukudosteknologiin sovelluksiin.<sup>16</sup>

### **3.2 Grafeenipohjaiset hydrogeelit sydänekudosteknologiassa**

Tällä hetkellä sydämen kudosteknologiassa käytetyillä biomateriaaleilla on heikkouksia, kuten puutteita sähkönjohtavuudessa ja mekaanisissa ominaisuuksissa. Nämä ominaisuudet ovat hyvin tärkeitä sydämen solujen käyttäytymisen säätelyssä. Grafeenipohjaiset hydrogeelit voisivat sopia käytettäväksi sydänekudosteknologiin sovelluksiin.<sup>7</sup>

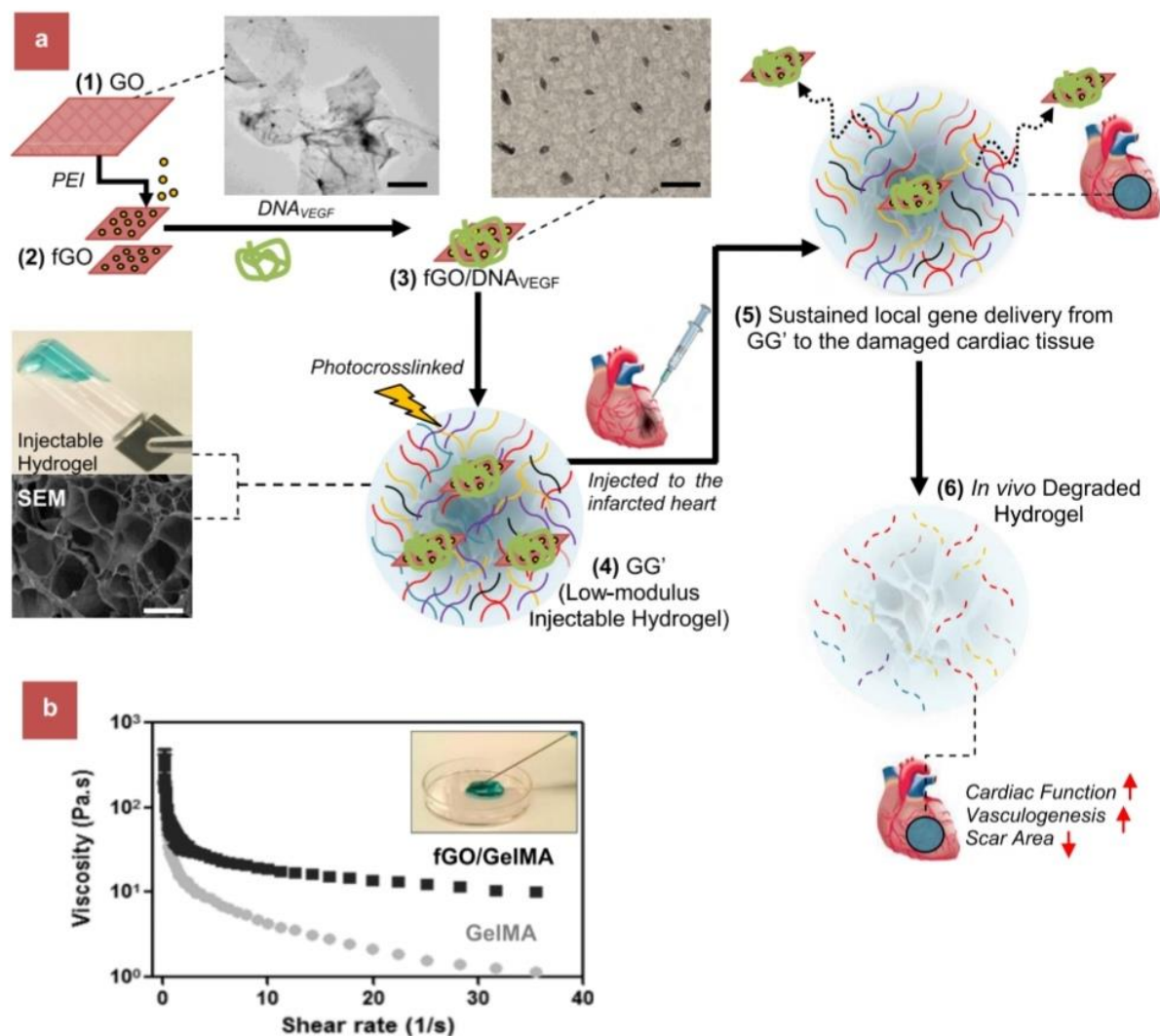
Shin *et al.*<sup>7</sup> tutkivat valmistamiensa rGO-GelMA-hydrogeelien mahdollista käyttöä sydänekudosteknologiassa. rGO-GelMA-hydrogeelin soveltuvuutta tutkittiin NIH-3T3-soluviljelmän avulla ja tuloksia verrattiin puhtaan GelMA-hydrogeelin kanssa. Solut muodostivat rGO/GelMA-hydrogeelillä homogeenisemmän kerroksen kuin puhtaalla GelMA-hydrogeelillä, jolla ne muodostivat klustereita. Solujen elinkykyä hydrogeeleillä arvioitiin myös mittaamalla solujen DNA-pitoisuus. DNA-pitoisuuden kasvaminen osoitti, että rGO ei aiheuttanut merkittävää toksisuutta verrattuna puhtaaseen GelMA-hydrogeeliin. Solujen elinkyvyn huomattiin olevan kaikissa rGO/GelMA-näytteissä yli 90 %.<sup>7</sup>

rGO-GelMA-hydrogeelien biologista yhteensopivuutta sydänekudosteknologiaan tutkittiin vielä tarkemmin lisäämällä rGO-GelMA-hydrogeelille vastasyntyneistä rotista eristettyjä primaarisia kardiomyosyyttejä. Solujen DNA-pitoisuus pysyi vakiona yhdeksän päivän ajan kaikissa näytteissä, joten rGO-GelMA-hydrogeelit eivät olleet myrkyllisiä sydämen soluille. rGO-GelMA-hydrogeeleillä kaksiulotteiset sydänekudokset näyttivät järjestyneemmiltä ja tehostetusti solukytkeytyneiltä. Tämä on edullista sydänekudoksen supistumisominaisuuksien parantumisen kannalta.<sup>7</sup>

Valmistettujen sydänekudosten sähköfysiologisia ominaisuuksia arvioitiin seuraamalla rGO-GelMA-hydrogeelien ja GelMA-hydrogeelien päälle asetettujen sydänlihassolujen spontaania käyttäytymistä. Spontaani lyöntikäyttäytyminen kirjattiin ylös päivittäin. Kaikki kudokset osoittivat spontaania synkronista lyöntiaktiivisuutta. Spontaani lyöntinopeus oli merkittävästi suurempi 5 mg/ml rGO/GelMA-hydrogeelinäytteille verrattuna puhtaisiin GelMA-hydrogeelinäytteisiin. Havaintojen perusteella rGO-GelMA-hydrogeelit ovat lupaavia materiaaleja sydänekudosteknologiassa käytettäväksi.<sup>7</sup>

Paul *et al.*<sup>5</sup> valmistivat grafeenioksidi/hydrogeelipohjaisen injektoitavan geeninsiirtojärjestelmän vaskulogeneesille (verisuonten kehittyminen alkion mesodermista) ja sydämen korjaukselle (kuva 3).<sup>5</sup> Jotta GO/GelMA-nanokomposiittihydrogeelejä voidaan käyttää injektoitavana geeninsiirtoaineena, tulisi hydrogeelin kulkea kirurgisten neulojen läpi mahdollisimman pienellä vaivalla. Tämän lisäksi hydrogeelin tulisi säilyttää mekaaniset ominaisuutensa ja rakenteensa injektion jälkeen. fGO<sub>VEGF</sub>-nanoarkkien (DNA:ta koodaava verisuonen endoteelin kasvutekijä sidottuna funktionalisoituun grafeenioksidin, fGO<sub>VEGF</sub>) helpon vapauttamisen aikaansaamiseksi käytettiin GelMA:ta. Alustavat tutkimukset osoittivat, että kaikki nanokomposiittihydrogeelit eri koostumuksilla voitiin injektoida helposti.<sup>5</sup>





**Kuva 3.** Injektoitavan GG'-hydrogeelin valmistus akuutin sydäninfarktin hoitoon. a) Vaiheittainen kaavio nanobioaktiivisen hydrogeelin valmistusprosessista ja seuraavasta injektiosta akuutin sydäninfarktin jälkeisestä sydämen hoidosta. (1) GO-nanoarkit funktionalisoidaan amidisidoksella haaroittuneen polyeetteri-imidin kanssa kationisen fGO:n muodostumiseksi. (2) fGO:n pinta funktionalisoidaan anionisilla plasmideilla fGO/DNA<sub>VEGF</sub>:n muodostumiseksi. (3) Bioaktiiviset hybridit suspensoidaan GelMA-hydrogeelin esipolymeeriin ja silloitettiin UV:lla optimoituun tilaan muodostamaan (4) injektoitavaa fGO/DNA<sub>VEGF</sub>:ää, joka sisältää GelMA-hydrogeeliä (GG'). (5) Hydrogeeli injektoidaan akuutin sydäninfarktin aikana rotan sydämeen, mikä (6) edistää sydämen vaskulogeneesiä ja johtaa pienempään arpialueeseen ja parempaan sydämen toimintaan. b) Kehitetyn GO:ta kuljettavan GelMA-hydrogeelin injektoitavuus.<sup>5</sup> – Reprinted with permission from (ACS Nano, 2014, 8, 8050 – 8062). © (2012) American Chemical Society.

Hydrogeelit pitäisi pystyä ruiskuttamaan helposti vaurioituneen kohdan lähelle ja niillä pitäisi myös olla riittävä mekaaninen lujuus, jotta ne kestävät *in vivo* -jännitykset. Viskositeetin lasku murtumisnopeuden kasvaessa osoitti, että nanokomposiittihydrogeelit alkavat virrata mekaanisen rasituksen alaisena. fGO:n lisääminen kasvatti merkittävästi hydrogeelin viskositeettia. Tämä johtui pääasiassa pinnan funktionalisoitujen fGO-nanoarkkien fyysisestä vuorovaikutuksesta GelMA:n kanssa. fGO:n lisääminen myös paransi GelMA:n hydrogeeliverkon mekaanista lujuutta. Näin fGO/GelMA-hydrogeelit olivat helposti injektoitavissa käyttäen kirurgista neulaa.<sup>5</sup>

fGO/GelMA-hydrogeelit olivat bioyhteensopivia, eivätkä ne aiheuttaneet merkittäviä sivuvaikutuksia. Injektoidut nanokomposiittihydrogeelit vaikuttivat edullisesti kudoksen verenkierron palauttamiseen vaurioituneeseen paikkaan ja paransivat supistumiskykyä. fGO/GelMA-hydrogeelit ovat siis mahdollinen hybridimateriaali akuutin sydäninfarktin hoitoon.<sup>5</sup>

### 3.3 Grafeenipohjaiset hydrogeelit hermokudosteknologiassa

Martin *et al.*<sup>9</sup> ovat tutkineet valmistamansa grafeeni/polyakryyliamidi-hydrogeelin ominaisuuksia hermokudosteknologiassa. Valmistettujen grafeenia sisältävien hydrogeelien tehokkuutta hermosolujen kasvun ja aktiivisuuden tukemisessa verrattiin puhtaiden polyakryyliamidihydrogeelien tehokkuuteen. Tutkittavissa hydrogeeleissä grafeenin pitoisuus oli 0,2 mg/ml, koska tällöin hydrogeelin huokoskoko oli sopiva viljellyille neuroneille.<sup>9</sup>

Hermosoluja viljeltiin kolmessa eri tilassa: perinteisessä 2D-polyornitiinikerroksisessa kasvualustassa sekä hydrogeeleissä grafeenilla ja ilman grafeenia. Vaikka kokeet toistettiin useita kertoja, puhtaalle polyakryyliamidihydrogeelille istutetut hippokampuksen solut eivät tarttuneet rakenteeseen eivätkä kasvaneet. Nämä tulokset osoittivat, että polyakryyliamidimateriaaleilla on huono bioyhteensopivuus hermosolujen kanssa. Sen sijaan grafeenia sisältävät hydrogeelit mahdollistivat neuronaalisen kehityksen.<sup>9</sup>

Neurobiologisten tutkimusten tuloksena huomattiin, että grafeenin läsnäolo hydrogeelissä on ratkaisevan tärkeää solujen tarttumisen sekä kypsien ja aktiivisten synapsisten verkkojen muodostumisen kannalta. Neuronit kasvoivat vain grafeenia sisältävissä hydrogeeleissä, jotka oli syntetisoitu käyttämällä grafeenidispersiota vedessä ja joiden grafeenipitoisuus oli vain 0,2 mg/ml. Geelin mekaanisten ominaisuuksien ei huomattu olevan kriittisiä hermosolujen kasvulle grafeenin läsnä ollessa.<sup>9</sup>

Myös Li *et al.*<sup>10</sup> ovat tutkineet valmistavansa GO/PAM-hydrogeelin ominaisuuksia hermokudosteknologiassa, tarkemmin sen vaikutuksista Schwannin solujen kiinnittymiseen ja lisääntymiseen. Schwannin soluja voidaan mahdollisesti hyödyntää perifeeristen hermovaurioiden, jotka voivat aiheutua muun muassa liikenne- ja teollisuusonnettomuuksista, hoidossa. Nykyiset perifeeristen hermovaurioiden korjauskeinot ovat hyvin rajoitettuja ja tämän vuoksi uusien materiaalien kehittäminen on tärkeää.<sup>10</sup>

Viiden päivän soluviljelyn jälkeen puhtaalla PAM-hydrogeelillä ja 3,0 mg/ml GO/PAM-hydrogeelillä solujen määrä oli vähentynyt merkittävästi verrattuna ensimmäiseen ja kolmanteen päivään. Schwannin solujen olivat vähemmän levinneitä puhtaalla PAM-hydrogeelillä. Sen sijaan kaikilla GO/PAM-hydrogeeleillä solut olivat levinneet suuremmalle alueelle. 1,0 mg/ml GO/PAM-hydrogeelillä oli viiden päivän viljelyn jälkeen suurin määrä Schwannin soluja.<sup>10</sup>

Kaiken kaikkiaan, valmistetut GO/PAM-hydrogeelit olivat edullisia ravinnon kuljetukselle, solujen kasvulle sekä kudosten uudistumiselle. GO/PAM-hydrogeelit osoittivat myös, että Schwannin solujen normaalit biologiset toiminnot säilyivät niissä. Näiden ominaisuuksien vuoksi GO/PAM-hydrogeelit ovat mahdollisesti hyödynnettävissä perifeerisen hermovaurioiden korjaamiseen.<sup>10</sup>

### 3.4 Grafeenipohjaiset hydrogeelit lihaskudosteknologiassa

Hou *et al.*<sup>11</sup> valmistivat ärsykeherkän tilavuutta muuttavan grafeeni/PNIPAAm-hydrogeelin. Kyseisen hydrogeelin tilavuus pystyi muuttumaan vasteena sähkövirralle. Grafeeni/PNIPAAm-hydrogeelien tilavuuden muuttumisen ansiosta niistä voidaan mahdollisesti hyödyntää keinotekoisissa lihaksissa.<sup>11</sup>

Grafeeni/PNIPAAm-hydrogeelien avulla voidaan estää keinotekoisien lihasten muodon muuttumista ja täten myös vähentää kudonvaurioita. Tilavuudenmuutoksen aikaansaamiseksi hydrogeelit hyödyntävät vesiliikennettä ionisen kuljetuksen sijasta. Tämä osoittaa, että grafeeni/PNIPAAm-hydrogeelit toimivat muuttamatta ympäristön ionikoostumusta, mikä on hyvin tärkeää ihmisen terveydelle.<sup>11</sup>

Grafeeni/PNIPAAm-hydrogeeli ei siis muuta ympäristönsä ionikoostumusta. Tämän lisäksi sitä voidaan säädellä turvallisella jännitteellä ja sopivalla lämpötilalla. Kaikki nämä ominaisuudet tekevät siitä sopivan materiaalin hyödynnettäväksi keinotekoisissa lihaksissa.<sup>11</sup>

### 3.5 Grafeenipohjaiset hydrogeelit haavasidoksissa

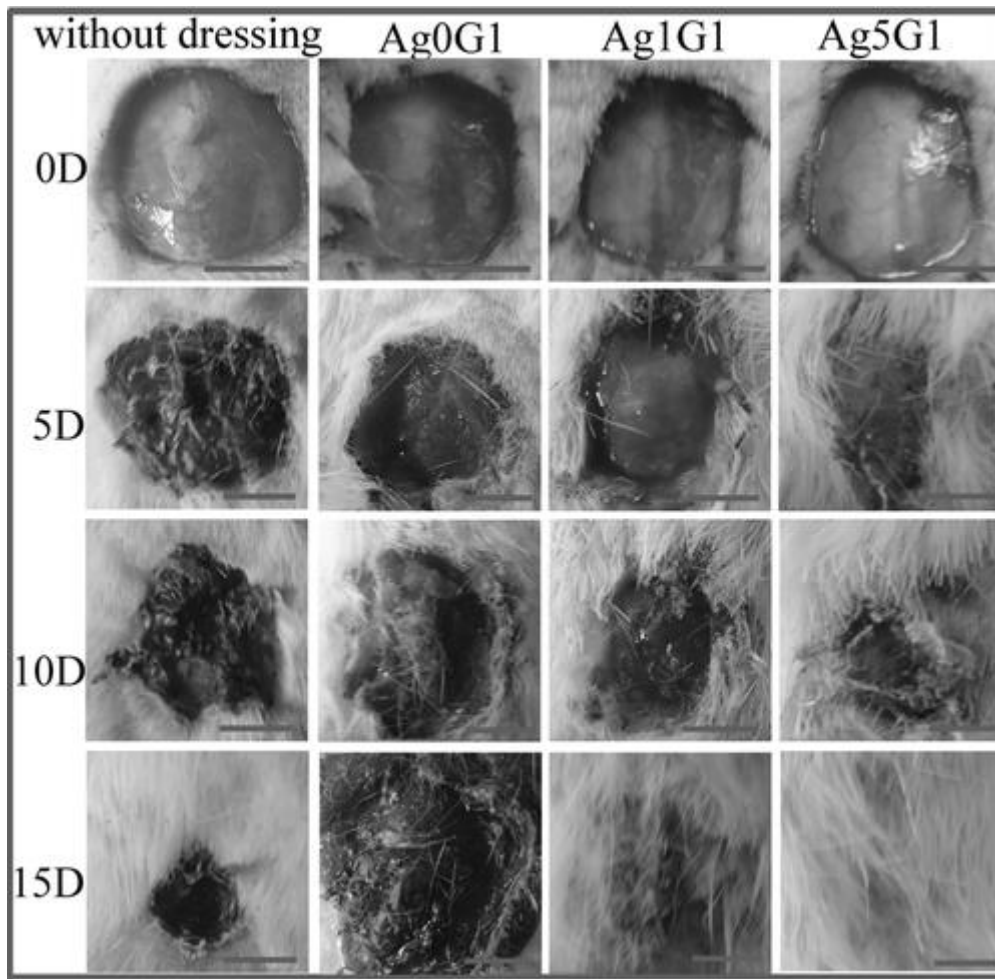
Iho on hyvin tärkeä elin, joka suojaa sisäelimiä ympäristöltä ja estää kehon kuivumista. Ihon vaurioituessa nämä ominaisuudet heikkenevät. Vaikea haavan kuivuminen voi vaikuttaa haavan paranemiseen, koska paranemiselle ideaalista kosteaa ympäristöä ei enää ole. Perinteiset haavasidokset, kuten puuvilla ja sideharso ovat kuivia ja jäävät usein kiinni kuivuneeseen haavaan, jolloin ne aiheuttavat poistettaessa vaurion. Tämän vuoksi tutkijat ovat alkaneet valmistaa kosteita haavasidoksia, kuten hydrogeelejä. Esimerkiksi Fan *et al.*<sup>6</sup> valmistivat hopea-grafeeni-hydrogeelin, jota voidaan mahdollisesti hyödyntää haavasidoksissa.<sup>6</sup>

Grafeeni-hydrogeeleihin lisättiin hopeaa bakteerien haavainfektioiden välttämiseksi. Hopea on yksi yleisimpiä ja tutkituimpia antibakteerisia aineita. Valmistettujen hopea-grafeeni-hydrogeelien antibakteerista aktiivisuutta Gram-negatiivisia ja -positiivisia bakteereja vastaan tutkittiin käyttämällä shaking flask- ja disc diffusion-metodeita. Eniten hopeaa sisältävät hydrogeelit pystyivät parempaan antibakteeriseen vaikutukseen.<sup>6</sup>

Hopea-grafeeni-hydrogeelien huokoskoon huomattiin kasvavan hopeakonsentraation kasvaessa. Huokoinen rakenne on tärkeä ominaisuus hapensaannin ja suuren vesimäärän ylläpitämisen kannalta. Näin ollen valmistetut korkeamman Ag-nanohiukkasten pitoisuuden omaavat hydrogeelit voivat helpottaa hapen vaihtoa, ylläpitää sopivaa kosteutta sekä edistää solun kiinnittymistä ja kasvua.<sup>6</sup>

Hopea-grafeeni-hydrogeelien bioyhteensopivuutta tutkittiin fibroblasti-soluviljelmällä. Hopeapitoisuuden nostaminen ei aiheuttanut haitallisia vaikutuksia solujen elinkykyyn. Korkeimman hopeapitoisuuden omaavien hydrogeelien suurempi huokoskoko johti parempaan solujen elinkykyyn.<sup>6</sup>

Valmistettujen hydrogeelien haavanparannuskyky testattiin 1 cm x 1 cm kokoisilla haavoilla (kuva 4). Haavan parantumista seurattiin 14 päivän ajan kolmella eri hydrogeelin hopea-grafeeni-suhteella (Ag0G1 0:1, Ag1G1 1:1 ja Ag5G1 5:1) ja ilman haavasidosta (kontrolli). Kontrolli ja Ag0G1 eivät vaikuttaneet juurikaan haavan kokoon 10 päivän jälkeen, kun taas Ag1G1:n avulla haavan koko pieneni 25 % ja Ag5G1:llä 43 %.<sup>6</sup>



**Kuva 4.** Pienten haavojen paranemisen visuaalinen tarkkailu. Ylhäältä alas kuluneet päivät ja vasemmalta oikealle hydrogeelien koostumus (hopean määrä kasvaa vasemmalta oikealle). (mittakaavapalkki = 0,5 cm).<sup>6</sup> - [Advanced Functional Materials, 2014, 24, 3933 - 3943] – © WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

15 päivän jälkeen Ag0G1:llä peitetty haava oli suurentunut, mikä johtuu hydrogeelin vähäisten huokosten aiheuttamasta hapenpuutteesta ja huonosta ilman läpäisevyydestä. Näin ollen Ag0G1-hydrogeeli ei sovellu käytettäväksi haavasidoksiin. Haava ilman sidosta oli pienentynyt 15 päivän jälkeen 53 %. Ag1G1-hydrogeelillä peitetty haava oli pienentynyt 85 % ja Ag5G1:llä peitetty haava 98 %. Tulosten perusteella Ag5G1-hydrogeeli on erinomainen parantamaan haavoja lyhyessä ajassa ja sillä voi olla mahdollisia kliinisiä sovelluksia.<sup>6</sup>

### 3.6 Grafeenipohjaiset hydrogeelit lääkkeiden kuljetuksessa

Chen *et al.*<sup>15</sup> valmistivat hydrogeelihelmiä kitosaanijohdannaisista (chitosan derivative, CSD) ja pelkistetystä grafeenioksidista alginaatin kanssa ja tutkivat niiden toimimista pienimolekyylisten lääkkeiden kuljetuksessa. CSD:tä hyödynnettiin GO:n lämpökäsittelyllä pelkistämässä pelkistävänä ja stabiloivana aineena. CDS/rGO:sta muodostettiin hydrogeelihelmiä alginaatilla kompleksoimalla.<sup>15</sup>

Lääkkeiden lastaus- ja vapautumiskäyttäytymistä testattiin kolmella eri koostumuksella: QCMC-rGO/alginaatti- (quaternized carboxymethyl chitosan, QCMC), QCMC-GO/alginaatti- ja QCMC/alginaatti-hydrogeelihelmillä. 50 mg:n fluoreseiinatriummannoksella QCMC-rGO/alginaattihelmien lastaustehokkuus oli 82,8 %, QCMC-GO/alginaattihelmien 31,9 % ja QCMC/alginaattihelmien 18,1 %. QCMC-rGO/alginaattihelmet vapauttivat fluoreseiinatriumista 82,4 % 20 tunnin kuluttua, QCMC-GO/alginaattihelmet 88,8 % seitsemän tunnin kuluttua ja QCMC/alginaattihelmet yli 95 % kolmen tunnin kuluttua.<sup>15</sup>

Valmistetut QCMC-rGO/alginaattihelmet ovat tulosten perusteella lupaavia uusia kuljettimia pienimolekyylisille lääkkeille. Niillä on korkea lääkkeiden lastaustehokkuus, nopea lääkkeenvapautuskyky ja ne eivät ole sytotoksisia.<sup>15</sup>

## 4 Yhteenveto

Grafeenipohjaisten materiaalien kehitys on mennyt nopeasti eteenpäin viimeisen vuosikymmenen aikana. Grafeenipohjaisilla materiaaleilla on havaittu olevan useita kudosteknologisia ja regeneratiivisen lääketieteen sovelluksia niiden erinomaisten fysikaalisten, kemiallisten ja biologisten ominaisuuksien ansiosta.<sup>3</sup>

Grafeenin lisääminen erilaisiin hydrogeeleihin paransi geelien fysikaalisia, kemiallisia ja biologisia ominaisuuksia. Grafeenipohjaiset hydrogeelit vaikuttavatkin hyvin lupaavilta nanomateriaaleilta biologisiin sovelluksiin. Esimerkiksi luu-<sup>14,16</sup>, sydän-<sup>5,7</sup>, hermo-<sup>9,10</sup> ja lihaskudosteknologisissa<sup>11</sup> tutkimuksissa grafeenipohjaiset hydrogeelit ovat antaneet lupaavia tuloksia bioyhteensopivuuden ja fysikaalisten ominaisuuksien suhteen. Tämä on hyvin merkittävää, sillä nykyiset kudosteknologiassa

hyödynnettävät materiaalit eivät sovellu välttämättä käyttötarkoitukseensa yhtä hyvin kuin grafeenipohjaiset hydrogeelit sopisivat.

Grafeenipohjaisten hydrogeelien hyödyntämistä on tutkittu myös haavasidoksissa<sup>6</sup>. Nykyisissä haavasidoksissa on ongelmia, kuten niiden kuivuus ja haavaan tarttuminen. Grafeenipohjaisten hydrogeelien hyödyntäminen haavasidoksissa voi ratkaista tämän ongelman.

Edellä mainittujen käyttötarkoitusten lisäksi grafeenipohjaisia hydrogeelejä voidaan hyödyntää myös pienimolekyylisten lääkkeiden kuljetuksessa<sup>15</sup>. Grafeenipohjaiset hydrogeelit voidaan lastata hyvin pienimolekyylisellä lääkkeellä ja lääkeaine vapautuu nopeasti.

Vaikka grafeenia ja sen johdannaisia on hyödynnetty monipuolisesti biolääketieteellisissä sovelluksissa, grafeenipohjaisilla nanomateriaaleilla on kuitenkin havaittu sytotoksisia ja genotoksisia vaikutuksia. Grafeenipohjaisten materiaalien sytotoksisuuden ymmärtämiseksi materiaaleja täytyy vielä tutkia tarkemmin ennen kuin niitä voidaan käyttää kliinisissä sovelluksissa.<sup>3</sup>

## 5 Kirjallisuusuusluettelo

1. Geim, A. K., Graphene: status and prospects, *Science*, **2009**, *324*, 1530 – 1534.
2. Novoselov, K. S.; Geim, A. K.; Morozov, S.; Jiang, D.; Zhang, Y.; Dubonos, S. V.; Grigorieva, I. ja Firsov, A., Electric field effect in atomically thin carbon films, *Science*, **2004**, *306*, 666 – 669.
3. Shin, S. R.; Li, Y.; Jang, H. L.; Khoshakhlagh, P.; Akbari, M.; Nasajpour, A.; Zhang, Y. S.; Tamayol, A. ja Khademhosseini, A., Graphene-based materials for tissue engineering, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2016**, *105*, 255 – 274.
4. Shin, S. R.; Aghaei-Ghareh-Bolagh, B.; Dang, T.T.; Topkaya, S. N.; Gao, X.; Yang, S. Y.; Jung, S. M.; Oh, J. H.; Dokmeci, M. R.; Tang, X. ja Khademhosseini, A., Cell-laden microengineered and mechanically tunable hybrid hydrogels of gelatin and graphene oxide, *Advanced materials*, **2013**, *25*, 6385 – 6391.
5. Paul, A.; Hasan, A.; Al Kindi, H.; Gaharwar, A. K.; Rao, V. T. S.; Nikkhah, M.; Shin, S.; Krafft, D.; Dokmeci, M. R.; Shum-Tim, D. ja Khademhosseini, A., Injectable graphene oxide/hydrogel-based angiogenic gene delivery system for vasculogenesis and cardiac repair, *ACS Nano*, **2014**, *8*, 8050 – 8062.
6. Fan, Z.; Liu, B.; Wang, J.; Zhang, S.; Lin, Q.; Gong, P.; Ma, L. ja Yang, S., A novel wound dressing based on Ag/graphene polymer hydrogel: effectively kill bacteria and accelerate wound healing, *Advanced Functional Materials*, **2014**, *24*, 3933 – 3943.
7. Shin, S. R.; Zihlmann, C.; Akbari, M.; Assawes, P.; Cheung, L.; Zhang, K.; Manoharan, V.; Zhang, Y. S.; Yüksekaya, M.; Wan, K.; Nikkhah, M.; Dokmeci, M. R.; Tang, X. ja Khademhosseini, A., Reduced graphene oxide-gelMA hybrid hydrogels as scaffolds for cardiac tissue engineering, *Small*, **2016**, *12*, 3677 – 3689.
8. Peppas, N. A.; Hilt, Z.; Khademhosseini, A. ja Langer, R., Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology, *Advanced materials*, **2006**, *18*, 1345 – 1360.
9. Martín, C.; Merino, S.; González-Domínguez, J. M.; Rauti, R.; Bbalerini, L.; Prato, M. ja Vázquez, E., Graphene improves the biocompatibility of polyacrylamide hydrogels: 3D polymeric scaffolds for neuronal growth, *Scientific Reports*, **2017**, *7*, 1 – 12.
10. Li, G.; Zhao, Y.; Zhang, L.; Gao, M.; Kong, Y. ja Yang, Y., Preparation of graphene oxide/polyacrylamide composite hydrogel and its effect on schwann cells attachment and proliferation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2016**, *143*, 547 – 556.



11. Hou, C.; Zhang, Q.; Li, Y. ja Wang, H., Graphene-polymer hydrogels with stimulus-sensitive volume changes, *Carbon*, **2012**, *50*, 1959 – 1965.
12. Xu, Y.; Sheng, K.; Li, C. ja Shi, G., Self-assembled graphene hydrogel via a one-step hydrothermal process, *ACS Nano*, **2010**, *4*, 4324 – 4330.
13. Liu, J.; Chen, C.; He, C.; Zhao, J.; Yang, X. ja Wang, H., Synthesis of graphene peroxide and its application in fabricating super extensible and highly resilient nanocomposite hydrogels, *ACS Nano*, **2012**, *6*, 8194 – 8202.
14. Xie, X.; Hu, K.; Fang, D.; Shang, L.; Tran, S. D. ja Cerruti, M., Graphene and hydroxyapatite self-assemble into homogeneous, free standing nanocomposite hydrogels for bone tissue engineering, *Nanoscale*, **2015**, *7*, 7992 – 8002.
15. Chen, K.; Ling, Y.; Cao, C.; Li, X.; Chen, X. ja Wang, X., Chitosan derivatives/reduced graphene oxide/alginate beads for small-molecule drug delivery, *Materials Science and Engineering C*, **2016**, *69*, 1222 – 1228.
16. Yu, P.; Bao, R.; Shi, X.; Yang, W. ja Yang, M., Self-assembled high-strenght hydroxyapatite/graphene oxide/chitosan composite hydrogel for bone tissue engineering, *Carbohydrate Polymers*, **2017**, *155*, 507 – 515.