



**TURUN  
YLIOPISTO**

# **Hiilinanomateriaalien toksisuus**

Materiaalin geometrian vaikutus toksisuuteen ja bioyhteensopivuuteen

Materiaalitekniikka  
Kandidaatintutkielma

Laatija:  
Milla Kivimäki

29.4.2025  
Turku

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu  
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidutkielma

**Oppiaine:** Materiaalitekniikka

**Tekijä:** Milla Kivimäki

**Otsikko:** Hiilinanomateriaalien toksisuus – geometrian vaikutus toksisuuteen ja bioyhteensopivuuteen

**Ohjaaja:** Väitöskirjatutkija Johanna Suni

**Sivumäärä:** 20 sivua

**Päivämäärä:** 29.4.2025

Hiilipohjaisten nanomateriaalien kasvava käyttö erityisesti lääketieteellisissä sovelluksissa korostaa tarvetta ymmärtää niiden mahdollisia toksisia vaikutuksia sekä bioyhteensopivuutta. Vaikka hiilinanomateriaalit tarjoavat monipuolisia ominaisuuksia esimerkiksi lääkeaineiden kuljetukseen ja kudossrakenteiden tukemiseen, liittyy niiden käyttöön vielä epävarmuutta. Keskeisimpiä tekijöitä, joilla on todettu olevan vaikutusta toksisuuteen ja bioyhteensopivuuteen ovat materiaalin rakenne ja geometria.

Tutkielmassa tarkastellaan, miten hiilinanomateriaalien geometriset ominaisuudet, kuten muoto, koko ja rakenne vaikuttavat niiden toksisuuteen biologisessa ympäristössä ja kuinka näitä ominaisuuksia voidaan hyödyntää bioyhteensopivuuden parantamiseksi. Työssä keskitytään neljään yleisimpään hiilinanomateriaaliryhmään: grafeeneihin, hiilinanoputkiin, fullereeneihin ja hiilinanokuituihin. Erityistä huomiota kiinnitetään materiaalien käyttäytymiseen solujen kanssa sekä niiden vaikutuksiin solujen elinkelpoisuuteen ja mahdollisiin solunsisäisiin vaurioihin.

Tutkielman perusteella pienemmät partikkelit voivat olla toksisempia, koska ne pääsevät tunkeutumaan soluihin tehokkaammin. Toisaalta suuremmat partikkelit voivat aiheuttaa aggregaatteja. Geometrian lisäksi toksisuuteen vaikuttavat myös useat muut tekijät, kuten altistumisaika, annoskoko, materiaalin epäpuhtaudet sekä tutkimusten koeasetelmien rajoitteet. Keinoja, joilla bioyhteensopivuutta voidaan parantaa ovat esimerkiksi pintafunktionalisointi ja rakenteelliset muokkaukset. Tulevaisuudessa turvallisten hiilinanomateriaalien kehittäminen edellyttää tarkkaa materiaalikohtaista suunnittelua, kattavaa toksisuusarviointia sekä monitieteistä tutkimusyhteistyötä.

**Avainsanat:** hiilinanomateriaalit, toksisuus, bioyhteensopivuus, geometria, toksisuustutkimus, nanopartikkelit

# Sisällysluettelo

<b>1</b>	<b>Johdanto</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Nanomateriaalit</b>	<b>6</b>
2.1	Nanomateriaalien ominaisuudet	6
2.2	Nanomateriaalien käyttökohteet	6
2.3	Hiilinanomateriaalit	7
<b>3</b>	<b>Hiilinanomateriaalien toksisuus</b>	<b>10</b>
3.1	<b>Toksisuuden määritelmä ja terveysvaikutukset</b>	<b>10</b>
3.1.1	Soluvauriot	10
3.1.2	Oksidatiivinen stressi	11
3.1.3	Tulehdukset	11
3.2	<b>Toksisuuden tutkiminen</b>	<b>11</b>
3.2.1	<i>In vitro</i> -tutkimukset	12
3.2.2	<i>In vivo</i> -tutkimukset	12
<b>4</b>	<b>Hiilinanomateriaalien geometrian vaikutus toksisuuteen</b>	<b>14</b>
4.1	Grafeenit	14
4.2	Hiilinanoputket	15
4.3	Fullereenit	16
4.4	Hiilinanokuidut	17
<b>5</b>	<b>Bioyhteesopivuus</b>	<b>18</b>
<b>6</b>	<b>Pohdinta</b>	<b>20</b>
<b>7</b>	<b>Yhteenveto</b>	<b>22</b>
	<b>Lähteet</b>	<b>24</b>

# 1 Johdanto

Nanoteknologian kehitys on mahdollistanut sen laaja-alaisen hyödyntämisen useilla eri teollisuuden ja tieteen aloilla. Nanomateriaalien merkittävin erityispiirre on pieni partikkelikoko, joka määritelmän mukaan sijoittuu 1–100 nanometrin välille. Nanomateriaaleiksi luokitellaan materiaalit, joiden yksi kolmesta ulkomitasta – pituus, leveys tai korkeus – sijoittuu tälle kokoluokalle. Materiaalin ominaisuudet muuttuvat usein huomattavasti siirryttäessä makroskooppiselta tasolta alaspäin mikro- ja nanomittakaavaan. Pienen kokonsa ja ainutlaatuisten ominaisuuksiensa vuoksi nanomateriaaleja hyödynnetään erityisesti terveydenhuollossa ja ympäristön kunnostamisessa. Käyttökohteita ovat muun muassa veden ja maaperän puhdistus, elintarviketeollisuus tai syöpätutkimukset, joissa nanopartikkeleja käytetään mm. kuljettamaan kemoterapialääkkeitä suoraan syöpäsoluille. [1]

Hiilipohjaisia nanomittakaavan materiaaleja kutsutaan hiilinanomateriaaleiksi (*engl.* carbon nanomaterials). Näihin lukeutuvat muun muassa grafeeni ja sen johdannaiset, hiilinanoputket, fullereenit sekä hiilinanokuidut. Hiilinanomateriaalien käyttö on yleistynyt viime aikoina erityisesti lääketieteellisissä sovelluksissa. Samalla lisääntynyt käyttö on herättänyt huolta hiilinanomateriaalien mahdollisista toksisista vaikutuksista. Materiaalien kyky vuorovaikuttaa suoraan solujen kanssa edellyttää tarkkaa turvallisuusarviointia – ei ainoastaan sovellusten käyttäjien vaan myös valmistajien ja ympäristön näkökulmasta. Tästä syystä on tärkeää ymmärtää, miten nanomateriaalien toksisuutta tutkitaan ja mitkä tekijät toksisuuteen vaikuttavat.

Geometrialla tarkoitetaan tässä yhteydessä nanomateriaalien kokoa, pinnanmuotoa ja rakenteellisia piirteitä. Hiilinanomateriaalit voivat esiintyä esimerkiksi putkimaisina, pallomaisina, kuitumaisina tai levymäisinä rakenteina. Fyysisen koon lisäksi geometriaa voidaan tarkastella pinta-alan näkökulmasta, mikä vaikuttaa hiilinanomateriaalien ominaisuuksiin. Suuri pinta-ala ja tilavuus suhteessa pieneen partikkelikokoon voivat lisätä materiaalin reaktiivisuutta.

Toksisuuteen vaikuttavat useat fysikaaliset ja kemialliset tekijät, joten sitä tutkiessa on tärkeää hyödyntää monipuolisia tutkimusmenetelmiä. Tutkielmassa tarkastellaan sekä *in vitro* - että *in vivo* -menetelmiä, joiden avulla voidaan arvioida hiilinanomateriaalien vaikutuksia solutasolla sekä organismeissa. Lisäksi työssä selvitetään, miten materiaaleja voidaan suunnitella turvallisemmiksi esimerkiksi pintarakenteita muokkaamalla tai säätämällä partikkelin kokoa ja

muotoa. Tutkielman tavoitteena on tarkastella yleisimpien hiilinanomateriaalien toksisuutta ja bioyhteensopivuutta geometrian näkökulmasta. Tutkielmassa pyritään vastaamaan seuraaviin tutkimuskysymyksiin:

1. Miten hiilinanomateriaalien geometriset ominaisuudet (muoto, koko, rakenne) vaikuttavat niiden toksisuuteen biologisessa ympäristössä?
2. Millä tavoin hiilinanomateriaalien geometriaa voidaan hyödyntää bioyhteensopivuuden parantamiseksi?

Tässä kandidaatintutkielmassa on hyödynnetty tekoälypohjaista ChatGPT-sovellusta alkuperäisen lähdemateriaalin jäsentelyssä sekä lähteiden kääntämiseen suomeksi. Lisäksi tekoälyä on käytetty kielen tarkastuksessa.

## 2 Nanomateriaalit

### 2.1 Nanomateriaalien ominaisuudet

Nanomateriaalit eroavat perinteisistä makroskooppisista materiaaleista niiden ainutlaatuisten fysikaalisten ja kemiallisten ominaisuuksien ansiosta. Nämä ominaisuudet voidaan jakaa yleisiin ja materiaalikohtaisiin yksilöllisiin ominaisuuksiin. Nanomateriaalien yleisiä ominaisuuksia ovat niiden pieni koko, muoto, suuri pinta-ala ja suuri reaktiivisuus. Optiset, magneettiset ja antimikrobiset ominaisuudet puolestaan liittyvät vain tiettyihin nanomateriaaleihin [2]. Nanomateriaalien ominaisuudet poikkeavat makroskooppisten materiaalien ominaisuuksista merkittävästi ja niiden käyttäytymistä voidaan selittää muun muassa kvanttimekaniikan ilmiöillä. Nanomittakaavassa materiaalin tiheystila muuttuu, mikä vaikuttaa materiaalien spesifeihin ominaisuuksiin, kuten elektronisiin, magneettisiin ja optisiin ominaisuuksiin. [3]

Nanomateriaalien reaktiivisuus liittyy rakenteen pieneen kokoon – pienikokoiset hiukkaset ovat reaktiivisempia kuin suuret. Nanohiukkasten koko on vain muutamia nanometrejä, joten niiden pinta-ala suhteessa tilavuuteen on huomattavan suuri, mikä tehostaa reaktiivisuutta. Tämä on keskeinen ominaisuus esimerkiksi katalyyssi- ja anturisovelluksissa, joissa suurempi pinta-ala tarjoaa enemmän aktiivisia kohtia reaktioille [2]. Reaktiivisuuden lisäksi pieni partikkelikoko vaikuttaa myös nanomateriaalien mekaanisiin ominaisuuksiin. Verrattuna makroskooppisiin materiaaleihin nanomateriaaleilla on suurempi kovuus, myötölujuus, kimmomoduuli sekä sitkeys. Paremmat mekaaniset ominaisuudet ovat selitettävissä pienellä partikkelikoolla, jonka ansiosta rakenteellisten virheiden epätodennäköisyys pienenee. [2,3]

Nanomateriaaleja on mahdollista valmistaa hallitusti tietyn kokoisina ja muotoisina ohjaamalla synteesisprosessia ja reaktio-olosuhteita. Esimerkiksi kemiallinen saostus, sol-geel -menetelmä ja fysikaaliset höyrystysmenetelmät mahdollistavat tarkasti määriteltujen nanorakenteiden tuottamisen. Korkea reaktiivisuus ja mahdolliset vaikutukset biologisessa ympäristössä edellyttävät kuitenkin huolellista turvallisuusarviointia, minkä takia toksisuuden tutkiminen on keskeistä vastuullisten nanomateriaalien kehittämisen kannalta.

### 2.2 Nanomateriaalien käyttökohteet

Nanoteknologia on ala, jossa tutkitaan ja kehitetään atomi- ja molekyyllitason ilmiöiden avulla rakenteita, joiden ominaisuudet materiaalin makroskooppisessa muodossa eivät ole mahdollisia

[4]. Nanomateriaaleja hyödynnetään laajasti eri aloilla niiden ainutlaatuisten fysikaalisten, kemiallisten, optisten ja sähköisten ominaisuuksien vuoksi. Niiden sovellukset kattavat esimerkiksi elektroniikan, lääketieteen, ympäristötekniikan, energian tuotannon, elintarviketeollisuuden sekä rakentamisen. [3]

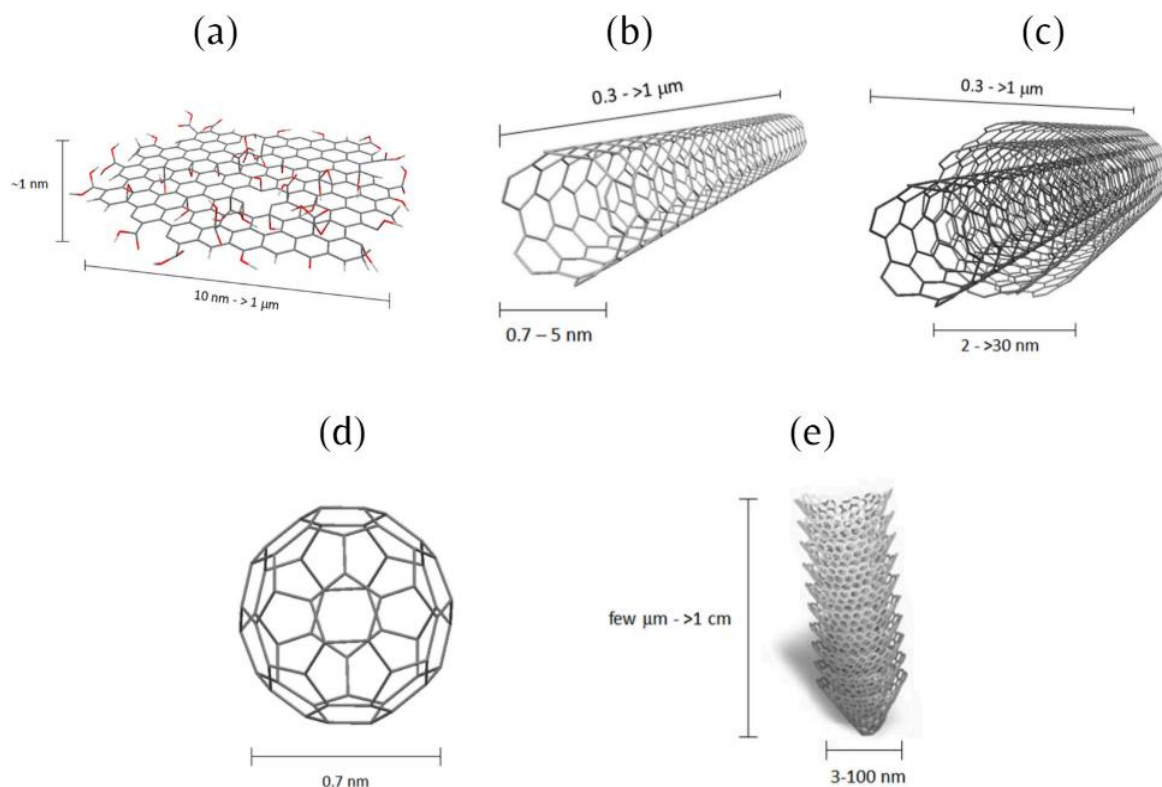
Elektroniikassa nanomateriaaleja voidaan hyödyntää puolijohteissa, transistoreissa ja muistikomponenteissa. Esimerkiksi hiilinanoputket ja nanolangat mahdollistavat entistä pienempien ja tehokkaampien mikropiirien valmistuksen. Nanomateriaalit parantavat litiumioniakkujen ja superkondensaattorien suorituskykyä, mikä mahdollistaa nopeamman latauksen ja pidemmän käyttöajan [3]. Lisäksi nanomateriaaleja voidaan hyödyntää korkean resoluution näyttötekniikassa, kuten edullisissa litteissä näyttöissä sekä suorituskykyisissä magneeteissa ja sensoreissa [4].

Energia- ja ympäristöalalla nanomateriaalit parantavat akkujen ja paristojen energiatiheyttä, mikä mahdollistaa pidemmän käyttöajan ja nopeamman latauksen [4]. Tämän lisäksi nanomateriaalit ovat keskeisiä aurinko- ja polttokennojen kehityksessä. Rakennusalaalla nanomateriaalit tarjoavat kevyitä, kestäviä ja energiatehokkaita ratkaisuja muun muassa parantamalla rakenteiden mekaanisia ominaisuuksia. [3,4]

Lääketieteessä nanotekniikkaa voidaan hyödyntää valmistettaessa lääkkeitä sekä lääkekannettavia laitteita, kuten sensoreita. Niiden avulla voidaan edesauttaa sairauksien varhaista diagnosointia sekä hoitoa [1]. Lisäksi nanomateriaaleja hyödynnetään diagnostiikassa, lääkeainekuljetuksessa ja kudostekniikassa. Nanomateriaaleja voidaan hyödyntää pitkäkestoisissa lääketieteellisissä implanteissa, jotka kestävät paremmin kulutusta ja biologista hylkimistä. Näiden lisäksi antibakteeriset nanopinnoitteet auttavat infektioiden torjunnassa ja itsestään puhdistuvat materiaalit edesauttavat sairaalaympäristön puhdistusta. [4]

### **2.3 Hiilinanomateriaalit**

Hiilinanomateriaalit ovat hiilipohjaisia materiaaleja, jotka täyttävät nanomateriaalien kokokriteerit. Niitä voidaan luokitella muun muassa muodon, rakenteen ja fysikaalisten ominaisuuksien perusteella [5]. Tyypillisimpiä hiilinanomateriaaleja ovat grafeenit, yksi- ja moniseinäiset hiilinanoputket, fullereenit sekä hiilinanokuidut (Kuva 1) [3]. Muiden nanomateriaalien tapaan hiilinanomateriaaleja voidaan hyödyntää useissa sovelluksissa, jotka vaativat tietynlaisia ominaisuuksia [5]. Tässä osiossa esitellään tyypillisimpien hiilinanomateriaalien geometrinen rakenne sekä tyypilliset ominaisuudet ja käyttökohteet.



Kuva 1. Rakennekuva hiilinanomateriaaleista (a) grafeeni (b) yksiseinäinen hiilinanoputki (c) moniseinäinen hiilinanoputki (d) fullereeni ja (e) hiilinanokuitu. Lähde: Baldrighi, Trusel, Tonini & Giordani (2016). Julkaistu Creative Commons Attribution (CC BY) -lisenssillä. [6]

Grafeeni on levymäinen hiilikerros, joka koostuu yhdestä kerroksesta  $sp^2$ -hybridisoituneista kuusikulmaisista hiiliatomeista. Atomit muodostavat tasomaisen pinnan, jonka paksuus on noin 1 nm [6]. Grafeenilla on erittäin hyvä lämmönjohtavuus, erinomainen läpinäkyvyys, hyvä sähköjohtavuus sekä suuri kemiallinen ja mekaaninen lujuus. Fyysisten ja kemiallisten ominaisuuksien lisäksi grafeeni on tunnettu maailmankaikkeuden kestävimpänä ja ohuimpana materiaalina. [2]

Grafeenista voidaan valmistaa johdannaisia, kuten grafeenioksidia (GO) sekä pelkistettyä grafeenioksidia (RGO), joita voidaan muokata ja hyödyntää erilaisissa käyttötarkoituksissa. Grafeenioksidia voidaan syntetisoida kustannustehokkaasti grafiittijauheesta ja siitä voidaan jatkokäsittelyllä valmistaa edelleen grafeenioksidia [2]. Grafeenia ja sen johdannaisia hyödynnetään esimerkiksi biosensoreissa sekä lääkeaineiden kuljettamisessa soluihin ja kudoksiin [7].

Hiilinanoputket koostuvat yksittäisestä tai useammasta grafeenilevystä, jotka ovat rullautuneet sylinterimäiseksi rakenteeksi. Yksiseinäisessä hiilinanoputkessa (*engl.* single-walled carbon

nanotube, SWCNT) grafeenikerroksia on vain yksi, kun taas moniseinäisessä (*engl.* multi-walled carbon nanotube, MWCNT) nanoputkessa kerroksia on useita. Grafeenilevyt ovat rullautuneet pitkiksi, ontoiksi putkiksi, joiden välillä vaikuttavat Van der Waalsin voimat [2,5]. Nanoputket voivat kiertyä kolmella eri konfiguraatiolla (chiral, armchair, zigzag), jotka eroavat toisistaan grafeenilevyn kiertymisen kulman perusteella. Rakenteiden erot vaikuttavat hiilinanoputkien sähköisiin ominaisuuksiin. [8]

Hiilinanoputkien halkaisija voi vaihdella 0,4 nm:stä 5 nm:iin (SWCNT) ja 2nm:stä jopa yli 30 nm:iin (MWCNT) [6]. Hiilinanoputkien pituus puolestaan voi ulottua nanometreistä jopa senttimetreihin [9]. Grafeenilevyn erinomaisen mekaanisen lujuuden ja sähkönjohtavuuden ansiosta myös hiilinanoputket ovat poikkeuksellinen vahvoja sekä tehokkaita sähkön- ja lämmönjohtimia [5]. Hiilinanoputkia voidaan hyödyntää grafeenin tavoin biosensoreissa, lääkkeiden kuljetuksessa sekä kudostekniikassa esimerkiksi keinotekoisien kudosten ja implanttien tukirakenteina [7].

Fullereenit koostuvat hiiliatomeista, jotka ovat asettuneet pallomaiseen muotoon. Rakenteessa atomit ovat järjestäytyneet viisi- ja kuusisivuisiksi renkaiksi, jotka yhdessä muodostavat onton pallomaisen suljetun rakenteen. Fullereenit ovat rakenteeltaan kevyitä, symmetrisiä ja stabiileja. Niillä on ainutlaatuisia kemiallisia ja sähköisiä ominaisuuksia, kuten voimakas antioksidanttinen kyky, mikä estää hapettumista ja happiradikaalien syntymistä. Vaikka fullereenit ovat luonnostaan liukenemattomia, niiden pintaa voidaan muokata vesiliukoiseksi, mikä laajentaa niiden sovellusmahdollisuuksia esimerkiksi dermatologisiin ja lääketieteellisiin tarkoituksiin. Lääketieteessä fullereeneja käytetään lääkeainekuljetuksessa ja kohdennetussa lääkehoidossa, kuten syövän hoidossa. Lisäksi niitä voidaan hyödyntää antibakteerisina ja antioksidanttisina aineina. [7]

Hiilinanokuidut (*engl.* carbon nanofiber, CNF) ovat nanomittakaavan kuitumaisia rakenteita, jotka koostuvat järjestäytyneistä grafeenikerroksista [7]. Niiden halkaisija voi vaihdella 3-100 nm välillä ja pituus ylittää jopa yhden senttimetrin [6]. Hiilinanokuidujen rakenne muistuttaa nanoputkien rakennetta, mutta grafeenilevyt eivät ole kääriytyneenä täydelliseksi sylinteriksi. Levyt ovat kääriytyneet satunnaiseen järjestykseen, päällekkäin asettuneiksi ”kupeiksi” (Kuva 1). Tämän seurauksena hiilinanokuidujen ulkopinnoilla on enemmän reuna-alueita, jotka lisäävät materiaalin reaktiivisuutta. Ominaisuuksiltaan hiilinanokuidut ovat lujia sekä kestäviä ja niillä on erinomainen lämmön- ja sähkönjohtavuuskyky. Käyttökohteita hiilinanokuiduille ovat esimerkiksi syövän hoito, kudostekniikka ja lääketieteelliset implantit. [7]

### 3 Hiilinanomateriaalien toksisuus

#### 3.1 Toksisuuden määritelmä ja terveysvaikutukset

Hiilinanomateriaaleja käytetään laajasti eri aloilla, joten on tärkeää tunnistaa niiden aiheuttamat riskit, jotta turvallisten sovelluksien kehittäminen on mahdollista. Toksisuus määritellään biologisena haittavaikutuksena, joka johtuu kehon altistumisesta vierasaineelle. Nanohiukkasten toksisuuteen vaikuttavia tekijöitä ovat muun muassa fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet, kuten materiaalin koostumus, koko, pintakemia ja muoto [10]. Tämän lisäksi toksisuuteen vaikuttavat materiaalin annoskoko, liukenevuus, kulkeutuvuus sekä taipumus muodostaa kertymiä eli aggregaatteja [9].

Pienen koon, suuren pinta-alan sekä reaktiivisuuden vuoksi hiilinanomateriaalit saattavat aiheuttaa toksisuutta ollessaan vuorovaikutuksessa biologisten järjestelmien kanssa [5]. Pieni koko mahdollistaa nanopartikkelien kulkeutumisen ihmiskehoon esimerkiksi hengitysteiden, ruoansulatuskanavan, ihon tai limakalvon kautta [10]. Nanomateriaalien kulkeutuminen elimistöön voi johtaa niiden kertymiseen esimerkiksi keuhkoihin tai sydän- ja verisuonijärjestelmiin sekä muihin elimiin, joissa ne voivat aiheuttaa haittavaikutuksia, kuten soluvaurioita, oksidatiivista stressiä ja tulehdustiloja. [5,10]

##### 3.1.1 Soluvauriot

Yksi keskeisistä hiilinanomateriaalien toksisuuden mekanismeista on soluvauriot. Solutasolla suora vuorovaikutus nanopartikkelin ja solujen välillä voi aiheuttaa fyysisiä vaurioita solukalvon rakenteeseen tai heikentää solujen elinkykyä [5,10]. Hiilinanomateriaalien on havaittu aiheuttavan DNA-vaurioita, lysosomaalisia vaurioita, mitokondrioiden toimintahäiriöitä ja solukuolemia joko apoptoosin (ohjelmoitu solukuolema) tai nekroosin (hallitsematon solukuolema) kautta [5].

Soluvauriot voivat ilmetä joko sytotoksisuutena tai genotoksisuutena. Sytotoksisuudella tarkoitetaan aineen kykyä vahingoittaa soluja tai aiheuttaa niiden kuoleman. Hiilinanomateriaalien sytotoksisuus voi ilmetä solukalvon läpäisevyyden muutoksina tai mitokondrioiden ja solusyklin toimintahäiriöinä [5]. Genotoksisuus puolestaan viittaa aineen kykyyn vahingoittaa DNA:ta ja aiheuttaa mutaatioita, jotka voivat lisätä syöpäriskiä.

### 3.1.2 Oksidatiivinen stressi

Oksidatiivinen stressi eli elimistön happamuustila syntyy, kun elimistön antioksidanttijärjestelmä ei kykene neutralisoimaan lisääntyneiden happiradikaalien (ROS) määrää. Elimistöön kulkeutuvat nanopartikkelit lisäävät ROS-tuotantoa, mikä on merkittävä tekijä nanomateriaalien altistumisen haittavaikutuksista [11]. ROS-kertyminen vahingoittaa soluja, mikä voi johtaa DNA-vaurioihin ja edistää sairauksien syntymistä, kuten syöpiä ja neurodegeneratiivisia häiriöitä eli parantumattomia ja invalidisoivia sairauksia [1]. Oksidatiivinen stressi voi aiheuttaa tulehdustiloja ja pahimmillaan seurauksena voi olla apoptoosi-tasapainon järkkäminen [11].

### 3.1.3 Tulehdukset

Hiilinanomateriaalit voivat indusoida tulehdusreaktioita aktivoimalla immuunijärjestelmää. Buezan ym. (2007) tutkimuksen mukaan hiilinanomateriaaleista ainakin fullerenit ja hiilinanoputket ovat aiheuttaneet tulehduksia jouduttuaan elimistöön ja soluihin [9]. Ne voivat esimerkiksi stimuloida makrofageja eli immuunijärjestelmän syöjä soluja tuottamaan sytokiineja eli signaalimolekyylejä, mikä johtaa tulehduksen syntymiseen kudoksessa [5]. Hiilinanomateriaalien aiheuttama tulehdusmekanismi liittyy usein niiden kykyyn lisätä oksidatiivista stressiä, mikä aktivoi tulehdusreittejä solutasolla.

## 3.2 Toksisuuden tutkiminen

Hiilinanomateriaalien toksisuutta voidaan tutkia sekä solutason kokeilla (*in vitro*) että eläinkokeilla (*in vivo*), joiden avulla voidaan arvioida materiaalin vaikutuksia elimistössä [5]. Tutkimusmenetelmän valinta riippuu tutkimuskohteesta sekä tavoitteesta. Eri menetelmät tarjoavat tietoa eri tasoilla ja niiden yhdistäminen täydentää toisiaan. Hiilinanomateriaalien toksisuuden tutkimuksessa korostuu erityisesti niiden mahdolliset vaikutukset solujen elinvoimaisuuteen, tulehdusreaktioihin ja DNA-vaurioihin, mikä edellyttää laajaa menetelmien käyttöä. Yhdistämällä useita tutkimusmenetelmiä voidaan saada kokonaisvaltaisempi käsitys eri toksisuusmekanismeista.

Erytisesti lääketieteellisiin sovelluksiin suunniteltuja nanomateriaaleja tulee arvioida niiden sytotoksisuuden ja bioyhteensopivuuden osalta. ISO-standardin (ISO/TR 10993-22:2017, osa 22) mukaan nanomateriaalien toksisuutta ja bioturvallisuutta on testattava esimerkiksi syto-, geno- ja immunotoksisuuden sekä systeemisen toksisuuden osalta. Testit ovat välttämättömiä,

jotta voidaan varmistaa sekä potilaiden, että nanomateriaalien valmistuksessa työskentelevien turvallisuus. [12]

### 3.2.1 *In vitro* -tutkimukset

*In vitro* -tutkimukset viittaavat kokeisiin, jotka suoritetaan laboratoriossa, kontrolloiduissa olosuhteissa, joissa soluja ja molekyyliä tutkitaan erillään elävästä organismista. *In vitro* -tutkimukset ovat tärkeä tutkimuskohde, koska toksisuustestit ovat nopeita, toistettavia ja helposti valvottavia koeolosuhteiden johdonmukaisuuden ansioista. Ne toimivat kustannustehokkaina, alkuvaiheen tutkimuksena ja ne voivat täydentää *in vivo* -tutkimusta antamalla tietoa hiilinanomateriaalien biologisesta käyttäytymisestä solutasolla [13]. *In vitro* -tutkimukset eivät kuitenkaan täysin jäljittele monimutkaista biologista ympäristöä, mikä voi rajoittaa tulosten yleistettävyyttä. *In vitro* -tutkimuksissa käytettäviä mahdollisia menetelmiä on taulukoitu alla taulukossa 1 [10].

Taulukko 1. Toksisuustutkimuksissa hyödynnettäviä *in vitro* -menetelmiä [10].

Toksisuustesti	Menetelmä
Soluelinkykyanalyysi	LDH-, MTT- ja MTS-määritykset
Oksidatiivisen stressin arviointi	ROS-tuotanto, DCFH-määritys
Nekroosin arviointi	Virtaussytometria
Apoptoosin arviointi	MTT-määritys, WST-määritys, virtaussytometria
DNA-vauriot	Comet-seulontamenetelmä,
Sytokiinien tuotanto	ELISA-menetelmä

### 3.2.2 *In vivo* -tutkimukset

*In vivo* -tutkimukset ovat hyödyllisiä arvioitaessa hiilinanomateriaalien turvallisuutta ja tehokkuutta oikeissa biologisissa olosuhteissa. *In vivo* -tutkimus suoritetaan elävässä organismissa, kuten koe-eläimissä, jotta voidaan arvioida biologisten järjestelmien vastetta

tutkittavaan aineeseen. Eläinkokeita voidaan suorittaa altistamalla koe-eläin tutkittavalle materiaalille esimerkiksi hengitysteiden kautta [14]. Tutkimuksissa voidaan arvioida esimerkiksi nanopartikkelien kertymistä eri elimiin, kuten maksaan, pernaan tai aivoihin sekä tutkia mahdollisia immuunivasteita. *In vivo* -tutkimuksen mahdollisia tutkimusmenetelmiä on listattu alla taulukossa 2. Vaikka eläinkokeet tarjoavat tärkeää tietoa, niiden ennustettavuus ihmiskehon vaikutuksiin on rajallinen. [10]

Taulukko 2. Toksisuustutkimuksissa hyödynnettäviä *in vivo* -menetelmiä [10].

<b>Toksisuustesti</b>	<b>Menetelmä</b>
Ihotestit	Allergiset reaktiot, ihon läpäisevyys
Biokemia	Kudoksia vaurioittavien entsyymien arviointi (ALP, LDH, ALAT)
Hematologia	Hemoglobiinipitoisuus, punasolujen ja valkosolujen määrä
Eloonjäämistutkimukset	Kaplan-Meier analyysi, LC50, LD50
Farmakokinetiikka, farmakodynamiikka	Kuvantaminen (MRI, PET, SPECT, CT, ICP-MS, fluoresenssi)
Histopatologia	Hematoksyliini-eosiinivärjäys, immunohistokemia

## 4 Hiilinanomateriaalien geometrian vaikutus toksisuuteen

Hiilinanomateriaalien geometria (muoto, koko ja rakenne) vaikuttaa merkittävästi niiden toksisuuteen. Materiaalin geometria vaikuttaa muun muassa siihen, kuinka tehokkaasti se pääsee tunkeutumaan soluun sekä, miten laajalle se leviää elimistössä. Tämä osio esittelee, miten yleisimpien hiilinanomateriaalien (grafeenit, hiilinanoputket, fullereenit ja hiilinanokuidut) geometrioiden vaikutusta toksisuuteen on tutkittu. Osiossa tarkastellaan erilaisia tutkimuksia sekä niissä toteutettuja tutkimusmenetelmiä ja saatuja tuloksia.

### 4.1 Grafeenit

Grafeenia ja sen johdannaisia on tutkittu sekä *in vivo*- että *in vitro* -malleilla. Oun ym. (2016) tutkimuksessa grafeenia annosteltiin koe-eläimiin hengitysteiden ja suun kautta, laskimonsisäisesti sekä vatsaonteloon injektoimalla [15]. Tutkimuksessa analysoitiin grafeeninäytteiden jakautumista ja kertymistä elimiin, kuten keuhkoihin, maksaan ja pernaan. Grafeenipartikkelien koon vaihtelulla todettiin olevan merkitystä materiaalin toksisuuteen. Pienikokoiset grafeenihiutaleet (<100 nm) tunkeutuvat soluihin tehokkaammin verrattuna suurempaan partikkelikokoon. Alle 40 nm:n kokoiset grafeenihiutaleet voivat päätyä jopa solun tumaan ja vaikuttaa DNA:han, mikä lisää genotoksisuuden riskiä. Suuremmat grafeenihiutaleet (>100 nm) voivat aiheuttaa solukalvovaurioita ja oksidatiivista stressiä. Suuremmilla partikkeleilla on myös taipumus muodostaa aggregaatteja, mikä saattaa vähentää toksisuutta, sillä materiaali ei pääse tunkeutumaan soluihin yhtä helposti. [15]

Grafeenin pintaominaisuudet vaikuttavat vuorovaikutukseen solukalvojen ja proteiinien kanssa. Puhtaalla grafeenilla on hydrofobisia ominaisuuksia. Grafeenioksidi on osittain hydrofobinen ja pelkistetty grafeeni näiden välimuoto. Tämän takia grafeenioksidi voi liueta helpommin ja levitä laajemmalle, mikä voi lisätä kudolvaurioita [15]. Pelkistetty grafeenioksidi puolestaan voi kerääntyä solujen pinnalle ilman tehokasta soluun pääsyä, mikä pienentää toksisuusriskiä [15]. Garriga ym. (2020) tutkivat grafeenioksidin (GO) sekä pelkistetyn grafeenioksidin (rGO) toksisuutta keskittyen nanomateriaalien mahdolliseen käyttöön syöpähoidossa [13]. Tutkimuksessa käytettiin ihmisen epiteelin kolorektaalisen adenokarsinooman (Caco-2) soluja sekä rinnan adenokarsinooman (MCF-7) soluja. Tulokset osoittivat, että pelkistetty grafeenioksidi aiheutti suurempaa toksisuutta verrattuna grafeenioksidin molemmissa solulinjoissa. Tutkimuksessa todettiin, että grafeenioksidi ei aiheuttanut merkittävää ROS-tuotantoa tai solukuolemaa, koska se on hydrofiilinen [13].

Muodoltaan grafeenin levymäinen rakenne mahdollistaa laajan kosketuspinnan solujen kanssa, mikä voi lisätä oksidatiivista stressiä. Levyjen terävät reunat voivat aiheuttaa solukalvoille fyysistä vahinkoa, mikä voi johtaa tulehdusreaktioihin ja solukuolemaan [15].

## 4.2 Hiilinanoputket

Yksiseinäisten hiilinanoputkien keuhkotoksisuutta on tutkittu rotilla annostelemalla nanoputkia hengitysteitse ja tutkimalla niiden vaikutusta eri ajankohtina altistuksen jälkeen. Fujitan ym. (2015) tutkimuksessa hyödynnettiin keuhkojen nestenäytteiden (BALF) analyysia, histopatologista tutkimusta sekä geeniekspressioanalyysiä toksisuuden tutkimiseksi [14]. Nestenäytteestä mitattiin proteiinitasot, tulehdusmerkkiaineiden, kuten MIP-1 $\alpha$  ilmentyminen sekä arvioitiin neutrofiilien, makrofagien, lymfosyyttien ja eosinofiilien määrät BALF-nesteestä. Tutkimuksessa havaittiin nanoputkien pituuden vaikuttavan toksisuuteen. Pitkien ja paksujen hiilinanoputkien todettiin aiheuttavan akuuttia keuhkotukosta, joka kuitenkin väheni nopeasti [14]. Lisäksi pidemmät hiilinanoputket eivät poistu elimistöstä yhtä tehokkaasti kuin lyhyet, mikä lisää pitkäaikaisten haittavaikutusten riskiä [9]. Pitkien ja ohuiden nanoputkien on havaittu muistuttavan asbestikuituja, mikä lisää tulehdusriskiä sekä pitkäaikaista toksisuutta [6].

Toisaalta on todettu, että hiilinanoputkien pituus korreloituu negatiivisesti useimpien toksisuusindikaattorien kanssa. Tämä tarkoittaa, että pidemmät hiilinanoputket aiheuttavat vähemmän soluvaurioita ja tulehdusreaktioita kuin lyhyet [16]. Lyhyemmät hiilinanoputket leviävät kudoksissa helpommin, mikä voi vähentää kroonista tulehdusta, mutta samalla lisää akuutteja soluvaurioita [6]. Lyhyiden ja ohuiden hiilinanoputkien on havaittu aiheuttavan viivästyneen, mutta pitkäkestoisen tulehdusreaktion keuhkoissa [14]. Hiilinanoputkien halkaisijan on todettu olevan positiivisesti yhteydessä toksisuuteen. Halkaisijaltaan paksumpien hiilinanoputkien on todettu olevan haitallisempia kuin ohuiden, mutta toipuminen tapahtuu nopeammin kuin ohuempien nanoputkien aiheuttamasta pitkäaikaisesta tulehduksesta [16].

Koon lisäksi hiilinanoputkien jäykkyyden on todettu vaikuttavan toksisuuteen. Sundin ym. (2013) suorittamassa tutkimuksessa vertailtiin pitkien ja jäykkien sekä pitkien lankakerämaisten nanoputkien vaikutusta [17]. Jäykät ja pitkät hiilinanoputket aiheuttivat asbestin kaltaisia vaikutuksia, mikä viittaa korkeaan toksisuuteen. Hiirikokeissa jäykät

nanoputket aiheuttivat astman kaltaisen tulehdustilan. Lankakerämäiset ja pitkät hiilinanoputket eivät aiheuttaneet vastaavia haittavaikutuksia. [17]

Eroja yksi- ja moniseinäisten hiilinanoputkien toksisuuden välillä tutkittiin Jian ym. (2005) suorittamassa tutkimuksessa, jossa vertailtiin näytteen pitoisuuksien vaikutusta marsujen keuhkorakkuloissa [18]. Tutkimuksen mukaan yksiseinäiset hiilinanoputket osoittivat huomattavasti suurempaa toksisuutta jo pienillä pitoisuuksilla kuin moniseinäiset hiilinanoputket. Yksiseinäiset hiilinanoputket muodostivat tiiviitä kimppuja, jotka vaikeuttivat fagosytoosia eli solusyöntiä jo pienillä pitoisuuksilla ( $0,38 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ ). Moniseinäiset hiilinanoputket muodostivat löysempiä aggregaatteja ja vaativat huomattavasti suuremman pitoisuuden ( $3,6 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ ) samankaltaisten vaurioiden saavuttamiseksi. Eroa voidaan selittää yksiseinäisten hiilinanoputkien pienemmällä koolla ja suurella pinta-alalla suhteessa massaansa, mikä mahdollistaa materiaalin tunkeutumisen soluun ja voimakkaamman reaktion solujen kanssa. [18]

### 4.3 Fullereenit

Fullereeneja on tutkittu *in vivo* -mallilla Malhotran ym. (2021) tekemässä tutkimuksessa, jossa toksista vaikutusta arvioitiin vesieliöiden kasvun, lisääntymisen ja käyttäytymisen muutoksen perusteella [19]. Tutkimuksessa käytettiin menetelminä morfologisia havaintoja, biokemiallisia analyysejä, geenien ja proteiinien ilmentymisen muutoksia sekä agglomeraatioanalyysejä. Tutkimuksen pohjalta on havaittu, että fullereenien toksisuus vaihtelee niiden koosta ja muodosta riippuen. [19]

Pienikokoiset fullereenipartikkelit ovat alttiimpia tunkeutumaan syvälle soluun, mikä voi lisätä mahdollisuutta solujen sisäiseen stressiin ja DNA-vaurioihin. Suurempi partikkelikoko ja pallomainen rakenne voivat edistää agglomeraatioiden muodostumista, jolloin materiaali ei pääse tunkeutumaan solurakenteeseen yhtä helposti. Agglomeraatiossa hiukkaset liittyvät toisiinsa löyhemmin kuin aggregaatiossa. Agglomeraatioiden on havaittu aiheuttavan tukoksia sekä liikkumattomuutta ja kuolleisuutta pitkällä aikavälillä. [19]

Jian ym. (2005) tutkimuksessa vertailtiin fullereeneja hiilinanoputkien toksisuuteen [18]. Tutkimuksen mukaan pallomainen rakenne mahdollistaa materiaalin liikkumisen ja jakautumisen tasaisemmin solujen joukossa ilman, että se aiheuttaa tukkeumia. Lisäksi fullereenien ei havaittu aiheuttavan merkittävää sytotoksisuutta keuhkorakkuloille edes suurilla pitoisuuksilla ( $1,41\text{--}226,00 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ ). [18]

Jian ym. (2005) tutkimus vahvisti fullereenien alhaista toksisuutta verrattuna muihin hiilipohjaisiin nanomateriaaleihin [18]. Tutkimuksen perusteella voidaan olettaa, että fullereenien kompakti, pallomainen muoto ei häiritse solujen toimintaa samalla tavoin kuin pitkät, kuitumaiset muodot. Lisäksi elektronimikroskopian perusteella fullereenin ei havaittu aiheuttavan merkittäviä rakenteellisia muutoksia soluissa, mikä viittaa hyvään rakenteelliseen yhteensopivuuteen biologisten rakenteiden kanssa. [18]

#### 4.4 Hiilinanokuidut

Kalman ym. (2019) suorittivat tutkimuksen, jossa hiilinanokuitujen (CNF) ja grafeenioksidin (GO) toksisuutta ja solunsisäistä käyttäytymistä arvioitiin kalojen solulinjoissa [20]. Tutkimuksessa selvitettiin, miten materiaalien geometriset ominaisuudet, kuten pituus ja rakenne, vaikuttavat solujen vasteeseen ja elinkykyyn. Altistukset toteutettiin *in vitro* -menetelmin kahdelle erilaiselle kalaperäiselle solulinjalle: PLHC-1 (maksasolulinja) ja CLC (makrofagityyppinen solulinja) eri pitoisuuksilla 24 ja 72 tunnin ajan. Toksisuutta ja solujen elinkelpoisuutta arvioitiin testaamalla mitokondrioiden aktiivisuutta, plasmamembraanin eheyttä sekä lysosomaalista toimintaa. Tutkimuksessa havaittiin, että geometrialla, erityisesti pituudella ja muodolla oli keskeinen merkitys toksisuuden voimakkuuteen. [20]

Kalmanin ym. (2019) tutkimuksen tuloksien pohjalta hiilinanokuidut osoittivat korkeampaa toksisuutta kuin grafeenioksidi molemmilla solulinjoilla [20]. Yksi keskeinen havainto oli, että pidemmät hiilinanokuidut aiheuttivat voimakkaampaa toksisuutta verrattuna lyhyempiin kuituihin. Pidemmät nanokuidut esiintyivät vapaasti sytosplasmassa, mikä lisäsi niiden mahdollisuutta häiritä solun normaaleja elintoimintoja. Lyhyemmät hiilinanokuidut puolestaan sijoittuivat solukalvon ympäröimiin vesikkeleihin eli solujen sisään, mikä rajoitti niiden toksista vaikutusta. [20]

Lisäksi tutkimus toi esiin, että hiilinanokuitujen sisäinen rakenne vaikuttaa toksisuuteen. Vertailussa käytettiin kolmea erityyppistä CNF-materiaalia, joiden grafitisoitumisaste vaihteli 60–90 %. Suurempi grafitisoitumisaste vähensi toksisuutta kalojen solulinjoissa [20]. Tämä viittaa siihen, että kuitujen sisäinen järjestyneisyys ja pintarakenteen tasaisuus voivat vähentää solujen stressireaktioita.

## 5 Bioyhteensopivuus

Bioyhteensopivuudella tarkoitetaan materiaalin kykyä toimia vuorovaikutuksessa biologisten järjestelmien kanssa ilman haitallisia reaktioita. Bioyhteensopivuutta voidaan tarkastella arvioimalla materiaalin soveltuvuutta esimerkiksi lääkinnällisessä käytössä ja kosketuksessa biologisen järjestelmän kanssa. Hiilinanomateriaalien bioyhteensopivuutta tulee arvioida turvallisuuden varmistamiseksi, sillä niiden käyttö keskittyy erityisesti lääketieteellisiin sovelluksiin. Tässä osiossa tarkastellaan tekijöitä, jotka edesauttavat hiilinanomateriaalien bioyhteensopivuutta ja sitä, miten geometriaa voidaan hyödyntää sen parantamiseksi.

Hiilimateriaalien bioyhteensopivuuteen voidaan vaikuttaa keinoilla, jotka liittyvät niiden pinnan ja rakenteen muokkaukseen. Yksi keskeisimmistä menetelmistä hiilinanomateriaalien bioyhteensopivuuden parantamiseksi on pintafunktionalisointi [7]. Pinnan muokkaaminen eli funktionalisointi on menetelmä, jonka avulla materiaalin pintarakennetta voidaan muokata kemiallisesti [15]. Pintafunktionalisoinnin avulla voidaan esimerkiksi lisätä materiaalin vesiliukoisuutta tai vähentää aggregoitumista [7].

Ou ym. (2016) esittävät artikkelissaan tapoja, joiden avulla voidaan muokata grafeenin pintaa samalla parantaen sen bioyhteensopivuutta [15]. Muokkaamalla pinnan ominaisuuksia funktionaalisten ryhmien, kuten PEG:n (polyetyleeniglykoli) ja PAA:n (polyakryylihappo) avulla, voidaan parantaa grafeenin vesiliukoisuutta. Tämä vähentää materiaalin aggregoitumista sekä heikentää grafeenin sitoutumista solukalvoihin, mikä vähentää sen toksisia vaikutuksia [15]. Garrigan ym. (2020) tutkimuksessa grafeenioksidi osoittautui turvallisemmaksi ja bioyhteensopivammaksi kuin pelkistetty grafeenioksidi, koska sen pinta oli hydrofiilinen [13]. Pintakemian erolla voi olla merkittävä vaikutus valittaessa materiaalia lääkeaineiden kuljetukseen.

Myös materiaalin pituudella ja tiheydellä on havaittu olevan merkitystä bioyhteensopivuuden kannalta. Rantataro ym. (2022) suorittivat tutkimuksen, jossa tutkittiin pystysuoria hiilinanokuituja ja niiden bioyhteensopivuutta hermokudossovelluksia varten. Tutkimuksesta saatujen tulosten perusteella hiilinanokuitujen bioyhteensopivuutta voidaan säädellä muokkaamalla kuidun pituutta sekä tiheyttä [21]. Tutkimuksessa havaittiin, että lyhyet kuidut ja tiheä sijoittelu tukivat mekaanista yhteensopivuutta, kun taas pitkät ja harvaan asetetut kuidut estivät solujen normaalin kiinnittymisen ja leviämisen. Tämän perusteella bioyhteensopivuutta

voidaan parantaa lyhentämällä kuitumaisten nanomateriaalien, kuten hiilinanoputkien sekä -kuitujen pituutta.

Vaikka hiilinanomateriaalien koko vaikuttaa toksisuuteen, pelkkä partikkelikoko ei yksin selitä eroja materiaalien toksisuuden välillä [22]. Grabinski ym. (2007) tutkivat eri kokoisten hiilinanomateriaalien (CNF 100nm, MWCNT 10nm, SWCNT 1nm) vaikutuksia ihosolujen elinkykyyn [22]. Tutkimuksessa todettiin, että nanomateriaalin koko vaikuttaa toksisuuteen, mutta tietyn kokorajan alittavan (n. 100nm) materiaalin muut tekijät, kuten epäpuhtaudet vaikuttavat toksisuuteen enemmän. Esimerkiksi MWCNT -näyte sisälsi enemmän liukoista rautaa kuin SWCNT-näyte, minkä todettiin lisäävän reaktiivisten happilajien (ROS) muodostumista ja johti solujen elinkyvyn heikkenemiseen. Tämä viittaa siihen, että koon ja pinnan muokkauksen lisäksi, myös epäpuhtauksien vähentäminen on suuressa roolissa bioyhteesopivuuden parantamisessa. [22]

Kuten aiemmin tässä työssä on mainittu, grafeenilevyjen muodosta johtuvat terävät kulmat voivat aiheuttaa fyysistä vahinkoa solukalvoille. Tämä viittaa siihen, että suosimalla sylinterimäisiä rakenteita, kuten nanoputkia tai fullereeneja, voidaan välttää rakenteen aiheuttama mahdollinen fyysinen haitta.

Yhteenvedona voidaan todeta, että tiettyyn kokoon asti bioyhteesopivuutta voidaan hallita muokkaamalla partikkelikokoa, mutta geometrian lisäksi materiaalin pintaominaisuudet sekä epäpuhtaudet vaikuttavat bioyhteesopivuuteen. Lisäksi tulee huomioida altistusaika sekä mahdolliset pitkäaikaiset vaikutukset, jotka eivät välttämättä tule esiin tutkimuksissa.

## 6 Pohdinta

Hiilinanomateriaalien yleistynyt käyttö erityisesti lääketieteellisissä sovelluksissa tarjoaa useita mahdollisuuksia, mutta myös turvallisuusriskejä niin käyttäjälle kuin valmistajalle. Tästä syystä niiden toksisia vaikutuksia ja bioyhteensopivuutta on syytä tarkastella kriittisesti.

Kuten tässä työssä tarkastelluissa tutkimuksissa osoitettiin, on hiilinanopartikkelien koolla vaikutusta toksisuuteen. Pienemmät hiilinanomateriaalit, kuten yksiseinäiset hiilinanoputket voivat tunkeutua solukalvon läpi ja vaikuttaa suoraan solun sisäisiin rakenteisiin, mikä voi lisätä niiden toksisia vaikutuksia. Puolestaan suuremmat partikkelit, kuten moniseinäiset hiilinanoputket tai hiilinanokuidut, eivät yleensä pääse solun sisään yhtä tehokkaasti. Suuremmilla hiilinanopartikkeleilla on taipumus muodostaa aggregaatteja, jotka voivat mekaanisesti ärsyttää soluja tai estää solujen normaalin toiminnan, kuten kiinnittymisen ja liikkumisen. Näin ollen ei yksiselitteisesti voida määrittää, kumpi hiilinanopartikkelien kokoluokka on toksisempi tai yhteensopivampi biologisten järjestelmien kanssa. Kyseisiä materiaaleja käyttäessä tulee arvioida niiden käyttötarkoitus ja siitä aiheutuvat hyödyt suhteessa haittoihin. Esimerkiksi syöpähoidoissa lääkeaineiden kuljetuksessa on tärkeä saada kohdistettua vuorovaikutus suoraan solun, mistä aiheutuvia hyötyjä voidaan pitää merkittävämpinä kuin toksisuudesta aiheutuvia haittoja.

Tämän lisäksi osassa tutkimuksista oli havaittavissa ristiriitaisia havaintoja. Esimerkiksi osa tutkimuksista osoittaa, että pitkät hiilinanoputket aiheuttavat vähemmän akuuttia toksisuutta kuin lyhyet, mutta toisaalta pitkät ja jäykät kuidut voivat muistuttaa asbestia ja aiheuttaa kroonisia vaikutuksia. Tulosten eroavaisuudet voivat johtua testausmenetelmistä, nanoputkien jäykkyydestä, aggregaatiokäyttäytymisestä sekä materiaalin elimistöstä poistumisen tehokkuudesta. Vastaavasti grafeenioksidin (GO) ja pelkistetyn grafeenioksidin (rGO) toksisuutta koskevissa tutkimuksissa esiintyy ristiriitaisia tuloksia. Ou ym. (2016) arvioivat GO:n olevan toksisempi sen hydrofiilisyyden ja leviävyyden vuoksi, kun puolestaan Garriga ym. (2020) havaitsivat rGO:n aiheuttavan enemmän toksisuutta [13,15]. Toksisuuserot voivat johtua erilaista solumalleista ja ROS-tuotannon eroista. Ristiriidat eivät sulje pois toisiaan vaan osoittavat, että hiilinanomateriaalien geometrialla ei yksiselitteisesti voida määrittää toksisuutta vaan se määräytyy useiden tekijöiden yhteisvaikutuksesta.

Lääketieteellisissä sovelluksissa, kuten lääkeaineiden kuljetuksessa hiilinanomateriaalien kyky tunkeutua soluun on toivottua. Samalla tulee arvioida, voiko materiaali mahdollisesti kuljettaa

soluun myös haitallisia aineita. Kyseinen ominaisuus voi lisätä riskiä esimerkiksi epäpuhtauksien tai valmistuksesta peräisin olevia ainejäämien kulkeutumiseen soluun lääkeaineen yhteydessä. Päälysteet ja epäpuhtaudet saattavat hankaloittaa hiilinanopartikkelien poistumista elimistöstä, mikä voi lisätä pitkäaikaisten vaikutusten riskiä.

Työssä käytettyjen tutkimusten luotettavuutta tulee myös arvioida kriittisesti huomioiden samalla koeasetelmien rajoitteet. Tutkimusten koeasetelmat eroavat usein todellisista biologisista malleista. Esimerkiksi *in vitro* -mallit eivät välttämättä tuo esiin mahdollisia vaikutuksia monimutkaisessa elimistön ympäristössä. *In vivo* -malleissa käytettävät koe-eläimet eivät puolestaan ole aina yleistettävissä ihmiskehoon. Erityisesti tulee huomioida ihmisten biologiset erot, kuten sukupuoli, ikä ja geneettiset tekijät, jotka voivat määrittää toksisuuden voimakkuutta. Lisäksi tutkimuksissa käytetyt pitoisuudet ja altistusten kestot voivat määrittää tuloksia. Hiilinanomateriaalien valmistajat ja muut materiaalin parissa työskentelevät altistuvat toistuvasti materiaalille. Lisäksi esimerkiksi implanttien aiheuttama mahdollinen pitkäaikainen toksisuus on yksi keskeisimmistä huolenaiheista lääketieteessä. Eettisestä näkökulmasta on tärkeää pohtia, miten laajasti voidaan hyödyntää materiaaleja, joiden pitkäaikaisia vaikutuksia ei täysin tunneta. Tutkimuksia arvioidessa tulee huomioida mahdollinen julkaisuharha, jossa positiiviset ja odotetut tulokset julkaistaan todennäköisemmin kuin epäselvät ja negatiiviset havainnot.

Hiilinanomateriaalien turvallisuutta tulee tarkastella myös tuotannon ja elinkaaren näkökulmasta. Materiaalien valmistuksessa käytetään usein useampia materiaaleja, joiden ominaisuudet täydentävät toisiaan. Hiilinanomateriaalien yhdistäminen muihin rakenteisiin tai aineisiin edellyttää laajempaa riskiarviointia, jossa huomioidaan materiaalien yhteisvaikutus. Tämän lisäksi materiaalin valmistus vaatii energiaa ja raaka-aineita, joista usein syntyy sivuvirtoja. Sivuvirtojen ja lopputuotteiden asianmukainen hävittäminen on tärkeässä roolissa erityisesti ympäristön turvallisuuden kannalta. Tämän vuoksi hiilinanomateriaalien kestävyyttä ja vastuullisuutta tulisi arvioida myös tuotanto- ja kierrätyskäytäntöjen osalta.

Tulevaisuudessa hiilinanomateriaalien tutkimuksessa tulisi siis keskittyä hyödyntämään yhä enemmän monitieteistä tutkimusta. Yhdistämällä lääketiede, materiaalitiede ja toksisuustutkimukset voidaan muodostaa kokonaisvaltaisempi käsitys hiilinanomateriaalien turvallisuudesta eri sovelluksissa.

## 7 Yhteenveto

Hiilinanomateriaalien käyttö on yleistynyt useilla tieteenaloilla, erityisesti lääketieteellisissä sovelluksissa. Materiaalin geometria vaikuttaa merkittävästi toksisuuteen ja bioyhteesopivuuteen. Tämä tutkielma pyrki vastaamaan kahteen tutkimuskysymykseen:

1. Miten hiilinanomateriaalien geometriset ominaisuudet (muoto, koko, rakenne) vaikuttavat niiden toksisuuteen biologisessa ympäristössä?
2. Millä tavoin hiilinanomateriaalien geometriaa voidaan hyödyntää bioyhteesopivuuden parantamiseksi?

Ensimmäisen tutkimuskysymyksen osalta voidaan todeta, että hiilinanomateriaalien toksisuuteen vaikuttavat merkittävästi niiden geometriset ominaisuudet. Pieni partikkelikoko mahdollistaa materiaalin tunkeutumisen tehokkaammin soluun, mikä lisää niiden vuorovaikutusta solun sisäisten rakenteiden kanssa. Rakenteellisesti esimerkiksi yksiseinäiset hiilinanoputket ovat toksisempia kuin moniseinäiset niiden pienemmän koon ja suuremman pinta-alan vuoksi. Lisäksi jäykkyys ja kuitujen pituus vaikuttavat toksisuuteen. Toisaalta suuremmat ja aggregoituvat partikkelit eivät pääse yhtä tehokkaasti soluun, mutta voivat aiheuttaa mekaanista ärsytystä kudoksissa. Toksisuus ei näin ollen ole yksiselitteisesti riippuvainen vain yhdestä geometrisesta tekijästä, vaan se määräytyy useiden samanaikaisten ominaisuuksien ja käyttöympäristön perusteella.

Toisaalta geometria voi tarjota myös keinoja parantaa hiilinanomateriaalien bioyhteesopivuutta. Toiseen tutkimuskysymykseen vastattaessa selvitettiin, miten geometriaa muokkaamalla voidaan parantaa materiaalin käyttäytymistä biologisissa ympäristöissä. Tutkimusten perusteella bioyhteesopivuutta voidaan parantaa muokkaamalla partikkelikokoa tai muotoa ja pituutta sekä hyödyntämällä pintafunktionalisointia. Esimerkiksi kuitumaisten rakenteiden pituuden ja sijoittelun optimointi voi edistää solujen kasvua ja vähentää haittavaikutuksia, kuten havaittiin hiilinanokuitujen kohdalla. Pintarakenteen muokkaaminen esimerkiksi hydrofiilisten ryhmien avulla voi lisätä materiaalien liukoisuutta ja vähentää aggregoitumista. Esimerkiksi grafeenioksidi on havaittu bioyhteesopivammaksi kuin pelkistetty grafeenioksidi osittain juuri pintaominaisuuksien vuoksi.

Vaikka toksisuuteen vaikuttavia tekijöitä voidaan hallita suunnittelun ja synteesin avulla, tulee huomioida myös muut vaikuttavat tekijät, kuten epäpuhtaudet, altistumisaika ja annoskoko. Toksisuuteen vaikuttavat siis yhdistelmä hiilinanomateriaalin geometrisia ominaisuuksia sekä

kemiallisia ja fysikaalisia. Geometriaa voidaan hyödyntää suunnitelmallisesti parantamaan bioyhteensopivuutta, mutta paras lopputulos saavutetaan, kun partikkelikoko, muoto ja pinnan funktionalisointi suunnitellaan sovelluksen vaatimuksia vastaaviksi. Hiilinanomateriaalien turvallisuusarviointi edellyttää monipuolisia tutkimusmenetelmien käyttöä sekä tutkimusta pitkäaikaisista vaikutuksista esimerkiksi valmistajien sekä implanttien käyttäjien osalta. Tulevaisuudessa huomiota tulee kiinnittää sovellusten riskien ja hyötyjen tasapainottamiseen, jotta voidaan kehittää turvallisia ja tehokkaita hiilinanomateriaaleja teollisuuden ja tieteen alojen tarpeisiin.

## Lähteet

- [1] L. Xuan, Z. Ju, M. Skonieczna, P. Zhou, R. Huang, Nanoparticles-induced potential toxicity on human health: Applications, toxicity mechanisms, and evaluation models, *MedComm* 4 (2023) e327. <https://doi.org/10.1002/mco2.327>.
- [2] M. Sajid, Nanomaterials: types, properties, recent advances, and toxicity concerns, *Current Opinion in Environmental Science & Health* 25 (2022) 100319. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100319>.
- [3] B. Mekuye, B. Abera, Nanomaterials: An overview of synthesis, classification, characterization, and applications, *Nano Select* 4 (2023) 486–501. <https://doi.org/10.1002/nano.202300038>.
- [4] K. Gajanan, S.N. Tijare, Applications of nanomaterials, *Materials Today: Proceedings* 5 (2018) 1093–1096. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.11.187>.
- [5] X. Yuan, X. Zhang, L. Sun, Y. Wei, X. Wei, Cellular Toxicity and Immunological Effects of Carbon-based Nanomaterials, *Particle and Fibre Toxicology* 16 (2019) 18. <https://doi.org/10.1186/s12989-019-0299-z>.
- [6] M. Baldrighi, M. Trusel, R. Tonini, S. Giordani, Carbon Nanomaterials Interfacing with Neurons: An In vivo Perspective, *Front. Neurosci.* 10 (2016). <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00250>.
- [7] M. Gaur, C. Misra, A.B. Yadav, S. Swaroop, F.Ó. Maolmhuaidh, M. Bechelany, A. Barhoum, Biomedical Applications of Carbon Nanomaterials: Fullerenes, Quantum Dots, Nanotubes, Nanofibers, and Graphene, *Materials* 14 (2021) 5978. <https://doi.org/10.3390/ma14205978>.
- [8] J. Sinclair, *An Introduction to Carbon Nanotubes*, (n.d.).
- [9] C. Buzea, I.I. Pacheco, K. Robbie, Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity, *Biointerphases* 2 (2007) MR17–MR71. <https://doi.org/10.1116/1.2815690>.
- [10] W. Yang, L. Wang, E.M. Mettenbrink, P.L. DeAngelis, S. Wilhelm, Nanoparticle Toxicology, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 61 (2021) 269–289. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-032320-110338>.
- [11] A. Nel, T. Xia, L. Mädler, N. Li, Toxic potential of materials at the nanolevel, *Science* 311 (2006) 622–627. <https://doi.org/10.1126/science.1114397>.
- [12] T.R. Kyriakides, A. Raj, T.H. Tseng, H. Xiao, R. Nguyen, F.S. Mohammed, S. Halder, M. Xu, M.J. Wu, S. Bao, W.C. Sheu, Biocompatibility of nanomaterials and their immunological properties, *Biomed Mater* 16 (2021) 10.1088/1748-605X/abe5fa. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/abe5fa>.
- [13] R. Garriga, T. Herrero-Contiente, M. Palos, V.L. Cebolla, J. Osada, E. Muñoz, M.J. Rodríguez-Yoldi, Toxicity of Carbon Nanomaterials and Their Potential Application as Drug Delivery Systems: In Vitro Studies in Caco-2 and MCF-7 Cell Lines, *Nanomaterials* 10 (2020) 1617. <https://doi.org/10.3390/nano10081617>.
- [14] K. Fujita, M. Fukuda, S. Endoh, J. Maru, H. Kato, A. Nakamura, N. Shinohara, K. Uchino, K. Honda, Size effects of single-walled carbon nanotubes on in vivo and in vitro pulmonary toxicity, *Inhal Toxicol* 27 (2015) 207–223. <https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1026620>.
- [15] L. Ou, B. Song, H. Liang, J. Liu, X. Feng, B. Deng, T. Sun, L. Shao, Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms, *Part Fibre Toxicol* 13 (2016) 57. <https://doi.org/10.1186/s12989-016-0168-y>.
- [16] J.M. Gernand, E.A. Casman, A Meta-Analysis of Carbon Nanotube Pulmonary Toxicity Studies—How Physical Dimensions and Impurities Affect the Toxicity of Carbon Nanotubes, *Risk Analysis* 34 (2014) 583–597. <https://doi.org/10.1111/risa.12109>.

- [17] J. Sund, J. Palomäki, M. Ilves, E. Rydman, T. Savinko, J. Koivisto, M. Vippola, D. Greco, H. Wolff, K. Savolainen, A. Puustinen, H. Alenius, Hiilinanoputkien aiheuttamien terveysvaikutusten karakterisointi systeemitoksikologian avulla, (n.d.).
- [18] G. Jia, H. Wang, L. Yan, X. Wang, R. Pei, T. Yan, Y. Zhao, X. Guo, Cytotoxicity of Carbon Nanomaterials: Single-Wall Nanotube, Multi-Wall Nanotube, and Fullerene, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 1378–1383. <https://doi.org/10.1021/es048729l>.
- [19] N. Malhotra, G. Audira, A.L. Castillo, P. Siregar, J.M.S. Ruallo, M.J. Roldan, J.-R. Chen, J.-S. Lee, T.-R. Ger, C.-D. Hsiao, An Update Report on the Biosafety and Potential Toxicity of Fullerene-Based Nanomaterials toward Aquatic Animals, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2021 (2021) 7995223. <https://doi.org/10.1155/2021/7995223>.
- [20] J. Kalman, C. Merino, M.L. Fernández-Cruz, J.M. Navas, Usefulness of fish cell lines for the initial characterization of toxicity and cellular fate of graphene-related materials (carbon nanofibers and graphene oxide), *Chemosphere* 218 (2019) 347–358. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.130>.
- [21] S. Rantataro, I. Parkkinen, I. Pande, A. Domanskyi, M. Airavaara, E. Peltola, T. Laurila, Nanoscale geometry determines mechanical biocompatibility of vertically aligned nanofibers, *Acta Biomaterialia* 146 (2022) 235–247. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.04.032>.
- [22] C. Grabinski, S. Hussain, K. Lafdi, L. Braydich-Stolle, J. Schlager, Effect of particle dimension on biocompatibility of carbon nanomaterials, *Carbon* 45 (2007) 2828–2835. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2007.08.039>.