

Katri Koskinen

SELLULOOSANANOMATERIAALIEN KÄYTTÖ LÄÄKETIETEESSÄ

Tekniikan ja luonnontieteiden tiedekunta
Kandidaatintyö
Huhtikuu, 2020

TIIVISTELMÄ

Katri Koskinen: Selluloosananomateriaalien käyttö lääketieteessä
Kandidaatintyö
Tampereen yliopisto
Tekniikan kandidaatin tutkinto
Huhtikuu, 2020

Nanoselluloosa luonnonpolymeeri, jota voidaan eristää eläinperäisistä sekä kasvipärisistä lähteistä. Selluloosananomateriaalit voidaan jakaa karkeasti kolmeen ryhmään: selluloosananofibrillit, selluloosananokristallit ja bakteeriselluloosa. Lääketieteen sovelluksissa kiinnostus on kohdistunut enimmäkseen bakteeriselluloosan käyttöön, sillä se on puhdasta ja lähtökohtaisesti nanomittakaavassa. Lääketieteen sovelluksissa nanoselluloosaa on tutkittu enimmäkseen haavahoidossa sekä kudosteknologiassa. Kiinnostusta materiaali on herättänyt myös diagnostiikassa, lääketieteellisyydessä sekä keinotekoisena verisuonisiirteenä.

Työssä käydään läpi nanoselluloosan potentiaalia lääketieteen sovelluksissa, sekä verrataan sitä jo käytössä oleviin ratkaisuihin. Tärkeimpiä nanoselluloosan ominaisuuksia lääketieteen kannalta ovat mekaaninen kestävyys, sen pintakemia, bioyhteensopivuus, muovattavuus ja huokoisuus. Suurimpia haasteita ovat bakteeriselluloosan tuottaminen laajassa mittakaavassa sekä nanoselluloosan reagoiminen ympäröivien yhdisteiden kanssa. Haavanhoitotuotteissa on kuitenkin hyödynnetty puhdasta selluloosaa. Nanoselluloosaa ei ole kuitenkaan sellaisenaan vielä juurikaan hyödynnetty lääketieteessä. Useissa sovelluksissa nanoselluloosaa on hyödynnetty komposiittirakenteissa tai sen funktionaalisia ryhmiä on muokattu oikeanlaisen pintakemian saavuttamiseksi. Tulevaisuuden näkymät nanoselluloosan käytölle lääketieteessä ovat kuitenkin lupaavat, ja sitä on pidetty potentiaalisena materiaalina useissa sovelluksissa.

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	1
2. SELLULOOSANANOMATERIAALIT	2
2.1 Selluloosa	2
2.2 Selluloosananofibrillit	4
2.3 Selluloosananokiteet	5
2.4 Bakteriselluloosa	5
3. LÄÄKETIETEELLISET SOVELLUKSET	7
3.1 Haavanhoito ja antibakteeriset tuotteet	7
3.2 Solukasvatus ja kudosteknologia	10
3.3 Keinotekoiset verisuonet	16
3.4 Bakteriselluloosapohjaiset diagnostilaitteet	18
3.5 Lääkkeiden kuljettaminen ja jakelu	20
4. YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET	23
LÄHTEET	26

LYHENTEET JA MERKINNÄT

CNF	Selluloosananofibrillit (engl. Cellulose nanofibrills)
CNC	Selluloosananokiteet (engl. Cellulose nanocrystals)
BNC	Bakteerinanoselluloosa (engl. Bactercellulose)
HA	Hydroksiapataatti (eng. Hydroxyapatate)
PEEP	Polyetyylietyleenifosfaatti (engl. Polyethyl ethylene phosphate)
PLGA	Polylaktidi-polyglykoli (engl. poly Lactic-co-Glycolic Acid)

1. JOHDANTO

Nanoselluloosa on nanomittakaavan selluloosapolymeerimateriaali. Sitä esiintyy kasveissa, eläimissä sekä bakteereissa. Materiaalin yleisyyden ja monipuolisuuden vuoksi sen käyttöä on tutkittu useissa eri sovelluksissa, kuten kalvorakenteissa, lujitteena sekä viskositeetin hallinnassa. Tunnetuin tutkimuskohde on pakkausteollisuuden tuotteet. [1] Nanoselluloosa on lääketieteen sovelluksissa vielä melko tuore tutkimuskohde, mutta sen ominaisuuksien vuoksi hyvin lupaava materiaali [2]. Selluloosananomateriaalit ovat luonnonperäisiä materiaaleja ja tämän seurauksena ne ovat bioyhteensopivia eli ne eivät aiheuta ihmiskehossa tulehdus -tai hylkimisreaktioita. Tämän mahdollistavat sen fysikaaliset ja biologiset ominaisuudet, sekä sen pintakemia. [3] Nanoselluloosaa voidaan hyödyntää nanokristalleina, nanofibrilleinä sekä bakteeriselluloosana [1].

Selluloosananomateriaaleilla on pyritty löytämään uusia, potilaille mahdollisimman helppoja ja kivuttomia hoitomuotoja. Luonnonpolymeerien prosessointi kliiniseen käyttöön tuo kuitenkin omat haasteensa. Nanoselluloosamateriaaleilla voidaan kuitenkin saavuttaa kudoksen kaltaiset ominaisuudet ja soluystävällinen ympäristö, jonka vuoksi se on ideaalinen materiaali solujen kasvatukseen [4]. Nanoselluloosamateriaaleja käytetään myös komposiittimateriaaleina yhdessä muiden polymeerimateriaalien kanssa, kuten kitosaanin, joka on lääketieteessä paljon tutkittu luonnonpolymeeri [1].

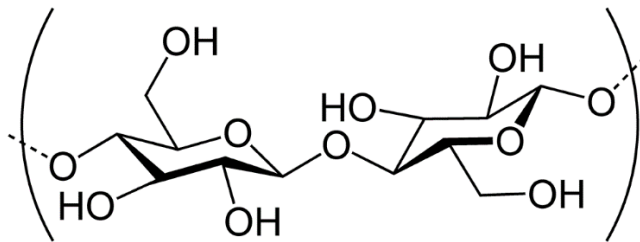
Työ on kirjallisuuskatsaus, jonka tarkoitus on antaa yleinen katsaus nanoselluloosamateriaaleihin ja niiden käyttöön lääketieteessä. Tässä työssä esitetään ja vertaillaan selluloosananomateriaalien käyttöä lääketieteessä. Tarkoituksena on selvittää, miten nanoselluloosan käyttö eroaa muiden luonnonpolymeerien käytöstä, ja muista jo käytössä olevista ratkaisuista. Lisäksi työssä pyritään selvittämään, voidaanko nanoselluloosaa pitää potentiaalisena materiaalina lääketieteen sovelluksiin. Työssä käydään läpi nanoselluloosan eri muotoja, niiden valmistusta ja käyttöä sovelluskohteissa sekä haasteita ja tulevaisuuden näkymiä. Toinen luku kuvaa lyhyesti erilaisia nanoselluloosamateriaaleja ja niiden valmistusta. Kolmannessa luvussa perehdytään lääketieteen sovelluksiin. Neljäs luku tiivistää ydinasiat ja tärkeimmät havainnot.

2. SELLULOOSANANOMATERIAALIT

Tässä kappaleessa käydään läpi lyhyesti, mitä selluloosa on sekä erilaiset selluloosananomateriaalit. Nanoselluloosa on nanomittakaavan selluloosaa, se valmistetaan selluloosasta mekaanisesti, kemiallisesti tai entsyymaattisesti. Selluloosananomateriaalit jaetaan karkeasti kolmeen ryhmään; Selluloosananofibrillit, selluloosananokiteet ja bakteeriselluloosa.

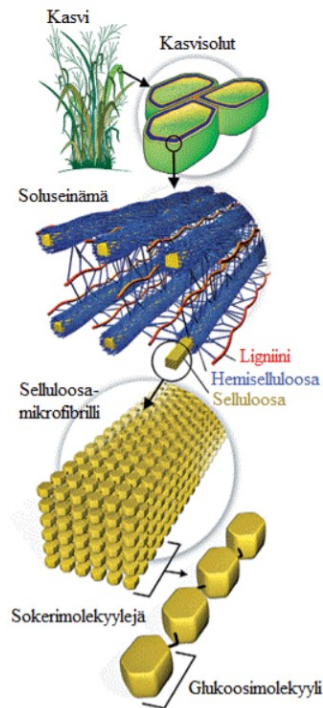
2.1 Selluloosa

Selluloosa on glukoosimolekyyleistä ($C_6H_{10}O_5$) muodostuva pitkäketjuinen polysakkaridi. Selluloosan kemiallinen rakenne on esitetty kuvassa 1. Selluloosan pinnalla on hydroksyyliiryhmiä (-OH), jotka tekevät selluloosasta hydrofiilisen eli vettä suosivan materiaalin. Hydrofiiliset materiaalit muodostavat mielellään sidoksia vesimolekyylien tai muiden poolisten molekyylien kanssa. Pooliset molekyylit ovat yhdistettä, jonka päiden välillä on varausero, eli toinen pää on positiivisesti varautunut ja toinen pää on negatiivisesti varautunut. Hydrofiilisyys voidaan sovelluksen mukaan kokea joko positiivisena tai negatiivisena ominaisuutena. [1, 4]



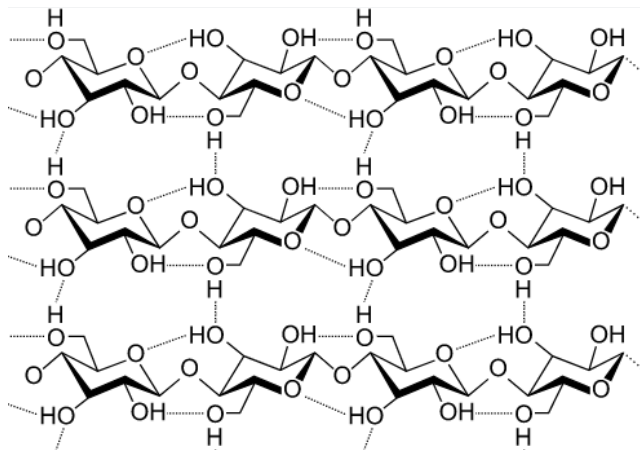
Kuva 1 Selluloosan kemiallinen rakenne [5]

Selluloosa on hyvin yleinen polymeeri ja sitä saadaan eristettyä useista eri lähteistä. Mahdollisia lähteitä selluloosalle ovat muun muassa alkeelliset merieläimet, kasvit ja erilaiset bakteerit. [6] Kuvassa 2 on esitetty kasviperäisen selluloosan rakenne ja sen sijainti kasvisolussa.



Kuva 2 Kasviperäisen selluloosan rakenne [7]

Selluloosa on usein myös edullinen ratkaisu verrattuna muihin lääketieteen käytössä oleviin materiaaleihin. Selluloosa on myrkytön ja bioyhteensopiva materiaali, eli se ei aiheuta ihmiskehossa tulehdus- tai hylkimisreaktioita. Hajotessaan se ei myöskään tuota myrkyllisiä yhdisteitä. Lisäksi selluloosa on rakenteeltaan hyvin samankaltaista kuin solujen ulkoinen soluväliaine ja se voi edistää solujen lisääntymistä ja kasvua eli proliferaatiota sekä solujen tarttumista pinnoille. Selluloosalla on myös kyky muodostaa huokoinen verkkorakenne, joka pystyy sitomaan huomattavia määriä vettä eli hydrogeeli. Verkko muodostuu, kun hydroksyyliyhdyntien välille syntyy vetysidoksia (Kuva 3). Lääketieteen kiinnostus selluloosan käyttöön on herännyt erityisesti näiden mainittujen ominaisuuksien vuoksi. [3]



Kuva 3 Selluloosaverkkorakenne [5]

Selluloosasta saadaan prosessoitua nanomittakaavan selluloosaa. Nanoselluloosaksi määritellään selluloosamateriaali, joka on ainakin yhdessä suunnassa nanomittakaavassa. Selluloosasta saadaan prosessoitua selluloosananomateriaaleja muun muassa mekaanisella, kemiallisella ja entsyymaattisella käsittelyllä. [1] Selluloosananomateriaaleilla on suuri ominaispinta-ala ja näin ollen pinnalla on useita hydroksyyliiryhmiä eli sen kyky sitoa vettä on hyvin suuri [3]. Selluloosananomateriaalit voidaan jakaa karkeasti kolmeen ryhmään: selluloosananofibrillit, selluloosananokiteet ja bakteeriselluloosa [1]. Kappaleissa 2.2—2.4 käydään läpi tarkemmin nämä selluloosananomateriaalit.

2.2 Selluloosananofibrillit

Pääasiallisina raaka-aineina selluloosananofibrilleille toimivat puu ja sellumassa. Mahdollisia raaka-aineita ovat myös yksivuotiset kasvit ja niiden jalostuksen sivutuotteet. Puukuidun seinämät muodostuvat useista mikrofibrillikimpuista eli toisiinsa liittyneistä säikeistä. Rinnakkaiset selluloosamolekyylit liittyvät toisiinsa vetysidoksin muodostaen amorfisia ja kiteisiä alueita. Selluloosananofibrillejä saadaan, kun nämä fibrillikimput hajoitetaan yksittäisiksi fibrilleiksi eli säikeiksi. [1]

Selluloosananofibrillit valmistetaan yleisimmin mekaanisella käsittelyllä, joka voidaan tehdä esimerkiksi jauhimessa. Käsittelyn tavoitteena on erottaa yksittäisiä soluseinän muodostavia kuitufibrillejä toisistaan. Saatava materiaali koostuu usein erikokoisista nanokuitukimpuista, eri fibrillaatioasteen kuiduista sekä täysin fibrilloitumattomista eli säikeistymättömistä kuiduista. Mekaanisesti käsitelty materiaali on erittäin heterogeenistä ja sisältää sellumassan muita aineita, kuten hemiselluloosaa ja ligniiniä (Kuva 2.) [7]. Tällä tavalla valmistetut selluloosananofibrillit ovat usein vain leveyssuunnassa nanomittakaavassa, mutta pituudeltaan ne saattavat olla useita mikrometrejä. Selluloosananofibrillit ovat myös voimakkaasti haaroittuneita ja taipuisia. Selluloosananofibrillien pinnalla on useita hydroksyyliiryhmiä, jonka seurauksena selluloosananofibrillit muodostavat helposti suurempia fibrillikasaumia eli kuidut takertuvat toisiinsa vetysidosten avulla. [1, 8]

Kuituja voidaan kuitenkin esikäsitellä kemiallisesti tai entsyymaattisesti fibrilloitumisen helpottamiseksi. Saatava materiaali on tällöin puhtaasti mekaanisesti käsiteltyyn materiaaliin verrattuna homogeenisempää sekä usein mittakaavaltaan pienempää. [1, 8]

2.3 Selluloosananokiteet

Verrattuna selluloosananofibrilleihin, selluloosananokiteitä voidaan eristää useista eri lähteistä. Nanokiteiden valmistukseen käytetään voimakkaita happoja, kuten rikkihappoa. Vahvoilla hapoilla mikrofibrillit saadaan katkeamaan poikittaisessa suunnassa niiden amorfisilta alueilta. Happohydrolyysin jälkeen materiaali käsitellään vielä mekaanisesti, jotta se saadaan hajotettua sauvamaisiksi selluloosananokiteiksi. Kooltaan kiteet ovat usein pienempiä kuin selluloosananofibrillit, leveydeltään ne ovat usein 2–20 nm ja pituudeltaan sadasta nanometristä jopa yli mikrometrin pituuksiin. Muototekijä eli kiteen pituuden suhde sen leveyteen, on suuri eli noin 10–100, mutta huomattavasti pienempi kuin selluloosananofibrilleillä. [1]

Selluloosananokiteet sisältävät vähän amorfista selluloosaa, ja niiden kiteisyys on korkea, jopa 62–90 %. Rikkihappokäsittelyn seurauksena nanopartikkelit saavat vahvan negatiivien varauksen, jonka ansiosta ne eivät muodosta suuria kasaumia. Kuivatessa selluloosananokiteet kuitenkin järjestäytyvät muodostaen mikrokiteistä selluloosaa eli palautuvat samantyyppiseen muotoon, jossa ne ovat ennen mekaanista käsittelyä. Tässä muodossa kiteet ovat kuitenkin ulkoisilta mitoiltaan nanomittakaavan ulkopuolella. [1] Mikrokiteistä selluloosaa on tutkittu etenkin luukudokseen liittyvissä sovelluksissa [9].

Selluloosananokiteiden ominaisuudet tekevät niiden käyttömahdollisuuksista laajat. Korkean jäykkyyden ansiosta nanokiteet sopivat lujitemateriaaliksi nanokomposiiteissa. [1] Liuoksessa nanokiteillä on taipumusta järjestäytyä ja saada nestekideominaisuuksia eli ne ovat nesteen muodossa, mutta voivat kuitenkin järjestäytyä. Tämä järjestäytyminen voidaan aiheuttaa esimerkiksi ulkoisella ärsykkeellä, kuten sähköllä. Järjestäytyminen aiheuttaa muutoksia materiaalin valonheijastuskykyyn. [10] Nanokiteet, joilla on nestekideominaisuuksia sopivat hyvin kalvosovelluksiin, erikoispapereihin ja pakkauksiin. Selluloosananokiteillä on myös korkea sulamispiste, joten ne voidaan nähdä potentiaalisena materiaalina korkean lämpötilan sovelluksiin. [1]

2.4 Bakteriselluloosa

Bakteriselluloosa on bakteerien tuottamaa luonnostaan hyvin huokoista ja bioyhteensopivaa nanomittakaavan materiaalia. Se on lähtökohtaisesti nanomittakaavassa, mutta sitä voidaan edelleen pienentää kemiallisella tai mekaanisella käsittelyllä [1]. Onttojen rakenteiden tuottaminen on mahdollista jo bakteriselluloosan synteesin aikana [11-13]. Bakteriselluloosaa syntyy bakteerien biosynteesin tuotteena. Lyhyesti, bakteriselluloosaa saadaan polymerisaation seurauksena glukoosista. Valmistus tapahtuu bakteerin

sisällä, ja puhdas selluloosa poistuu bakteerista pienten huokosten kautta. Bakteerien tuottama selluloosa ei vaadi jatkoprosessointia, jossa poistetaan ylimääräisiä aineita, kuten ligniiniä ja hemiselluloosaa. Hienojakoinen fibrilliverkosto saa aikaan huokoisen geolimäisen rakenteen. Bakteerinanoselluloosalla on korkea kiteisyysaste, jopa 80% ja hyvät mekaaniset ominaisuudet, mutta se on myös elastista ja taipuisaa. [1, 4]

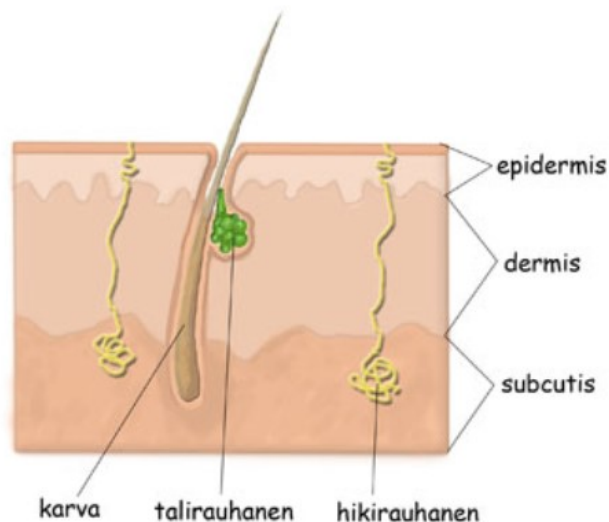
Bakteerien tuottamat nanoselluloosafibrillit ovat rakenteeltaan hyvin erilaisia kuin puista tai kasveista eristetyt mikrofibrillit [1]. Bakteriselluloosananofibrillejä on hyödynnetty esimerkiksi elintarvikkeiden lisäaineena sekä paperinvalmistuksessa, myös lääketieteellisissä sovelluksissa bakteriselluloosaa on hyödynnetty usealla alalla. Bakteriselluloosalla on useita sovelluskohteita biolääketieteen alalla, sitä on tutkittu muun muassa haavasidoksissa, lääkkeissä, luukudosteknologian sovelluksissa, diagnostisina sensoreina, hammaslääketieteessä, rustokudoksen korjaamisessa, keinohona, verisuoni-implanteissa sekä aivojen kovakalvon korvaamiseksi. [4] Bakteriselluloosan käytön lääketieteessä mahdollistaa sen puhtaus, se ei sisällä proteiineja tai biomolekyylejä, jotka aiheuttavat tulehduksia ihmiskehossa. [14]

3. LÄÄKETIETEELLISET SOVELLUKSET

Tässä kappaleessa esitellään nanoselluloosan käyttöä lääketieteessä ja perehdytään sen ominaisuuksien erilaisissa sovelluksissa. Kappaleen tavoitteena on esitellä nanoselluloosalle mahdollisia sovelluskohteita lääketieteessä. Kappaleessa käsitellään myös sovelluskohteiden sekä nanoselluloosamateriaalien käytön haasteita sekä pohditaan ratkaisuja niihin. Nanoselluloosa on herättänyt kiinnostusta biomateriaalina erityisesti sen fysikaalisten ja biologisten ominaisuuksien vuoksi. Vaadittuja ominaisuuksia lääketieteen sovelluksissa ovat muun muassa bioyhteensopivuus sekä myrkyttömyys.

3.1 Haavanhoito ja antibakteeriset tuotteet

Ihon pintakerros koostuu karkeasti jaoteltuna orvaskedestä (epidermis) ja verinahasta (dermis) (Kuva 4.), nämä ihokerrokset antavat keholle fysiologisen suojan ja osittain myös mekaanista tukea [15]. Haavan syntyessä tämä suojakerros vaurioituu, ja alueella esiintyykin useimmiten suuri määrä bakteereja sekä patogeenejä eli taudin aiheuttajia. Näitä esiintyy paljon etenkin palovammoissa, tapaturmaperäisissä haavoissa sekä kirurgisissa haavoissa. [14] Haava-alueella esiintyvät patogeenit ovat useimmiten haitaksi potilaan terveydelle ja ne tulisi minimoida. Tärkeimpänä vaatimuksena haavanhoitotuotteelle on mahdollistaa kaasujenvaihto sekä edistää verisuonien uusiutumista. Haavanhoitomateriaalin tulisi myös peittää haava tarjoten fysiologisen suojan ja kyetä säilyttämään elastisuus haavan repeämisen estämiseksi. Huokoisen verkon tulisi siis kyetä turpoamaan säilyttäen kosteus sekä pH tasaisena. [14, 16]



Kuva 4 Ihon rakenne, uloimpana kerroksena on epidermis eli orvaskesi, tämän alla sijaitsee dermis eli verinahka ja näiden kerrosten alla subcutis eli ihonalaiskudos [15]

Haavanhoitotuotteissa on tutkittu paljon hydrogeelin käyttöä ja tämän vuoksi myös nanoselluloosahydrogeelistä on kiinnostuttu [2]. Verkkorakenteen avulla saadaan hillittyä verenvuotoa fibriinin eli ihmisen kehossa luonnollisesti verenvuotoa tyrehtyttävän säikeisen valkuaisaineen tavoin [17]. Hydrogeeli materiaalina on hyvin huokoista, mutta sillä kuitenkin hyvät mekaaniset ominaisuudet. Nanoselluloosahydrogeeli on useimmiten bakteeriselluloosa- tai selluloosananofibrillipohjaista. Selluloosamateriaalien etuna on se, ettei se ole myöskään useimmiten allergisoivaa tai aiheuta inflammaatiota eli tulehdusreaktioita. Bakteeriselluloosa itsessään ei sisällä mitään eläinperäisiä komponentteja eikä proteiineja, eikä tämän vuoksi juurikaan allergisoi. [14]

Verkkorakenne mahdollistaa kaasujen vaihdon, sekä hyvän vedensitomiskyvyn. Bakteeriselluloosakalvon eli bakteeriselluloosamembraanin avulla saadaan säilytettyä fysiologinen suoja haavan pinnalla, mikä hillitsee kipua ja infektioita, mutta mahdollistaa kuitenkin lääkaineiden pääsyn tulehdusalueelle. Huokoisella nanoselluloosalla voidaan siis luoda haavan pinnalle kerros, jonka läpi antibiootit ja muut lääkkeet pääsevät, mutta se hidastaa tai jopa estää bakteerien pääsyn haava-alueelle. Usein nanoselluloosaan on liitetty antibakteerisia aineita, kuten hopeapartikkeleita, joilla on todettu olevan antibakteerisia ominaisuuksia. Tällä tavalla prosessoidulla materiaalilla saadaan tehokkaammin estettyä bakteerien pääsyä haava-alueelle. Bakteeriselluloosatuotteilla voidaan edistää epitelisoitumista eli ihon uudelleen rakentumista ja kasvua jopa kolmannen asteen palovammojen hoidossa. [2] Hydrogeelin käytössä on kuitenkin joitakin haasteita rakenteen säilyttämisen kanssa, sekä membraanin riittävän paksuuden ylläpitämisessä. Ympäristöolosuhteiden, etenkin pH-muutosten vaikutuksesta membraani saattaa kokea rakenteellisia muutoksia ja jopa hajota ennen aikaisesti. [14]

Perinteisissä haavanhoitotuotteissa ongelmana on se, että materiaali joudutaan poistamaan hoidon jälkeen. Adheesio on usein hyvin voimakasta haava-alueella. Materiaalin poistaminen haava-alueelta saattaa näin ollen aiheuttaa uuden trauman ja pidentää edelleen paranemisaikaa [2]. Kosteaa hydrogeelin avulla, tätä adheesiota saadaan kontrolloitua, eivätkä solut tartu niin voimakkaasti haavanhoitotuotteeseen. OH-ryhmien avulla saadaan säilytettyä kostea kerros haavan pinnalla ja näin ollen säilytettyä ominaisuudet suotuisina paranemiselle. Bakteeriselluloosayhdisteet voidaan syntetisoida useiksi erilaisiksi biomolekyyliyhdisteiksi. Syntetisoinnilla saadaan muokattua bakteeriselluloosan funktionaalisia ryhmiä eli niitä ryhmiä, jotka antavat yhdisteelle sen kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet. Kemiallisen rakenteen muokkaaminen mahdollistaa käyttökohteet hyvin erilaisten kudosten uusiutumisessa ja eri solujen tarttumisominaisuuksien muutoksissa. [14]

Kuten aikaisemmin mainittiin, niin nanoselluloosalla on joitakin antibakteerisia ominaisuuksia, mutta se itsessään harvemmin riittää torjumaan infektioita. Antibakteeriset selluloosamateriaalit ovat usein pintamodifioituja eli niiden aktiivisuutta on muutettu muokkaamalla selluloosan kemiallista rakennetta tai liittämällä siihen muita aktiivisia yhdisteitä. Oman haasteensa antibakteerisille hoidoille tuottaa se, että monet bakteerit ovat kehittyneet vastustuskykyisiksi useille antibiooteille, kuten *metisilliiniresistentti S. aureus—MRSA*. Nanoselluloosapohjaisilla yhdistemateriaaleilla voisi kuitenkin olla mahdollista kehittää bioaktiivinen tuote, jolle bakteerit eivät olisi vastustuskykyisiä. [3] Yhdisteillä saadaan aikaan bioaktiivisia ja hyvän biokompatibiliteetin omaavia antibakteerisia materiaaleja. Yhtenä haasteena yhdistelmäateriaalien käytössä on se, että antimikrobiset aineet ja nanoselluloosa saattavat reagoida keskenään tuottaen tuntemattomia yhdisteitä. Jotkin yhdisteet saattavat olla jopa myrkyllisiä ihmiskehölle. Haavahoidon tavoitteena on kuitenkin välttää uusia tulehduksia ja allergisia reaktioita. [12]

Nanoselluloosalla on tutkittu olevan vaikutusta haavan paranemisnopeuteen. Portal et al. [18] Vertailivat tutkimuksessaan kroonisten haavojen paranemista bakteeriselluloosan kanssa sekä ilman. Paranemisjakso ilman bakteeriselluloosa oli keskimäärin 315 päivää. Haavat, joihin oli istutettu bakteeriselluloosaa, paranivat keskimäärin 50–110 -päivässä. Toinen tutkimus tehtiin potilaille, joilla esiintyi vakavia palovammoja. Bakteeriselluloosaamembraani vältti hyvin haavan ”tyhjiä alueita” (engl. Dead space) ja muodosti suotuisan ympäristön haavan puhdistumiselle ja nopealle paranemiselle. Tutkimuksen perusteella bakteeriselluloosan käyttö näyttäisi lyhentävän huomattavasti paranemisaikaa. [18]

Selluloosapohjaisia haavanhoitotuotteita löytyy myös kaupallisesti saatavana. Yksi esimerkki selluloosapohjaisesta tuotteesta on BloodSTOP® verenhydytyssidos. Tuote on tarkoitettu tyrehtyttämään verenvuotoa pienissä haavoissa. Tuote koostuu selluloosakuiduista, jotka muuttuvat kostuessaan geelimäiseksi verkkorakenteeksi (Kuva 5). [19]



Kuva 5 Osittain kostutettu BloodSTOP® haavanhoitolappu [20]

Tuotteen joutuessa kosketuksiin veren kanssa, se siis turpooa sulkien haavan ja tyrehtyttää verenvuodon. Materiaali hillitsee myös jonkin verran infektioita ja on erittäin helppo käyttää. Sitä on käytetty myös eläimillä pintahaavojen hoitoon. [19]

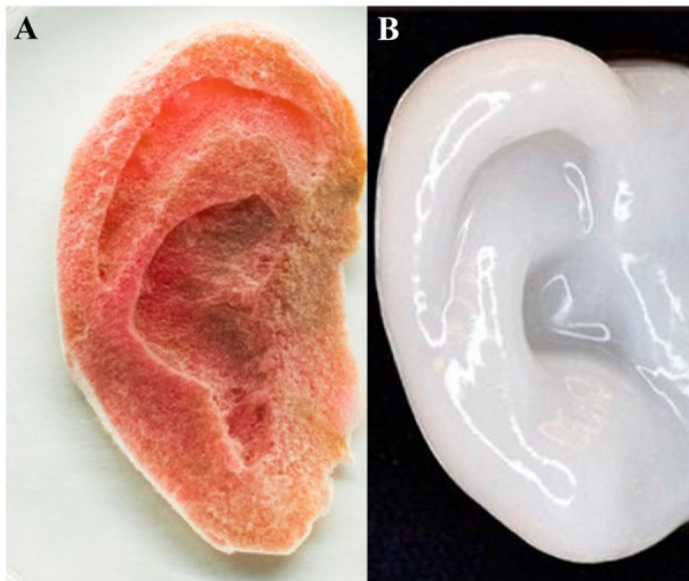
3.2 Solukasvatus ja kudosteknologia

Tässä kappaleessa käsitellään alkuun solukasvatusta, ja sen jälkeen keskitytään pehmytkudosteknologiaan sekä luukudosteknologian sovelluksiin. Lopussa on vielä esitelty lyhyesti nanoselluloosan muita kudosteknologisia sovelluksia. Kudosteknologian puolella, nanoselluloosasovellukset kohdistuvat lähinnä pehmytkudosrakenteisiin, mutta kiinnostuksen kohteeksi on noussut myös luukudoksen korjaaminen selluloosapohjaisilla materiaaleilla [2].

Kun puhutaan bakteeriselluloosapohjaisesta solukasvatuksesta, voidaan ajatella sen jakautuvan karkeasti kolmeen kategoriaan. Nämä kategoriat ovat bakteerinanoselluloosamembraani pohjaiset kasvatusalustat, bakteerinanoselluloosa/matriisi -biokomposiittikasvatusalustat ja pintamodifioidut bakteerinanoselluloosakalvot. [2] Solukasvatuksessa on erittäin tärkeää, että materiaalia tarjoaa suotuisan kasvualustan soluille ja edistää niiden proliferaatiota sekä ylläpitää eri solujen funktioita. Selluloosa materiaalina on herättänyt kiinnostusta solukasvatusalustana lähinnä sen vuoksi, että sillä on hyvin samanlainen rakenne kuin solunulkoisella matriisilla. [2, 21]

Bakteeriselluloosahydrogeeliä on itsessään hyödynnetty onnistuneesti luuytimestä eristettyjen mesenkymaalisten eli erilaistuvien kantasolujen kasvatuksessa koekasvatusalustalla. Mesenkymaaliset solut voivat erilaistua muun muassa luuksi, rasvaksi ja rustoksi. Nanoselluloosahydrogeelin on huomattu edistävän solujen proliferaatiota ja metabolista aktiivisuutta. [22] Selluloosaa on pidetty hyvin lupaavana materiaalina 3D-

polymeeritukirakenteiden (engl. scaffold) raaka-aineeksi. Kuvassa 6 on selluloosapohjainen korvan muotoinen tukirakenne ihmisen solujen kasvatukseen. Molemmat korvat ovat viljelty rustosoluilla eli kondrosyyteillä ja Henrietta Lacksin kohdunkaulan kasvaimesta eristetyillä soluilla eli HeLa -soluilla. HeLa -solut ovat paljon lääketieteen tutkimuksissa hyödynnettyjä ns. kuolemattomia ihmissoluja. [23] Luonnonpolymeerien käytössä on kuitenkin joitain haittoja, kuten rakenteen säilyttäminen tarpeeksi pitkään. Uusi kudus ei ehdi kasvaa tarpeeksi terveeksi ja vahvaksi ennen kuin tukirakenne menettää mekaaniset ominaisuutensa. [24]

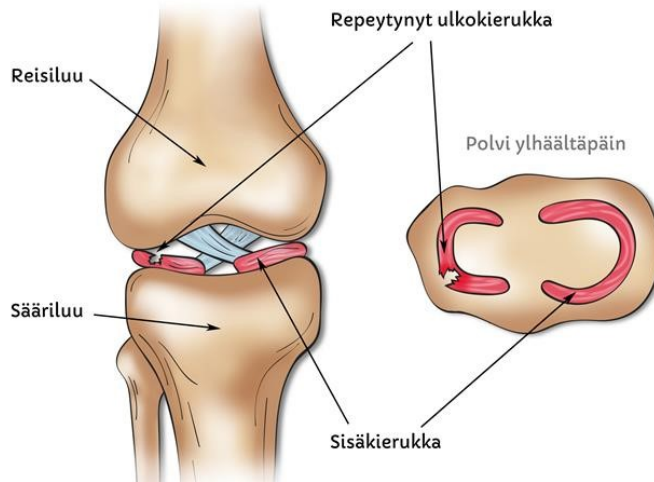


Kuva 6 Vasemmalla kasviperäisestä selluloosasta kaiverrettu korva (A), oikealla 3D-tulostettu nanofibrilloitu bakteeriselluloosakorva (B) [23]

Selluloosa on lupaava materiaali kudosteknologian sovelluksiin sen huokoisuuden ja mekaanisten ominaisuuksien vuoksi. Tämä itsessään ei kuitenkaan riitä. Sen kyky muodostaa hydrofiilinen verkko on myös nähty etuna tämän sovelluksen kannalta. Yksi tärkeimmistä tekijöistä kudosteknologisissa tuotteissa on solujen ja biomateriaalin välinen vuorovaikutus. Materiaalin tulisi olla myös steriloitavaa, eikä se saisi aiheuttaa häiriöitä verenkierrolle. Materiaalin tulisi olla myös helposti prosessoitavaa. Nanoselluloosan käyttö on kohdistunut lähinnä pehmytkudoksen korvaamiseen sekä uudelleen kasvatukseen. Useita luonnonperäisiä polymeerejä on alettu hyödyntää kudosteknologian alalla. Näitä polymeerejä ovat selluloosan lisäksi muun muassa kollageeni ja kitosaani. [3]

Yksi isoimmista haasteista lääketieteessä on rustokudoksen korjaus, sillä rustokudos ei uusiudu. Vammat esimerkiksi nivelkierukassa (Kuva 7) tuovat jatkuvasti oman haas-

teensa kudosteknologian saralla. Nivelkierukka saattaa revetä polven kiertyessä voimakkaasti, repeämä voi syntyä myös kevyemmästä liikkeestä nivelkierukan ollessa rappeutunut [25]. Kollageenia on aikaisemmin käytetty tämän tyyppisissä korjauksissa, mutta nyt myös nanoselluloosa on herättänyt kiinnostusta. [26]



Kuva 7 Polven rakenne. Nivelkierukka on polvessa sijaitseva rustokudoksesta koostuva komponentti [25]

Bakteeriselluloosan mekaanisia ominaisuuksia on verrattu esimerkiksi sian nivelkierukkaan ja tyypillisiin kollageenista valmistettuihin nivelkierukkaimplanteihin. Kollageenin verrattuna nanoselluloosan Youngin moduuli on jopa viisi kertaa korkeampi, mutta nivelkierukkaan verrattuna ominaisuudet ovat hyvinkin samanlaiset. Bakteeriselluloosa on myös helppo prosessoida nivelkierukan muotoon (kuva 8). Myös bakteeriselluloosan kulumis- ja murtumisominaisuuksia ovat vaikuttaneet lupaavilta. [2] Matalan kitkakertoimen ja pehmeän, mutta joustavan rakenteen ansiosta sitä voidaan pitää potentiaalisena ratkaisuna rustokudoksen korjaamiseen keinoitekoisilla nivelpinnioilla [26].



Kuva 8 Sian nivelkierukka (vas.) ja BC nivelkierukka (oik.) [2]

Nanoselluloosan ominaisuudet sellaisenaan kuitenkin harvoin riittävät kudosteknologian sovelluksiin ja sen vuoksi sitä on tutkittu käytettäväksi erilaisissa komposiittirakenteissa alentamaan kustannuksia. Kuitenkin materiaalien välinen vuorovaikutus ja ristisilloituksen eli verkonmuodostumisen vaikutukset ovat vielä tutkimusasteella. Ristisilloituksessa polymeeriketjujen välille muodostuu kovalenttisia sidoksia tai ionisidoksia. [2] Nanoselluloosa on käytetty muun muassa yhdessä Natriumalginaatin kanssa 3D-tulostettuna nenän ja nivelten rustojen korjaamiseen. Tämän yhdisteen rakennetta ja mekaanisia ominaisuuksia on tutkittu melko vähän, etenkin sterilisoinnin ja ristisilloituksen vaikutuksen alaisena. Al-Sabah et al. tutkimuksessaan käsitelivät erityisesti kalsiumkloridilla ristisilloitetusta ja eri sterilisointi menetelmien vaikutusta ominaisuuksiin. Tutkimus keskittyi erityisesti nanofibrillien, nanokristallien ja niiden yhdisteen ominaisuuksiin. Ristisilloittamisella ja sen tiheydellä näyttäisi olevan voimakas vaikutus verkon jakautumiseen, pinnan morfologiaan, huokosten kokoon ja turpoamiseen sterilisoinnin vaikutuksesta. [27]

Kolmiulotteisia bakteeriselluloosarakenteita on hyödynnetty myös kasvualustana luukudoksen uudelleen rakentumisessa [4]. Haasteet luukudosteknologiassa keskittyvät rakenteiden kantavuuteen ja kestävyteen. Tukirakenne ei saisi murtua ennen kuin luu on ehtinyt parantua riittävän vahvaksi pystyäkseen kannattelemaan siihen kohdistuvan kuormituksen. Toinen iso haaste on riittävä verisuonittuminen sillä alueella, johon tukirakenne on asennettu. Tukirakenteen tulisi edesauttaa osteoblastien eli uutta luuta tuottavien solujen kasvua trauma-alueella ja mahdollistaa riittävä ravinteiden saanti. [2]

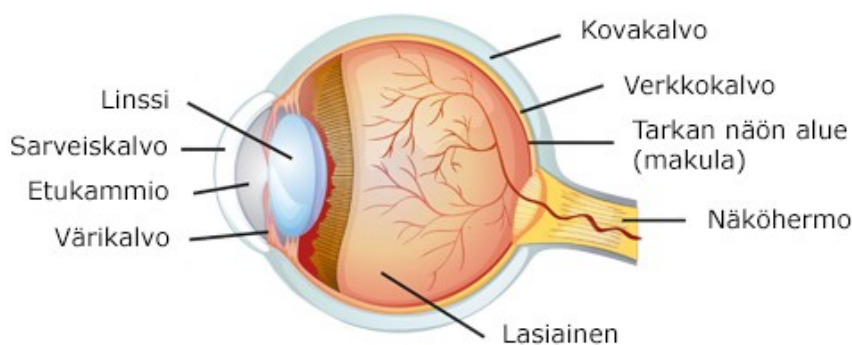
Nanoselluloosa on tutkittu myös luukudoksen kasvatuksessa komposiittimateriaaleissa, esimerkiksi hydroksiapataatin kanssa [2, 3]. Hydroksiapataatti on yleinen ihmiskehossa esiintyvä mineraalimateriaali, jota on hyödynnetty paljon luukudosteknologiassa. Hydroksiapataatti sellaisenaan käytettynä ei tarjoa soluille optimaalista tarttumispintaa ja kasvualustaa. Komposiiteilla on pyritty saavuttamaan riittävä bioaktiivisuus edistämään kudoksen nopeaa uusiutumista ja paranemista [2].

Bakteeriselluloosakomposiitteja on hyödynnetty myös muuttamaan solujen kykyä muodostaa luukudosta ja tätä kautta nopeuttamaan paranemista [4]. Luukudoksen muodostumiseen käytetään kuitenkin useimmin mikrohuokoista bakteeriselluloosaa, jotta voidaan mahdollistaa mineralisoituneen kudoksen muodostuminen ja osteoblastien proliferaatiota. Selluloosalla on tutkittu olevan kyky muodostaa yhdisteitä kalsiumin kanssa ja täten edistää mineralisaatiota luun uudistumisen aikana. Bakteeriselluloosan on havaittu

edesauttavan myös luuta korjaavien esisolujen liikkumista eli migraatiota. Kudoksen uudistumisen aikana migraatio on erityisen tärkeää, jotta korjattavalle alueelle pääsee soluja, jotka edistävät korjausprosessia. [9]

Kumbar et al. ovat tutkineet nanoselluloosakomposiitteja luukudossovelluksissa [3]. Tutkimuksessa selluloosa-asetaattia ja etyylliselluloosananohuokosia prosessoitiin kolmiulotteiseksi verkoksi. Materiaaleilla voidaan saavuttaa samankaltaiset ominaisuudet kuin ihmisen luulla. Nanoselluloosapohjaisia rakenteita käsiteltiin vielä kollageenilla, jonka avulla saatiin muokattua pintaa niin, että saatiin parannettua osteoblastien adheesiota ja proliferaatiota. Lopputuloksena saatiin materiaalille jopa optimaalisemmat ominaisuudet luun kasvulle kuin tyypillisesti käytetyillä polymeeripohjaisilla tukirakenteilla. Nanoselluloosapohjaisia tukirakenteita voidaan siis tämän tutkimuksen perusteella pitää potentiaalisena vaihtoehtona luukudoksen tukirakenteeksi.[28]

Nanoselluloosa erityisten ominaisuuksien vuoksi sitä on tutkittu myös hieman erikoisemmissa kudosteknologian sovelluksissa, kuten silmiin kohdistuvissa hoidoissa sekä adaptiivisena biokomposiittina sensoreiden ja aivokuoren välissä. Kiinnostava ominaisuus silmäsovelluksien kannalta bakteeriselluloosassa on sen kyky muovata ja edistää myös verkkokalvopigmenttiepiteelin sekä sarveissolujen proliferaatiota. [4] Verkkokalvo sijaitsee silmän takaosassa (kuva 9.) ja on näkemisen kannalta keskeinen. sen kautta silmän ärsykkeet siirtyvät näköhermoa pitkin aivojen näkökeskukseen. [29]



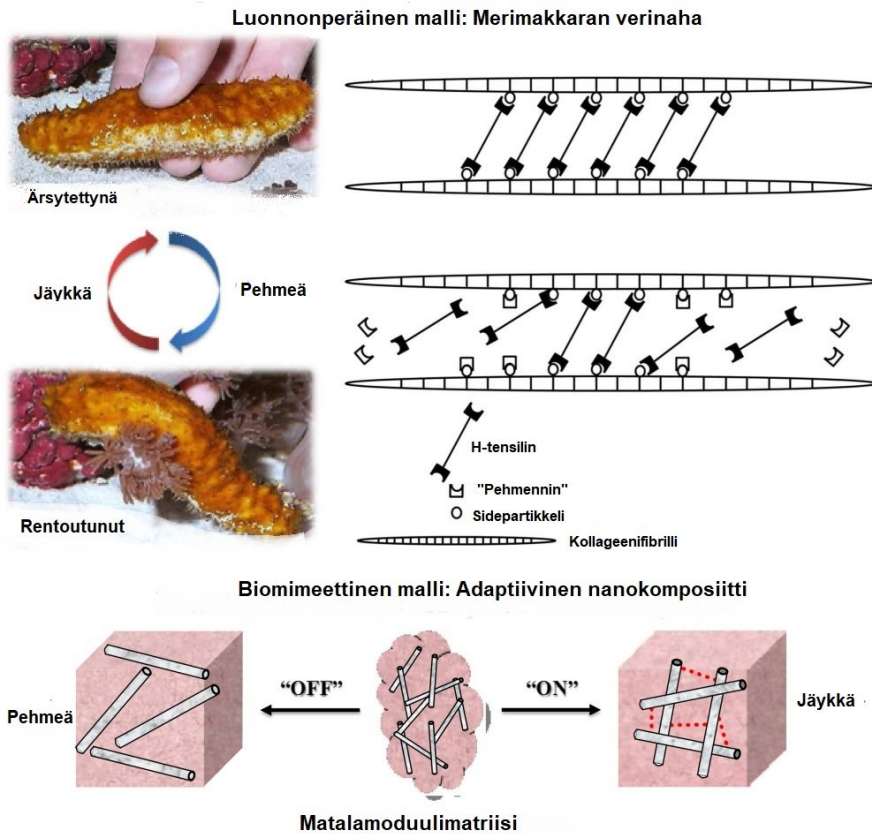
Kuva 9 Silmän rakenne [30]

Joitain luonnon polysakkarideja, kuten alginaattia on aikaisemminkin hyödynnetty piilolinssissä [31]. Myös nanoselluloosaa on pidetty myös potentiaalisena materiaalina piilolinssiin se läpinäkyvyyden ja bioyhteensopivuuden vuoksi. Nanoselluloosaa on myös helppo prosessoida ohuiksi kalvoiksi. Nanoselluloosan lääkkeensitomiskyvyn ansiosta sitä on kaavailtu myös lääkinnällisten linssien käyttöön, tämän tyyppistä sovellusta

voidaan verrata niin sanotuksi ”silmän haavavahaksi”. Haavavahan käytöllä pyritään välttämään antibioottipohjaisia silmätippoja ja edistämään kehon omaa vastustuskykyä. [4]

Hermokontaktiin liittyvissä sovelluksissa, kuten aivoihin sijoitettaviin sensoreihin, tyypillisesti käytettyjä materiaaleja ovat silikoni, titaani, platina, kulta, ja ruostumaton teräs [31]. Yleisimmin hermostolliset rajapinnat on tehty metallimateriaaleista, jotka ovat huomattavasti jäykempiä kuin aivokuori itse. Tästä syystä on pyritty löytämään materiaali, jonka ominaisuudet vastaisivat aivokuoren mekaanisia ominaisuuksia. Käytettyjen metallien kimmomoduuli on kokoluokkaa 200GPa, joka on noin 20 kertaa suurempi kuin aivokudoksen moduuli (10GPa). Tämän tyyppisten materiaalien käytön on huomattu joissain tapauksissa aiheuttavan kudonvaurioita mikroliikkeen vuoksi, joka kohdistuu kudoksen ja implantin välille. [3] Pahimmassa tapauksessa keho alkaa hylkiä tuotetta, tämä johtaa neuronien eli aivosolujen kuolemaan ja edelleen anturin kapseloitumiseen [32]. Yleisesti käytetyistä materiaaleista taas muun muassa silikoni puolestaan on melko pehmeää verrattuna aivokuoreen. Silikonin Youngin moduuli on noin 2.5GPa kun vastaavasti aivokudoksen noin 10GPa. [3]

Tutkijat ovat kehittäneet keinoja pehmentää vuorovaikutuspintoja aivokuorisensorisovelluksissa. Neuroinflammatiota estämään on kehitetty mekaanisesti mukautuvaa nanoselluloosapohjaista komposiittimateriaalia. Materiaalia on käytetty lähinnä jäykän ja pehmeän osuuden välissä hillitsemään vuorovaikutusta. Materiaali muovautuu ärsykkeestä mekaanisilta ominaisuuksiltaan hyvinkin vaihtelevaksi, sen käyttäytymistä on verrattu merimakkaran verinahan rakenteeseen (Kuva 10.) [3]. Verinahka on pääasiassa sidekudosta, joka vastaa osaltaan ihon mekaanisesta kestävydestä. Merimakara on meressä elävä selkärangaton eläin, joka ärsykkeen kohdatessaan puolustautuu jännittämällä kehonsa, joka koostuu pääosin verinahasta. Jännityksen ansiosta sen kehossa olevat piikit työntyvät ulos. Ärsykkeen vaikutuksesta merimakkaran verinahka eli dermis jännittyy ja levossa se on pehmeä, nanoselluloosakomponentti vähentää samalla teknikalla vuorovaikutusta pehmeän ja kovan materiaalin välillä. [33—35]



Kuva 10 Adaptiivinen nanoselluloosakomposiitti [3]

Komposiitti muodostuu nanoselluloosasta ja kollageenisäikeistä pehmeässä fibrilliini matriisissa. Selluloosananokristallien laajan pinta-alan ansiosta, saadaan mahdollisimman monta aktiivista OH-ryhmää, jotka reagoivat keskenään vetysidoksilla tai Van der Waalsin voimilla. Vuorovaikutusta voidaan hillitä altistamalla materiaali liuksille, jotka muodostavat mielellään vetysidoksia, tällöin selluloosananopartikkelit reagoivat mieluummin ympäristön kanssa ja saadaan ärsykeherkkä mekaanisesti mukautuva materiaali. [33—35]

3.3 Keinotekoiset verisuonet

Selluloosaa voidaan muovata hyvin erilaisiksi tuotteiksi sen syntetisoinnin aikana ja synnyttää erinomainen substraatti solukasvamiselle. Nanoselluloosan etuna on se, että se saadaan muovattua hyvin tarkasti ontoiksi putkiksi ja ominaisuudet saadaan vastamaan pienten verisuonien mekaanisia ominaisuuksia. [1, 2] Tärkein vaatimus keinotekoisille verisuonille on riittävä lujuus ylläpitämään verisuonen rakenteen, mutta verisuonisiirteen tulee kuitenkin olla joustava ja kestää veren muuttuvia virtausominaisuuksia. Materiaali ei saisi edistää myöskään veren hyytymistä eikä edes auttaa tukkeumien muodostumia. Bakteriselluloosaputket ovat osoittautuneet helposti käsiteltäviksi kirurgisissa toimenpiteissä, lisäksi ne voidaan steriloida standardimenetelmillä. [3] Bakteriselluloosaa ja

usein vesisuoni-implanteissa käytettävien materiaalien välillä on tehty vertailevia tutkimuksia. Tutkimusten perusteella bakteeriselluloosa osoittaa hitaampaa trombiinin muodostumista pinnoilla. Trombiini on entsyymi, joka edesauttaa veren hyytymistä. [2]

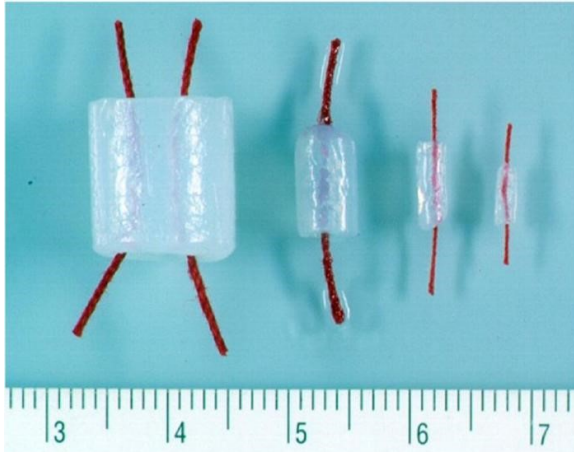
Suurimmat haasteet keinotekoisien verisuonten valmistuksessa ovat verenvirtaus ja sen kesto, suonon sisäkalvon liikakasvu ja trombogeenisyys eli taipumus verihyytymien syntymiseen. Trombogeenisyyteen voidaan vaikuttaa materiaalin pinnan funktionaalisilla ryhmillä, molekyylien varauksilla, fysikaalisella pinnankarheudella ja mukauttamalla rajapintaa. [36] Oman haasteensa tuo se, että nämä ominaisuudet muuttuvat ajan kuluessa ja materiaalin hajotessa. [2]

Tyypillisin hoitokeino verisuonisairauksiin on sepelvaltimoiden ohitusleikkaus, jossa sydänkudokselle kuljetetaan verta kiertämällä ahtauma sopivan verisuonikorjauksen avulla. Nanoselluloosaa, etenkin bakteeriselluloosaa, voidaan muovata ontoiksi putkiksi, jotka kestävät verenvirtausta jopa 880 mmHg asti. Putkia voidaan käyttää korvaamaan erikokoisia verisuonia. Pienet verisuonet ovat halkaisijaltaan alle 4 mm ja suuret ovat halkaisijaltaan yli 6mm. [2] Nanoselluloosan käytöllä haetaan myös edullista ratkaisua verisuonisiirteille. Nanoselluloosan etuja ovat bioyhteensopivuus, joustavuus, korkea vedenpidätyskyky sekä pieni pinnankarheus putkien sisäpinnoilla. Sen avulla voidaan saavuttaa riittävät mekaaniset ominaisuudet, kuten riittävä kovuus ja joustavuus estämään verisuonen kokoon painuminen ja mahdollistamaan veren riittävä virtausnopeus. Veressä kulkeutuu hyvin erilaisia ja erikokoisia partikkeleita ja veren virtaus on pääasiallisesti laminaarista, mutta risteyskohdissa tai tautiin liittyvissä tapauksissa virtaus saattaa muuttua turbulenttiseksi. Verisuonten sisäseinämät kokevat siis hyvin voimakasta ja vaihtelevaa kuormitusta. [37]

Verisuonisiirteissä hyödynnetään selluloosananomateriaaleista lähinnä vain bakteeriselluloosaa. Suora selluloosananokiteiden ja -fibrillien muovaaminen ontoiksi yhtenäisiksi putkiksi on lähes mahdotonta, usein lisäksi vaaditaan matriisimateriaali. Synteettisiä biokomposiitteja on kuitenkin valmistettu myös näistä materiaaleista. [2] Selluloosananofibrillien ja fibrinin yhdistelmää on käytetty ohuissa vesisuoni-implanteissa. Näissä implanteissa nanokiteitä on liitetty kovalenttisesti fibrinimatriisiin edesauttamaan keinotekoisien suonien elastisuutta ja lujuutta. [38]

Selluloosapohjaisten materiaalin käyttö keinotekoisina verisuonina on vielä pääosin tutkimusasteella, mutta bakteeriselluloosapohjaisista verisuonisiirteistä löytyy joitain kaupallisia tuotteita, kuten BASYC® (Kuva 11). BASYC® on bakteeriselluloosapohjainen

tuote, se on suunniteltu käytettäväksi verisuonisiirteisiin. Sitä on elävässä elimistössä käytetty onnistuneesti rotilla ja sioilla. [4] Sitä on onnistuneesti muovattu halkaisijaltaan eri suuruiseksi ontoiksi putkiksi. Keinotekoisien verisuonen seinämä koostuu bakteeriseluloosanokiteistä ja noin 90 prosenttisesti vedestä. [39]



Kuva 11 Erikokoisia BASYC® putkia [1]

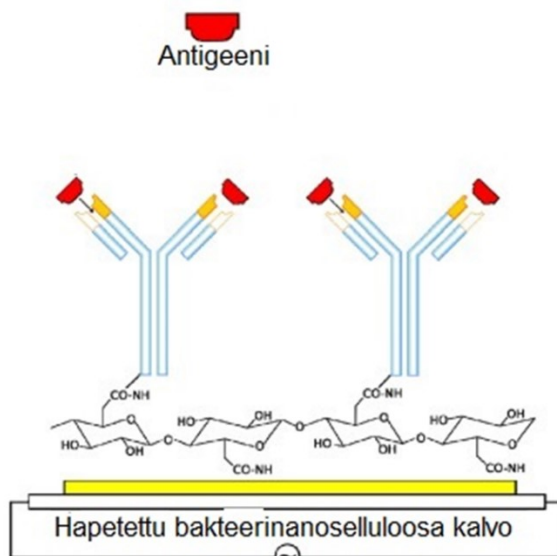
Toisena merkitsevänä haasteena voidaan pitää sitä, että selluloosan stabiiliuden säilymistä ei vielä tunneta ja lisäksi selluloosan rakenteen säilyttäminen tuo omat haasteensa. Nämä molemmat haasteet vaikuttavat trombosyyttien kehittymiseen, ja edelleen verisuonten tukkeutumiseen. Keinotekoisien suonien käytössä on havaittu myös joitain operaation jälkeisiä komplikaatioita. Myös selluloosan ja ympäröivän kudoksen väliset reaktiot ovat vielä tutkimusasteella. [2]

3.4 Bakteeriseluloosapohjaiset diagnosointilaitteet

Bakteeriseluloosamateriaaleja pidetään potentiaalisena vaihtoehtona korvaamaan polymeerimateriaalipohjaiset ratkaisut etenkin antigeenien eli immuunivasteen aiheuttavien molekyylien ankkuroitumisalustana. Antigeenit sitoutuvat reseptoreihin, joiden avulla keho tunnistaa ne ja synnyttää vastareaktion. Selluloosananomateriaaleilla on pyritty toteuttamaan vastaava systeemi antigeenien tunnistamiseksi esimerkiksi sairauksissa. Etenkin selluloosan johdoksia, kuten nitroselluloosa on tutkittu diagnostiikassa. Biosensoreina bakteeriseluloosa on nähty potentiaalisena materiaalina korvaamaan biosensorien rajapinnat sen mekaanisten ominaisuuksien, puhtauden ja pinnan stabiiliuden vuoksi. [4]

Ohutta nanoselluloosafilmiä on hyödynnetty diagnostiikassa. Sillä on päällystetty eri materiaaleja ja sitä on käytetty myös suorana pintana antigeenien ja muiden kiinnostavien yhdisteiden ankkuroimiseen. Bakteeriseluloosasta on myös kiinnostuttu diagnostisena

laitteena solukasvatuksen seuraamisen kannalta sekä vasta-aineiden, entsyymien, virusten että polyelektrolyyttien tarkastelun kannalta. Bakteriselluloosanokristalleja on hyödynnetty muun muassa Dengue-viruksen havaitsemisessa. Tätä sovellusta varten bakteriselluloosa oli pintamodifioitu hapettamalla (Kuva 12.). [4] Bakteriselluloosan etuja ovat raaka-aineen satavuus sekä edullisuus verrattuna yleisesti käytettyihin metodeihin, kuten viruksen eristäminen tai immunoglobuliinien havaitseminen ELISA:n eli entsyymiavusteisen immunomääritysmenetelmän (engl. enzyme-linked immunosorbent assay) avulla. ELISA -menetelmässä vasta-aine tai antigeeni tunnistetaan sitoutuneen entsyymin aktiivisuuden perusteella. [40]



Kuva 12 Bakterinanoselluloosapohjainen kalvo diagnostiikkaan [4]

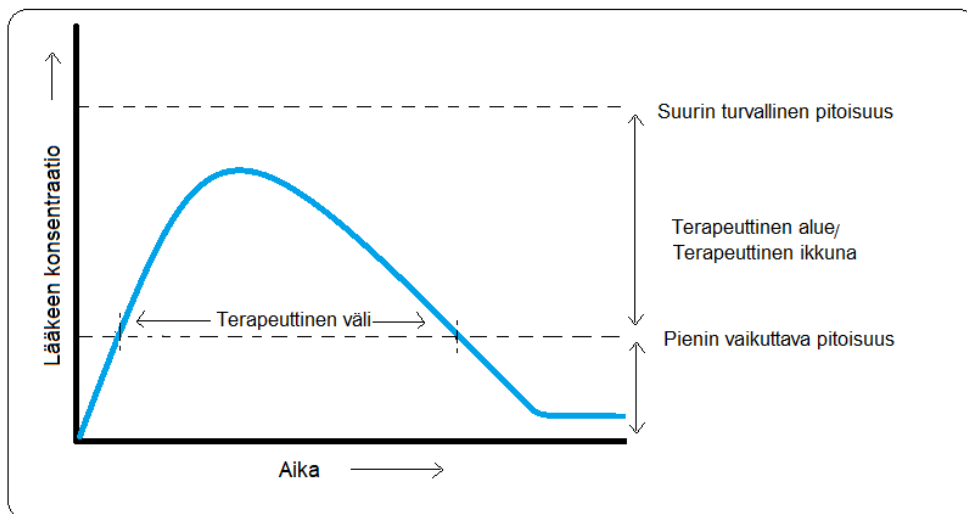
Myös haavanhoitotuotteissa on kiinnostuttu pintamodifioidun bakteriselluloosan mahdollisuuksista havaita patogeeneja ja endogeeniset entsyymit, jotka saattavat haitata paranemista [4]. Biomolekyylien sitoutuminen bakteriselluloosaan edellyttää usein pinnan hapettumista ja ulkopuolista funktionaalisten ryhmien aktivaatiota. Haasteena on saavuttaa riittävä pinnan aktiivisuus biomolekyylien sitoutumiselle. [40] Nanoselluloosan korkea hydrofiilisyyden edesauttaa epäspesifistä sidosten muodostumista, joka on edellytyksenä biomolekyylien sitoutumiselle. Karboksyyli-ryhmillä pintamodifioitu selluloosa on negatiivisesti varautunut, mikä mahdollistaa positiivisesti varautuneiden biopartikkelien havaitsemisen. [41]

Yksi haaste nanoselluloosan käytössä diagnostiikassa on sen huokoisuus, kuitenkin selluloosan johdannaisista nitroselluloosa on pidetty potentiaalisena materiaalivaihtoehtona. Senkin käytössä on joitain haasteita, kuten hyvin vahva taipumus reagoida proteiinien kanssa sekä suhteellisen matala lujuus. Tämän kaltainen bakteriselluloosan käyttö ei ole vielä kovin yleistä, eikä kaupallisia ratkaisuja vielä oikeastaan ole. [41]

3.5 Lääkkeiden kuljettaminen ja jakelu

Selluloosaa ja sen kemiallisesti muokattuja versioita on tutkittu lääkkeissä, jotka vaativat kontrolloitua vapauttamista kohdealueella. Selluloosamateriaaleja on tutkittu myös täyteaineena, esimerkiksi estämään kristallisoitumista. Luonnon selluloosan kyky varastoida lääkkeitä on huomattavan alhainen, mutta nanopartikkeleiksi prosessoitua selluloosaa on kuitenkin hyödynnetty muun muassa syöpälääkkeissä. Aikaisemmin esimerkiksi selluloosa-asetaattia on käytetty FDA:n (Food and Drug Administration) hyväksymissä lääkkeissä ja tuotteissa, kuten HIV-lääkkeissä, kipulääkkeissä ja antibiooteissa. [42] Nanoselluloosaa on hyödynnetty muun muassa hydrogeelinä ja erilaisina kalvoina [2].

Lääkemäärää, joka kulkeutuu kohdesoluille, on tärkeää pystyä kontrolloimaan jollakin tapaa. Lääkeaineita annostellessa on erityisen tärkeää pysyä terapeutin ikkunan (Kuva 13.) sisäpuolella. Terapeutin ikkuna kuvaa sitä ainemäärää, jolla lääke tehoaa aiheuttamatta sivuoireita tai äärimmäisessä tapauksessa myrkyllisyyttä. Jos lääkeainetta saadaan käyttöön liian vähän, on lääke tehoton. Liian suurilla määrillä taas sivuoireiden riski kasvaa. Se, miten lääkeaineen olisi hyvä vapautua, on täysin riippuvainen siitä mihin kyseistä lääkettä käytetään. Yleisesti, olisi parempi, jos lääkeaine vapautuisi mahdollisimman tasaisesti, mutta esimerkiksi särkylääkkeissä nopea vapautuminen on jopa toivottua, jotta kipua saadaan lievitettyä mahdollisimman nopeasti. Vapautumiskäyttäytymiseen voidaan vaikuttaa muun muassa käytettävällä materiaalilla, sekä sen prosessoinnilla. Myös se miten lääkeaine on sidottu tai kapseloitu materiaaliin vaikuttaa vapautumisnopeuteen ja käyttäytymiseen. [43]



Kuva 13 Lääkkeen terapeutin ikkuna, jossa lääkkeen konsentraatio on esitetty ajan funktiona [44]

Lääkkeissä selluloosan käytössä etuna on sen hajoaminen pieniksi myrkyttömiksi osiksi, jotka poistuvat kehosta sen nesteiden mukana, kehon läpäiseminen on näin ollen turvallista. Selluloosan bioadheesiivisten ominaisuuksien vuoksi sitä on käytetty myös täyte- ja sideaineena lääkkeissä. [2] Selluloosan käytön haasteena on kuitenkin sen vahva taipumus sitoutua proteiineihin. Etuna, sekä haasteena voidaan nähdä myös nanoselluloosan hydrofiilisyyttä sekä pinnan negatiivinen varaus riippuen kapseloitavista aineista. Kuitenkin käytännöllisenä selluloosayhdisteenä lääkkeiden jakelun kannalta on pidetty hydroksyyli-metyyliselluloosaa. Sen funktionaalisia ryhmiä on modifioitu, jotta saadaan aikaiseksi optimaalinen yhdiste lääkemiselle. [42]

Selluloosananokiteita (CNC) on yhdistetty polyetyylietyleenifosfaatin (PEEP) kanssa saaden aikaan CNC-g-PEEP nanokiteitä, joihin voidaan kapseloida usein syöpähoitossa käytettyä lääkettä nimeltä doksorubisiini [45]. Kapseloinnilla saadaan suojattua lääkeainetta kehon fysiologisilta ominaisuuksilta ja vältettyä tarpeeton reagointi kehosta. Kehon eri osissa on hieman erilaiset ominaisuudet ja usein nämä lääkekapselit on valmistettu niin, että ne hajoavat tehokkaimmin tietyissä olosuhteissa tai tietyssä ajassa ihmiskehossa ympäristön vaikutuksesta. Lääke voidaan näin vapauttaa kontrolloidusti kohdesoluihin. Nanopartikkeliksi prosessointi lisää huomattavasti lääkeaineiden kykyä läpäistä erilaisia kehon esteitä matkalla kohdesoluihin. [2] Nanoselluloosakiteitä voidaan hyödyntää pitkäaikaisessa ja jatkuvassa lääkkeenjakeleussa. Nanoselluloosaa on tutkittu lääkkeiden täyteaineena. Erityisesti nanoselluloosan säikeistä rakennetta on hyödynnetty huokoisen materiaalin tuotannossa, jota voidaan käyttää sisäkerroksena kapseloidessa lääkeainetta. [45] Nanoselluloosan on huomattu pidentävän huomattavasti lääkkeen vapautumisaikaa [46].

Yksi isoimmista haasteista suunkautta nautittavien lääkkeiden kohdalla on nimenomaan muuttuvat pH-olosuhteet. Ruuansulatuselimistön pH-vaikutus alkaa jo suusta. Suunkautta nautittavat lääkkeet kohtaavat matkalla useita pilkkovia entsyymejä, kuten amylaasi sekä pepsiini. Syljessä esiintyvä amylaasi entsyymi pilkkoo herkästi hiilihydraatteja pienemmiksi glukoosiyhdisteiksi, Pepsiini vatsassa taas pilkkoo tehokkaimmin valkuaisaineita aminohapoiksi. Lääkkeet hajoavat usein pH:n vaikutuksesta, joten nanoselluloosaa on käytetty hidastamaan pH-vastetta. Päälystämällä lääke polymeerikalvolla, lääkeaine saadaan kuljetettua kohdesoluille asti ennen kuin se vapautuu. [2, 47]

Nanoselluloosan käytön haasteena on mahdolliset reaktiot nanoselluloosan ja lääkeaineen välillä. Usein reaktiot muuttavat lääkeaineen aktiivisuutta ja rakennetta. Reaktioiden seurauksena saattaa syntyä äärimmäisessä tapauksessa myrkyllisiäkin yhdisteitä.

Kehon muuttuvat olosuhteet voivat vaikuttaa yllättävästi reaktiivisuuteen. Joissain tapauksissa nanoselluloosan pinnan varauksen on huomattu myös kiihdyttävän lääkkeen hajoamista, esimerkiksi aspiriinin kanssa. Pinnan varaus ja nanoselluloosan taipumus muodostaa sidoksia ympäröivien biomolekyylien kanssa tuo myös omat haasteensa. Usein pinnan funktionaalisten ryhmien modifioinnilla voidaan ehkäistä tämän tyyppiset ongelmat. [2, 42]

4. YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Nanoselluloosa on pidetty lupaavana kustannustehokkaana ratkaisuna lääketieteen puolella. Sen mekaanisia, fysikaalisia ja kemiallisia ominaisuuksia on mahdollista muokata sovelluskohteen mukaan, mutta sen kaupallinen käyttö on kuitenkin vielä hyvin rajattua. Lääketieteessä nanoselluloosafibrillejä ja nanokristalleja on useimmiten käytetty komposiittimateriaaleissa, monessa sovelluksessa näitä on lähes mahdoton käyttää sellaisenaan. [4, 19] Lääketieteen sovellukset keskittyvät tällä hetkellä lähinnä bakteeriselluloosan käyttöön [2]. Haasteita, joita bakteeriselluloosankin kanssa tullaan vielä kohtaamaan ovat muun muassa suhteellisen korkeat tuotantokustannukset sekä hidas tuotanto, bakteeriselluloosan biosynteesin ymmärtäminen ja ongelmat liittyen tuotteiden markkinoille saattamiseen sekä klinisiin tutkimuksiin [24]. Taulukossa 1 on esitetty yhteenveto nanoselluloosamateriaalien käytöstä työssä esitetyissä sovelluksissa.

Taulukko 1. Yhteenveto nanoselluloosamateriaaleista lääketieteessä

Sovellus	Edut	Isoimmat haasteet	Kaupalliset tuotteet
Haavanhoito ja antibakteeriset tuotteet	Nanoselluloosa ei yleisesti allergisoi tai aiheuta tulehduksia puhtautensa ansiosta, nopeuttaa paranemista	Tuotteen rakenteen säilyttäminen, riittävän antibakteerisuuden saavuttaminen	Useita kaupallisia Sovelluksia, esimerkiksi Bionext®, Xcell®, Membracell®, BloodSTOP®
Kudosteknologia	Bioyhteensopivuus, edullinen verrattuna useisiin muihin materiaaleihin, helppo prosessoida oikeaan muotoon	Tuotteen rakenteen säilyttäminen sekä oikeanlaisen huokoisuuden saavuttaminen, jotta soluille saadaan tarjottua optimaalinen kasvualusta	Ei kaupallisia ratkaisuja
Keinotekoiset verisuonet	Helppo prosessointi, oikea pinnankarheus	Materiaalin rakenteen säilyminen veren muuttuvien virtausten aikana.	Joitakin kaupallisia sovelluksia, esimerkiksi BASYC®
Bakteeriselluloosapohjaiset diagnosointilaitteet	Edullisuus verrattuna aikaisempiin esimerkiksi entsyymipohjaisiin ratkaisuihin	Selluloosananomateriaalien reagoiminen esimerkiksi proteiinien ja patogeenien kanssa	Ei kaupallisia tuotteita
Lääkkeiden kuljetus ja jakelu	Myrkyttömät hajoamistuotteet ja materiaalin stabiilius	Selluloosananomateriaalien reagoiminen lääkeaineiden ja ympäröivien molekyylien kanssa	Ei puhtaan nanoselluloosan käytölle

Eniten bakteeriselluloosaa on hyödynnetty kaupallisesti haavanhoitotuotteissa, kuten Bionext®, Membracell®, Xcell® ja BloodSTOP® [4, 19]. Tulevaisuudessa nanoselluloosa on nähty potentiaalisena materiaalina älykkäisiin ihosiirteisiin sekä haavojen korjaamisiin. Bakteeriselluloosapohjaisista materiaaleista on kaavailtu muun muassa älykäästä haavasidosta, joka pystyisi tunnistamaan patogeeneja. Bakteeriselluloosaa on pidetty myös mahdollisena materiaalina silmän haavojen ja tulehduksien hoitoon. [2] Lähitulevaisuudessa nanoselluloosaa on kaavailtu lääketeollisuudessa kohdistettuun lääkkeen jakeluun sekä stabilisoimaan ja muuttamaan biomolekyylien ja entsyymien aktiivisuutta [4].

Nanoselluloosa itsessään ei omaa juurikaan antibakteerisia ominaisuuksia. Mutta yhtenä suurena etuna bakteerinanoselluloosan käytössä on pidetty sitä, että nanoselluloosan käyttö aiheuttaa huomattavasti vähemmän hylkimisreaktioita kehossa verrattuna muihin materiaaleihin. Etenkin bakteeriselluloosa on harvemmin allergisoivaa, sillä se ei sisällä proteiineja tai muitakaan eläinperäisiä yhdisteitä, jotka voisivat aiheuttaa hylkimistä. Lisäksi materiaali on luonnonperäistä, eikä se sisällä keholle myrkyllisiä yhdisteitä. [4]

Lääketieteen sovelluksissa, yksi iso haaste on se, että bakteerinanoselluloosa ei liukene veteen. Bakteerinanoselluloosalla on erittäin vahvat vetysidokset polymeeriketjujen välillä sekä lisäksi molekyylien sisäiset voimat, jotka tekevät selluloosan rakenteesta stabiilin. Prosessoinnin kannalta yksi haaste on korkea lämmönsietokyky. Sulamispisteen puuttuminen rajoittaa lämmön avulla muovattavien prosessien käytön, kuten sulaekstruusion. [24] Bakteeriselluloosan prosessoinnissa hyödynnetäänkin useimmin kemiallisia reaktioita ja liuotinpohjaisia tekniikoita. [4]

Kudosteknologian sovelluksissa bakteeriselluloosaa on tutkittu useissa erilaisissa sovelluksissa. Bakteerinanoselluloosa on huokoinen materiaali ja tämä edistää solujen tarttumista pinnalle sekä proliferaatiota kudosteknologian sovelluksissa, materiaali tarjoaa suotuisan kasvualustan soluille. Useimmin nanoselluloosan huokokset ovat kuitenkin melko pieniä. [2, 4] Luukudossovelluksissa hyödynnetäänkin usein mikrohuokoista selluloosaa [9]. Huokosten kokoa voidaan kuitenkin suurentaa käsittelyillä, kuten kylmäkuivauksella. Menetelmä on kohtalaisen kustannustehokas eikä lisää näin ollen merkittävästi nanoselluloosan materiaalikustannuksia. [22]

Yksi tulevaisuuden kehityskohteista voisi olla myös nanoselluloosan funktionaalisten ryhmien tehokkaampi modifiointi. Nyt materiaalia on hyödynnetty useimmissa sovelluksissa lähinnä komposiittimateriaalina. Tuotteet olisi mahdollista saada vielä kustannus-
tehokkaammiksi käyttämällä selluloosaa sellaisenaan. Laajimmin nanoselluloosan eri muodoista lääketieteessä on hyödynnetty bakteeriselluloosa, sen tuottaminen on kuitenkin melko hidasta. Jos luonnosta ja eläimistä eristetty selluloosamateriaali saataisiin prosessoitua yhtä puhtaaksi kuin bakteeriselluloosa, voitaisiin päästä yli nanoselluloosan hitaasta tuotannosta.

Nanoselluloosaa on viime aikoina yritetty myös eristää kierrätysmateriaaleista, mutta tämä ei ole lääketieteen suunnalla tuottanut tulosta. Bakteeriselluloosan tuottaminen laajassa tuotannon mittakaavassa on myös yksi tulevaisuuden kehityskohteista. [48] Kierrätyskulttuurin ja kestäväen kehityksen ollessa hyvin vahvasti pinnalla, prosessit varmasti kehittyvät tulevien vuosien aikana ja toivottavasti tulevaisuudessa voitaisi hyödyntää esimerkiksi kierrätyskuituja haavatuotteiden valmistuksessa. Bioyhteensopivuus, puhtaus ja lääketieteen tuotteiden tarkka valvonta tuovat tietysti oman haasteensa tähän. [2]

LÄHTEET

- [1] H. Kangas, Opas selluloosananomateriaaleihin, VTT Technical Research Centre of Finland, 2014, saatavissa: <https://www.vtt.fi/inf/pdf/technology/2014/T199.pdf>
- [2] N. Ling, A. Dufresne, Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect, *European Polymer Journal*, Vol 59, 2014, pp. 302-325. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.07.025>
- [3] M. Jorfi, E. J. Foster, Recent advances in nanocellulose for biomedical applications, *Journal of applied polymer science*, Vol. 132, 2014, <https://doi-org.lib-proxy.tuni.fi/10.1002/app.41719>
- [4] G. F. Picheth, Cleverton Luiz Pirich, Maria Rita Sierakowski, et al. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review, in: *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol 104, 2017, pp. 97-106, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171>
- [5] Cellulose, Wikipedia, otettu 04/2020, haettu osoitteesta: <https://en.wikipedia.org/wiki/Cellulose>
- [6] D. Lin, Patricia Lopez-Sanchez, Rui Li and Zhixi Li. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source, in: *Bioresource Technology*, Vol. 151, 2014, pp. 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.052>
- [7] S. Ritter, Lignocellulose: A complex biomaterial. *Chemical & Engineering, News [Verkkolehti]*. Vol. 86: 15., 2018, Saatavissa: <https://cen.acs.org/articles/86/i49/Lignocellulose-Complex-Biomaterial.html>
- [8] D. Klem, F. Kramer, S. Moritz, T. Lindström, M. Ankerfors, D. Gray, A. Dorris, Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials, *A journal of the German chemical society*, Vol 50, pp. 5438–5466, 2011, <https://doi.org/10.1002/anie.201001273>
- [9] M. Zaborowska, Aase Bodin, Henrik Bäckdahl, Jenni Popp, Aaron Goldstein and Paul Gatenholm. Microporous bacterial cellulose as a potential scaffold for bone regeneration, in: *Acta Biomaterialia*, Vol. 6, 2010, pp. 2540-2547. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.01.004>
- [10] M. Widom, G. D. Mahan, Liquid crystals, *Encyclopædia Britannica, inc.*, 2019, saatavissa: <https://www.britannica.com/science/liquid-crystal>
- [11] D. Klemm, Dieter Schumann, Ulrike Udhardt and Silvia Marsch. Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery, in: *Progress in Polymer Science*, Vol. 26 2001, pp. 1561-1603. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00021-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00021-1).
- [12] W. Czaja, Alina Krystynowicz, Stanislaw Bielecki and R. Malcolm Brown. Microbial cellulose—the natural power to heal wounds, in: *Biomaterials*, Vol. 27, 2006, pp. 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.07.035>.

- [13] M. Shoda & Y. Sugano, Recent advances in bacterial cellulose production, *Biotechnol, Bioproc. Eng.* 10, 2005, pp. 1–8.
- [14] R. Curvello, Vikram Singh Raghuwanshi and Gil Garnier. Engineering nanocellulose hydrogels for biomedical applications, in: *Advances in Colloid and Interface Science*, 267 2019, pp. 47-61, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.03.002>.
- [15] Solunetti, otettu 03/2020, haettu osoitteesta: <http://www.solunetti.fi/fi/histologia/iho/>
- [16] H. Luo, Ruitao Cha, Juanjuan Li, Wenshuai Hao, Yan Zhang and Fengshan Zhou. Advances in tissue engineering of nanocellulose-based scaffolds: A review, in: *Carbohydrate Polymers*, 224 2019, pp. 115144. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115144>.
- [17] Fibriini, Terveyskirjasto, otettu 04/2020, haettu osoitteesta: https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=Ilt00850
- [18] O. Portal, W. A. Clark, D. J. Levinson, Microbial cellulose wound dressing in the treatment of nonhealing lower extremity ulcers, Department of Medicine, Michael Reese Hospital, 2009, pp. 1-3, <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-59149093470&origin=inward&txGid=4f976ae09208247807bea10d3a254f26>
- [19] BloodSTOP ® https://www.mills.fi/tuote/bloodstop/?gclid=EAlaIQob-ChMlovGPpcPa5QIVSM-yCh2Wagj1EAAYASAAEgKANvD_BwE
- [20] 100% Survival-rate in Laceration Tests: BloodSTOP iX Battle Matrix Hemostatic Wound-care, Life Science plus, 2015, haettu osoitteesta: <https://www.officer.com/tactical/ems-hazmat/first-aid-kits-supplies/product/12083261/life-science-plus-bloodstop-ix-battle-matrix>
- [21] H. Luo, Ruitao Cha, Juanjuan Li, Wenshuai Hao, Yan Zhang and Fengshan Zhou. Advances in tissue engineering of nanocellulose-based scaffolds: A review, in: *Carbohydrate Polymers*, 224 2019, pp. 115144. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115144>.
- [22] M. Favi, R. Benson, N. Neilsen, R. Hammonds, C. Bates, C. Stepens, M. Dhar Cell proliferation, viability, and in vitro differentiation of equine mesenchymal stem cells seeded on bacterial cellulose hydrogel scaffolds, in: *Materials Science and Engineering: C*, 2013, pp. 1935-1944. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.12.100>
- [23] R. J. Hickey, A. E. Pelling, Cellulose biomaterials for tissue engineering, *Frontiers in bio-engineering and biotechnology*, 2019, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00045>
- [24] C. Sharma and Nishi K. Bhardwaj. Bacterial nanocellulose: Present status, biomedical applications and future perspectives, in: *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 104, 2019, pp. 109-963. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109963>.
- [25] Terveyskylä, otettu 03/2020, haettu osoitteesta: <https://www.terveyskyla.fi/nivel-talo/mihin-sattuu/polvi/polven-vammat/nivelkierukan-repe%C3%A4m%C3%A4>

- [26] A. Bodin, S. Concaro, M. Brittberg, p. Gatenholm, Bacterial cellulose as a potential meniscus implant, *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, Vol. 1, 2007, pp.406-408, <https://doi-org.libproxy.tuni.fi/10.1002/term.51>
- [27] A. Al-Sabah, Stephanie E. A. Burnell, Irina N. Simoes, et al. Structural and mechanical characterization of crosslinked and sterilised nanocellulose-based hydrogels for cartilage tissue engineering, in: *Carbohydrate Polymers*, Vol. 212 2019, pp. 242-251. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.057>.
- [28] Kumbar et al., Cellulose and Collagen Derived Micro-Nano Structured Scaffolds for Bone Tissue Engineering, Vol. 9, pp. 719-731, *Journal of biomedical nanotechnology*, 2013, <https://doi-org.libproxy.tuni.fi/10.1166/jbn.2013.1574>
- [29] Näkövammaisten liitto ry, otettu 04/2020, saatavissa: <https://www.nkl.fi/fi/etusivu/nakeminen/rakenne>
- [30] Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri, otettu 04/2020, Saatavilla: <https://www.hus.fi/sairaanhoito/sairaalat/silma-korvasairaala/silmataudit/silmapankki/sarveiskalvo/Sivut/default.aspx>
- [31] R. V. Bellamkonda, S. B. Pai, P. Reunaud, *Materials for neural interfaces*, Published online: Cambridge university press, vol 37, 2012, pp. 557-561, <https://doi.org/10.1557/mrs.2012.122>
- [32] V. S. Polikov, Patrick A. Tresco and William M. Reichert. Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes, in: *Journal of Neuroscience Methods*, Vol. 148, 2005, pp. 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.08.015>.
- [33] Y. Takehana, A. Yamanda, M. Tamori, T. Motokawa, Softenin, a Novel Protein That Softens the Connective Tissue of Sea Cucumbers through Inhibiting Interaction between Collagen Fibrils, 2014, 10.1371/journal.pone.0085644
- [34] T. Motokawa, Effects of ionic environment on viscosity of Triton-extracted catch connective tissue of a sea cucumber body wall, vol 109, pp. 614-622 [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(94\)90124-4](https://doi.org/10.1016/0305-0491(94)90124-4)
- [35] F. Thurmond, J. Trotter, Morphology and biomechanics of the microfibrillar network of sea cucumber dermis, *Journal of Experimental biology*, pp. 1817-1828, 1996
- [36] Thrombogenicity, 2020, <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/thrombogenicity>
- [37] R. E. Klabunde, Turbulent flow, *Cardiovascular physiology concepts*, 2016, <https://www.cvphysiology.com/Hemodynamics/H007>
- [38] E. Brown, D. Hu, N. Lail, X. Zhang, Potential of Nanocrystalline Cellulose–Fibrin Nanocomposites for Artificial Vascular Graft Applications, *Bioproducts*, Science and Engineering Laboratory, Voiland School of Chemical Engineering and Bioengineering, Washington State University, Washington, 2012, <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/bm3019467>
- [39] D. Klemm, Dieter Schumann, Ulrike Udhardt and Silvia Marsch. Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery, in: *Progress in*

Polymer Science, Vol. 26 2001, pp. 1561-1603. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00021-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00021-1).

- [40] C. L. Pirich, Rilton Alves de Freitas, Roberto Manuel Torresi, Guilherme Fadel Picheth and Maria Rita Sierakowski. Piezoelectric immunochip coated with thin films of bacterial cellulose nanocrystals for dengue detection, in: *Biosensors and Bioelectronics*, Vol. 92 2017, pp. 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.068>.
- [41] H. Orelma, E. Filpponen, L. S. Johansson, M. Österberg, J. Orlando, J. Laine, Surface Functionalized Nanofibrillar Cellulose (NFC) Film as a Platform for Immunoassays and Diagnostics, Vol. 7, 61 2012, <https://doi.org/10.1007/s13758-012-0061-7>
- [42] M. Tran, C. Wang. Semi-solid materials for controlled drug formulation: Current status and future prospects, Higher Education Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Vol.8, 2014, pp. 225-232, DOI 10.1007/s11705-014-1429-7
- [43] K. Watanabe, S. Kuramitsu, A. D. Posey Jr., C. H. June, Expanding the therapeutic window for CAR T cell therapy in solid tumors: The knowns and unknowns of CAR T cell biology, *Frontiers in immunology*, 2018, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02486>
- [44] Clinzencinicaltrial, 02/2020, muokattu osoitteesta: <http://clinzencinicaltrial.blogspot.com/2013/07/whats-therapeutic-window-of-your-drug.html>
- [45] V. Gopinath, S. Saravanan, A. R. Al-Maleki, M. Ramesh and Jamuna Vadivelu. A review of natural polysaccharides for drug delivery applications: Special focus on cellulose, starch and glycogen, in: *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 107 2018, pp. 96-108. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.136>.
- [46] L. Huang, X. Chen, T. X. Nguyen, H. Tang, L. Zhang, G. Yang, Nano-cellulose 3D-networks as controlled-release drug carrier, *Journal of Materials Chemistry B*, , 2013, <https://doi.org/10.1039/C3TB20149J>
- [47] Solunetti, otettu 2/2020, haettu osoitteesta: <http://www.solunetti.fi/fi/histologia/ruuansulatus/>
- [48] V. Revin, E. Liyaskina. M. Nazarkina, A. Bogatyreva, M. Shchankin, Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products, *Brazilian journal of microbiology*, Vol. 49, 2018, pp. 151-159, DOI: 10.1016/j.bjm.2017.12.012