

ساخت کانال هدایت عصبی بر پایه گرافن سه بعدی/پلیمر برای کاربرد در مهندسی بافت عصب

ندا بهرمندی طلوع^{۱*}، حمیدرضا سلیمی جزی^۱، مهشید خرازیها^۱، نیکلا لیزی^۲، جولیاننا فاگیو^۳ و السیو تامبورانو^۴

۱- دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- ENEA، آژانس ملی انرژی ایتالیا، رم، ایتالیا

۳- دپارتمان مهندسی اطلاعات، فراساختارها و انرژی های نو، رگیو کالابریا، ایتالیا

۴- دانشکده مهندسی برق و انرژی، دانشگاه ساپینزا، رم، ایتالیا

(دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۵/۱۵ - دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۹/۲/۳)

چکیده- در سال های اخیر گرافن به دلیل خواص منحصر به فردی چون هدایت الکتریکی بسیار بالا، استحکام مکانیکی بالا، ساختار متخلخل برای تبادل مواد مغذی و مواد زائد، زیست سازگاری، امکان بارگذاری دارو، متغیرهای رشد و ... در مهندسی بافت های مختلف از جمله در ساخت کانال هدایت عصبی مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، ساخت کانال هدایت عصبی بر پایه گرافن سه بعدی به روش رسوب شیمیایی بخار با گرمایش القایی (ICVD) دنبال شد. گرافن در دمای ۱۰۸۰ درجه سانتی گراد روی فوم نیکلی سنتز و نمونه ها با استفاده از آنالیز رامان و میکروسکوپ الکترونی روبشی مشخصه یابی شدند. آنالیز رامان نمونه ها نشان داد که گرافن سنتز شده به صورت گرافن چندلایه توربو استراتیک با عیب های بسیار کم است. به منظور حذف نیکل از سایکلودودکان به عنوان لایه محافظ استفاده شد. بعد از حذف نیکل، گرافن سه بعدی به دست آمده با استفاده از روش قطره ای و غوطه وری در محلول پلیمری پلی کاپرولاکتون پوشش داده و کانال هدایت عصبی به صورت کامپوزیتی از گرافن سه بعدی در هسته و پوشش پلیمری پلی کاپرولاکتون ساخته شد. مقایسه خواص الکترومکانیکی کانال هدایت کامپوزیتی با کانال پلیمری پلی کاپرولاکتون نشان داد که ابتدا حضور گرافن سه بعدی باعث افزایش هدایت الکتریکی کانال هدایت کامپوزیتی شده و انتظار می رود که این امر بهبود فرایند ترمیم عصب و رشد آکسون ها را به دنبال داشته باشد. سپس استحکام مکانیکی و انعطاف پذیری آن در مقایسه با کانال هدایت پلی کاپرولاکتون افزایش یافته است.

واژه های کلیدی: رسوب شیمیایی بخار (CVD)، گرافن سه بعدی، کانال هدایت عصبی، پلی کاپرولاکتون، پوشش دهی قطره ای، پوشش دهی غوطه وری.

Fabrication of Nerve Guide Conduit Based on 3D Graphene/ Polymer for Nerve Tissue Engineering

N. Bahremandi Tolou^{1*}, H. R. Salimi Jazi¹, M. Kharaziha¹, N. Lisi², G. Faggio³ and A. Tamburrano⁴

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bahremandi.n@gmail.com

- 1- Department of Materials Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
- 2- ENEA Casaccia, Italian National Agency for New Technologies, Energy and Sustainable Economic Development, Rome, Italy.
- 3- Università Mediterranea of Reggio Calabria, Department of Information Engineering, Infrastructure and Sustainable Energy (DIIES), Reggio Calabria, Italy.
- 4- Sapienza University of Rome, Department of Astronautical, Electrical and Energy Engineering, Rome, Italy.

Abstract: In recent years, graphene has been considered in various tissue engineering applications such as nerve guide conduits because of its unique properties such as high electrical and mechanical properties, porous structure for exchange of nutritious and waste materials, biocompatible, capability of drug and growth factor delivery. In the current study, nerve guide conduits based on a 3D graphene were synthesized by induction heating chemical vapor deposition (ICVD). Graphene was synthesized on Ni foam template at 1080 °C. Fabricated samples were characterized by Raman analysis and Scanning Electron Microscopy. Raman analysis showed that the synthesized graphene is in the form of a turbostratic multilayered graphene with little defects. Cyclododecane (CD) as a temporary protective layer was used to remove nickel. After removing nickel, the free-standing 3D-graphene structure was coated with a polymer (PCL) by drop and dip coating methods to obtain the composite conduit. A comparison of the electromechanical results of the 3D-graphene/PCL conduit and PCL conduit indicated that firstly, graphene increased the electrical conductivity of the composite conduit which will help promote nerve regeneration and axon growth. Secondly, tensile strength and flexibility of the 3D-graphene/PCL conduit was improved compared to the PCL conduit.

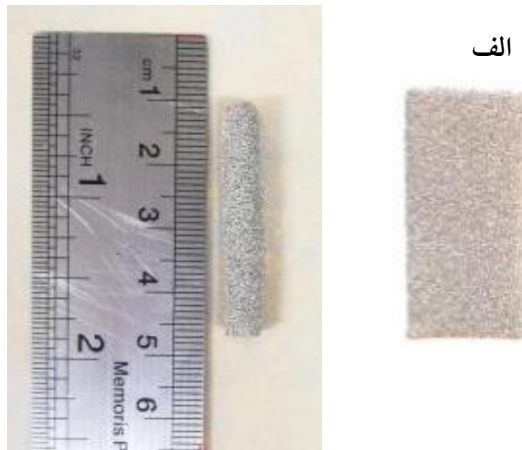
Keywords: Chemical vapor deposition (CVD), 3D-Graphene, Nerve guide conduit, PCL, Drop coating, Dip coating.

۱- مقدمه

یکی از روش‌های ترمیم اعصاب آسیب‌دیده استفاده از کانال هدایت عصبی است و همچنان تلاش برای بهینه‌سازی کانال‌های عصبی موجود با استفاده از اصلاحات ساختاری کانال، بهبود ماده و استفاده از افزودنی‌هایی مثل سلول‌های شوآن و فاکتورهای رشد ادامه دارد. یکی از مواد جدید که قابلیت بالایی برای استفاده در ساخت کانال هدایت عصبی دارد، گرافن است. گرافن به دلیل خواص منحصر به فردی چون هدایت الکتریکی بسیار بالا، استحکام مکانیکی بالا، ساختار متخلخل برای تبادل مواد مغذی و مواد زائد، زیست‌سازگاری، امکان بارگذاری دارو، فاکتورهای رشد، سلول‌های بنیادی و... در سال‌های اخیر در مهندسی بافت‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است [۱-۳]. از این‌رو استفاده از گرافن و مشتقاتش در مهندسی بافت عصب دنبال شد [۴-۶]. همچنین ساخت کانال هدایت عصبی حاوی گرافن مورد توجه قرار گرفت [۷] و [۸]. جکوز و همکاران، پولک‌های گرافنی^۱ را به کوپلیمر پلی‌لاکتیکو گلیکولیک اسید (PLGA)^۲ اضافه کرده و یک زیست-جوهر برای پرینت سه‌بعدی کانال هدایت عصبی تهیه کردند. آنها گزارش کردند که کامپوزیت حاوی ۶۰ درصد حجمی از پولک‌های گرافن بهترین عملکرد را داشته و بالاترین

هدایت الکتریکی، انعطاف‌پذیری، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری و همچنین فعالیت نئورولوژیکی خوبی دارد [۸]. کوین و همکاران از روش پوشش‌دهی لایه با لایه^۳ برای ساخت کانال هدایت گرافن سه‌بعدی از محلول‌های حاوی پولک‌های گرافن و پلی‌کاپرولاکتون (PCL)^۴ و نیز محلول پلی‌گلیکولیک اسید/ پلی‌دوپامین (PGA/PDA)^۵ استفاده کردند. آنها گزارش کردند که داربست گرافن سه‌بعدی هادی می‌تواند به میزان قابل توجهی رشد عصب‌ها را در شرایط درون‌تنی^۶ و برون‌تنی^۷ تحت تأثیر قرار دهد [۷].

اما در تحقیقات انجام شده تاکنون، گرافن به صورت یک جزء افزودنی در ساخت کانال مورد توجه قرار گرفته است. نکته گفتنی این است که زمانی که پولک‌های گرافن به‌طور رندوم درون زمینه توزیع می‌شوند، هدایت الکتریکی کامپوزیت حاصل، به شدت به نفوذ الکترون بین ورقه‌های گرافن جداگانه بستگی دارد. اگر تعداد این پولک‌های گرافنی کم باشد، کامپوزیت هدایت الکتریکی کمی دارند. در مقابل به دلیل اینکه الکترون می‌تواند به سرعت از طریق شبکه به هم متصل فوم گرافنی با کیفیت بالا حرکت کند، هدایت الکتریکی و سرعت انتقال الکترون در گرافن سه‌بعدی بالا است [۹-۱۱]. از میان روش‌های سنتز ساختارهای سه‌بعدی گرافنی، روش رسوب



شکل ۱- فوم نیکل: الف) به صورت مسطح و ب) به صورت رول شده برای ساخت کانال هدایت عصبی

موقت استفاده شد. علت انتخاب این ماده حذف راحت CD با گرمایش در دمای پایین و همچنین عدم حضور باقی مانده این ماده در سطح نمونه است [۱۵]. بعد از حذف نیکل و به دست آمدن گرافن سه بعدی خودایستا، نمونه با استفاده از روش پوشش دهی قطره ای و غوطه وری در محلول پلیمری پلی کاپرولاکتون پوشش دهی شد و کانال هدایت عصبی به صورت کامپوزیت گرافن سه بعدی / پلیمر به دست آمد.

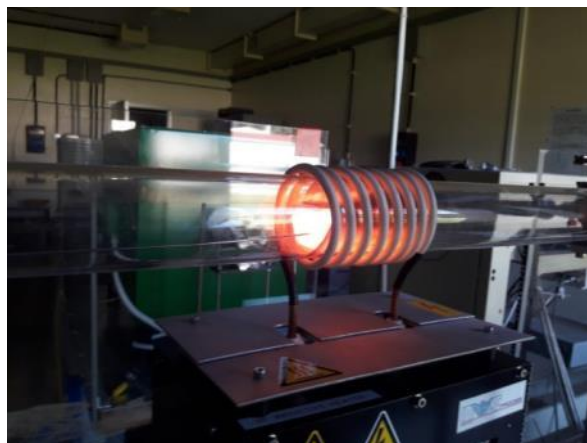
۲- مواد و روش تحقیق

۲-۱- مواد اولیه و تجهیزات مورد استفاده

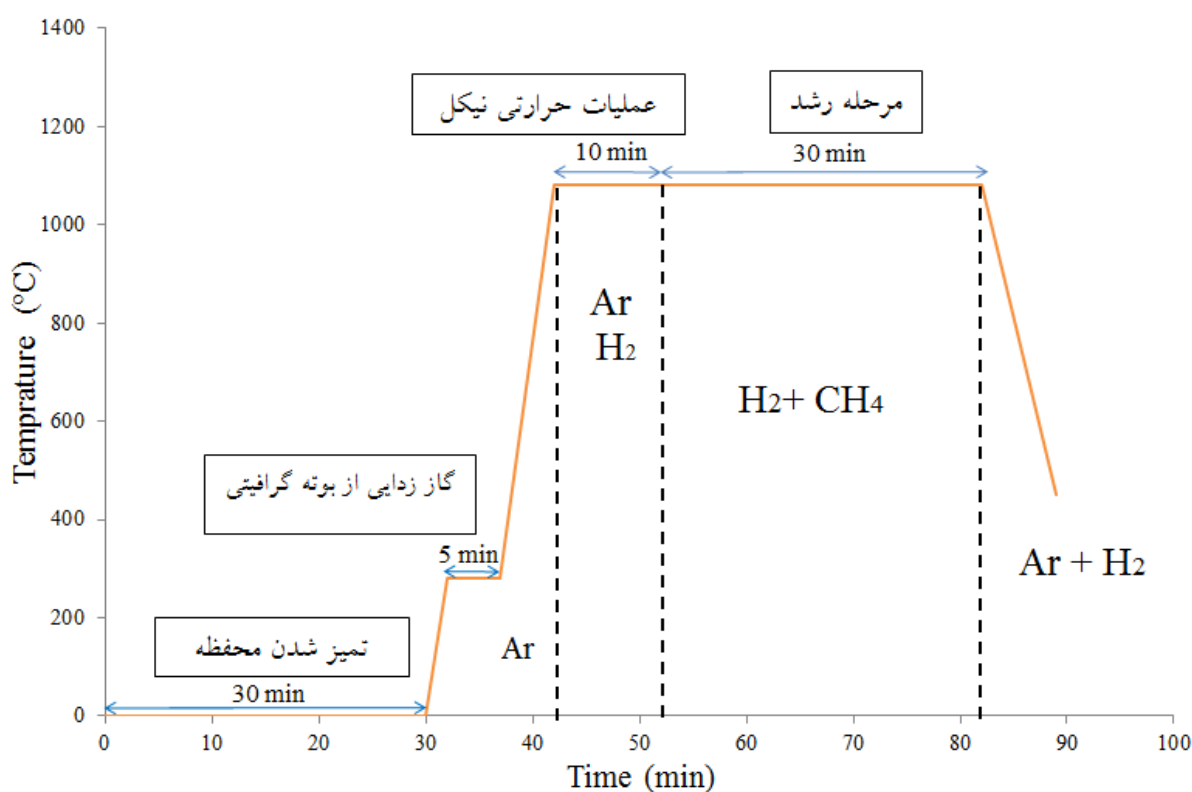
در این پژوهش، از فوم نیکل به عنوان الگو برای سنتز گرافن سه بعدی استفاده شد. فوم نیکل با ضخامت ۱/۵ میلی متر و چگالی سطحی ۳۲۰ گرم بر مترمربع ($>99/8$ ، ۱۳۰ PPI، شرکت Henzen، چین) به تکه هایی مستطیل شکل بریده (شکل ۱- الف) و سپس به صورت یک لوله توخالی آماده شد (شکل ۱- ب). برای سنتز گرافن از دستگاه رسوب شیمیایی بخار با سیستم گرمایشی القایی (ICVD) استفاده شد که تصویر آن در شکل (۲) نشان داده شده است. نمونه ها درون بشری از اتانول قرار گرفتند و به مدت ۱۵ دقیقه اولتراسونیک شده و در نهایت بعد از خشک شدن درون بوتله گرافیتی برای ورود در دستگاه ICVD قرار داده شدند.

شیمیایی بخار^۸ (CVD) به دلیل قابلیت تولید انبوه، هزینه پایین تولید و تولید گرافن با کیفیت بالا مورد توجه زیادی قرار گرفته است [۴، ۱۲ و ۱۳]. با توجه به موارد گفته شده و نظر به اینکه فوم گرافنی ساخته شده به روش CVD تاکنون برای ساخت کانال هدایت عصبی مورد استفاده قرار نگرفته است، در این پژوهش ساخت کانال هدایت عصبی بر پایه گرافن سه بعدی با روش CVD مدنظر قرار گرفت. اما چالش استفاده از فوم گرافن حاصل از CVD، قابلیت کار با دست و قابلیت جابه جایی کم آن است. بدین منظور، استفاده از یک پوشش پلیمری زیست تخریب پذیر پیشنهاد شد. از میان پلیمرهای استفاده شده در ساخت کانال هدایت عصبی، پلیمر PCL به دلیل زیست تخریب پذیری، زیست سازگاری، راحتی در استفاده و هزینه پایین انتخاب شد. همچنین انجمن غذا و دارو آمریکا^۹ (FDA) استفاده از این ماده را برای ترمیم بافت های سخت و نرم تأیید کرده است [۱۴].

در این پژوهش، ساخت کانال هدایت عصبی بر پایه گرافن سه بعدی دنبال شد. گرافن سه بعدی با روش رسوب شیمیایی بخار با گرمایش القایی^{۱۰} (ICVD) روی فوم نیکلی سنتز شد. در مرحله حذف نیکل به منظور حفظ ساختار سه بعدی گرافن سنتز شده، بایستی از یک ماده محافظ استفاده شود. در اکثر تحقیقات از پلی متیل متاکریلات^{۱۱} (PMMA) استفاده می شود [۱۱]. اما در این پژوهش از سایکلودوکسان^{۱۲} (CD) به عنوان این لایه محافظ



شکل ۲- تصویر دستگاه ICVD



شکل ۳- منحنی دما- زمان برای سنتز گرافن با ICVD

۲-۲ سنتز گرافن سه بعدی

ابتدا نمونه‌ها درون بوتنه گرافیتی گذاشته شد و سپس بوتنه درون لوله کوارتزی قرار گرفت. پمپ روتاری و سپس پمپ توربو مولکولار برای تمیز کردن محفظه از آلودگی‌ها به مدت ۲۰ دقیقه روشن می‌شوند. در نهایت پمپ توربو خاموش شده و فقط روتاری کار می‌کند. بعد از آن فرایند رشد گرافن طبق منحنی

دما- زمان در شکل (۳) دنبال شد. جدول (۱) پارامترهای بهینه رشد گرافن را نشان می‌دهد.

۳-۲ استخراج گرافن سه بعدی

مهم‌ترین و پرچالش‌ترین مرحله ساخت کانال هدایت عصبی بر پایه گرافن سه بعدی/ پلیمر، مرحله استخراج گرافن و حذف

جدول ۱- پارامترهای سنتز گرافن با ICVD

کد نمونه	دبی کربن (متان) (مترمکعب بر دقیقه)	دمای رشد (درجه سانتی‌گراد)	فشار (میلی بار)	دبی هیدروژن (مترمکعب بر دقیقه)	زمان رشد (دقیقه)
CH-1080	۷	۱۰۸۰	۶	۱۴	۳۰

۲-۴- ساخت کامپوزیت گرافن سه‌بعدی / پلیمر

به‌منظور ساخت کامپوزیت فوم گرافن / پلیمر از دو روش پوشش‌دهی قطره‌ای و غوطه‌وری برای ساخت کامپوزیت استفاده شد. ابتدا فوم گرافن خودایستای به‌دست آمده از مرحله قبل با استفاده از محلول پلی‌کاپرولاکتون یک درصد وزنی به‌صورت قطره‌ای پوشش‌دهی شد. این روش برای فوم گرافنی دم‌پایین که تعداد لایه‌های گرافن کمی داشت، قابل استفاده نبود زیرا فوم از محل فرود قطره پاره می‌شد. اما برای دماهای بالاتر امکان پوشش‌دهی قطره‌ای بود. از آنجا که بعد از یک‌بار پوشش‌دهی قطره‌ای نمونه استحکام کافی نداشت، فرایند کلی به این صورت پیش رفت که ابتدا یک مرحله پوشش‌دهی قطره‌ای داشته باشیم و سپس پوشش‌دهی مرحله دوم با روش قطره‌ای یا با غوطه‌وری در محلول دوم (پنج درصد وزنی پلی‌کاپرولاکتون) دنبال شود. نمونه یک ساعت بعد از خشک شدن در هوا، درون خشک‌کن در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا به‌طور کامل خشک شود.

همچنین به‌منظور مقایسه خواص کامپوزیت ساخته شده با خود پلی‌کاپرولاکتون، با استفاده از فوم نیکلی داربستی از پلی‌کاپرولاکتون (بدون گرافن) ساخته شد. فوم نیکلی بعد از شستشو و اولتراسونیک در اتانول، درون محلول پنج درصد وزنی پلی‌کاپرولاکتون غوطه‌ور شد و پس از خشک شدن و تبخیر حلال، مراحل استخراج و حذف نیکل با قرار دادن نمونه در محلول‌های FeCl_3 و HCl انجام شد. جدول (۲) کد نمونه‌های ساخته شده را نشان می‌دهد.

۲-۵- مشخصه‌یابی گرافن سه‌بعدی و کامپوزیت گرافن

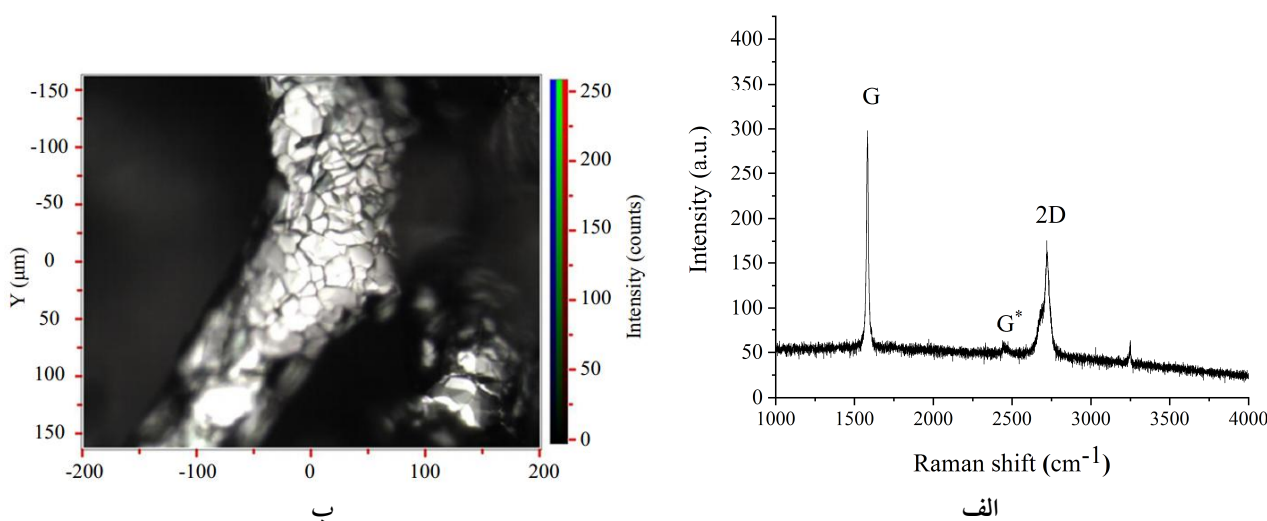
سه‌بعدی / پلی‌کاپرولاکتون

از آنالیز رامان به‌منظور بررسی ساختاری گرافن سه‌بعدی سنتز

نیکل بود به‌طوری که ساختار گرافن سه‌بعدی حفظ شود. در این مرحله نمونه که شامل زیرلایه نیکلی و پوشش گرافنی هست درون محلول اچ نیکل (محلول کلرید آهن (FeCl_3) یا اسید کلریدریک (HCl) و یا ترکیبی از این دو محلول) فرو برده می‌شود. برای حفظ ساختار گرافن نیاز به استفاده از یک لایه واسطه است که لایه محافظ نامیده می‌شود. در مقالات از پلیمرهای مختلف و به‌خصوص از پلی‌متیل متاکریلات (PMMA) استفاده می‌کنند [۱۱]. در این پژوهش از سایکلودودکان $(\text{C}_{12}\text{H}_{24})$ استفاده شد. سایکلودودکان (CD) یک هیدروکربن چرخه‌ای ^{13}C است غیرسمی و آلی دوستدار محیط در دمای اتاق جامد بوده، چگالی پایین (حدود ۸۲ گرم بر سانتی‌متر مکعب در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد) داشته و فشار بخار بالا (حدود ۳۳/۱ کیلو پاسکال در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) دارد. این ماده در دمای ۶۰/۷ درجه سانتی‌گراد ذوب می‌شود درحالی که نقطه جوش آن ۲۴۷ درجه است. به‌دلیل این خصوصیات، سایکلودودکان وقتی در معرض هوا قرار می‌گیرد به‌طور کامل تبخیر می‌شود [۱۵]. در این پژوهش، نمونه‌ها پس از سنتز درون محلول سایکلودودکان در دی‌کلرومتان، فرو برده شد و سپس در هات‌پلیت قرار گرفت تا حلال آن تبخیر شود. در نهایت درون محلول FeCl_3 (۱۰ درصد وزنی) غوطه‌ور شدند. بعد از حذف نیکل، نمونه‌ها از محلول بیرون آورده، با آب مقطر شسته شد و سپس درون محلول HCl (۱۰ درصد وزنی) به‌مدت یک ساعت قرار داده می‌شوند تا آهن احتمالی روی سطح نمونه‌ها حذف شود. سپس نمونه‌ها از محلول HCl خارج شده و بعد از شستن با آب مقطر درون خشک‌کن در دمای ۴۰ درجه به‌مدت یک شبانه‌روز قرار می‌گیرند. در این مرحله فوم گرافن خودایستا^{۱۴} به‌دست می‌آید.

جدول ۲- کد نمونه‌های کانال هدایت عصبی

کد نمونه	روش ساخت	ترکیب محلول PCL
Drop-1080	پوشش دهی قطره‌ای فوم گرافن خودایستا- دو بار پوشش دهی	دو درصد وزنی
Drop & dip-1080	پوشش دهی قطره‌ای / غوطه‌وری فوم گرافن خودایستا	قطره‌ای: دو درصد وزنی غوطه‌وری: پنج درصد وزنی
PCL scaffold	پوشش دهی غوطه‌وری	پنج درصد وزنی پلی کاپرولاکتون در دی کلرومتان



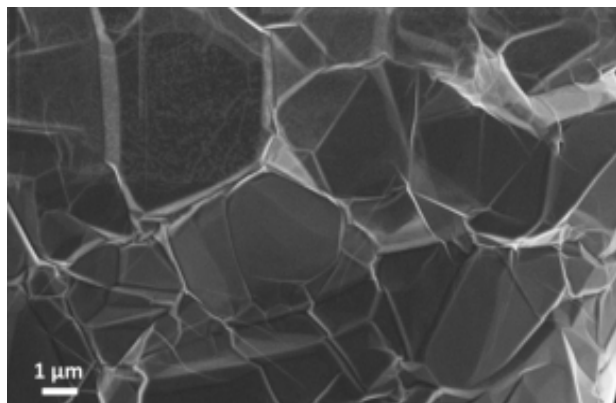
شکل ۴- الف) آنالیز رامان و ب) تصویر میکروسکوپی نوری از گرافن سنتز شده روی فوم نیکل در دمای ۱۰۸۰ درجه سانتی‌گراد

نمونه‌های کانال هدایت (به صورت تیوبی شکل) از دستگاه Instron 3366 استفاده و برای نگه‌داشتن نمونه‌ها دو فک تفلونی طراحی شد. نمونه‌هایی با طول 35 ± 2 میلی‌متر و قطر خارجی $3/5$ میلی‌متر تهیه شد و با استفاده از دو پیچ فلزی بین دو فک تفلونی قرار گرفت. سرعت حرکت فک دستگاه یک میلی‌متر بر دقیقه بود. مقاومت الکتریکی نمونه‌ها همزمان با اعمال نیرو اندازه‌گیری شد و نتایج به صورت منحنی تنش- کرنش و همچنین مقاومت- کرنش به دست آمد.

۳- نتایج و بحث

گرافن سه‌بعدی سنتز شده با آنالیز رامان و میکروسکوپ الکترونی روبشی^{۱۶} مورد ارزیابی قرار گرفتند. شکل (۴) تصاویر میکروسکوپی و نیز طیف رامان نمونه CH-1080 را نشان

شده استفاده شد. همچنین این آنالیز می‌تواند به صورت کمی تعداد لایه‌ها و نقص‌های ساختاری آنها را نشان دهد. در این پژوهش از دستگاه رامان HORIBA Scientific LabRAM HR که مجهز به میکروسکوپ Olympus BX41 بود، استفاده شد. طول موج لیزر استفاده شده ۵۳۲ نانومتر است. لیزر روی سطح نمونه روی نقطه‌ای به طول یک میکرومتر با بزرگنمایی ۱۰۰ متمرکز شد. برای مطالعه ساختار، بررسی مورفولوژی و تعیین اندازه تخلخل‌های نمونه‌های فوم گرافن خودایستا و نمونه‌های کامپوزیتی از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی^{۱۵} ساخت شرکت Zeiss کشور آلمان Gemini-LEO 1530, (Equipped to Inlense) استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری تخلخل‌ها از نرم‌افزار Image J استفاده شد. به منظور ارزیابی رفتار مکانیکی و همچنین الکتریکی



ب



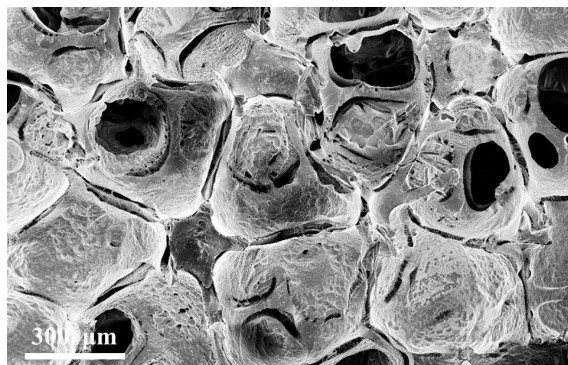
الف

شکل ۵- تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی نشر میدانی از گرافن سنتز شده روی فوم نیکل در دمای ۱۰۸۰ درجه سانتی‌گراد در بزرگنمایی‌های مختلف

یک شیفت (حدود ۲۰ بر سانتی‌متر) به سمت مقادیر بالاتر دارد. طیف رامان نمونه CH-1080 شامل باندهای G و 2D هستند و هیچ نشانی از باند D وجود ندارد. شدت باند D به‌طور مستقیم به عیب‌های نمونه نسبت داده می‌شود [۱۸ و ۲۲]. این نشان می‌دهد که گرافن تشکیل شده از عیب‌های کمی برخوردار بوده و درجه بلورینگی بالایی دارد. همچنین نسبت I_{2D}/I_G پهنا در نیمه ماکزیمم ارتفاع (FWHM) برای نمونه CH-1080 به ترتیب، ۰/۴۹ و ۷۲ است. بنابراین شدت قله‌های 2D بیشتر از قله G و همچنین FWHM بزرگ‌تری نسبت به گرافن تک‌لایه (حدود ۳۰ بر سانتی‌متر) دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که یک ساختار گرافیتی با گرافن چندلایه بدون هیچ نظم انباشتگی بین لایه‌های مجاور وجود دارد و به‌طور کلی می‌توان گفت نمونه‌ها حاوی ذرات گرافن چندلایه توربواستراتیک هستند [۲۱]. همان‌طور که از منحنی‌های رامان مشاهده می‌شود، قله 2D وجود نداشته و این نشان می‌دهد که عیب‌های ساختاری در این دما بسیار کم و کریستالیت گرافن سنتز شده بالا است [۲۳].

تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی گسیل میدانی گرافن رشد داده شده روی فوم نیکلی (تصویرگیری بدون حذف زیرلایه نیکلی انجام شد) در شکل (۵) نشان داده شده است. مکانیزم تشکیل گرافن روی زیرلایه نیکلی، مکانیزم رسوب و جدایش سطحی طی سرد شدن است. نیکل از جمله فلزاتی

می‌دهد. منحنی رامان گرافن، دو قله مشخص و مجزا دارد: قله G (۱۵۸۷ بر سانتی‌متر) و 2D (۲۷۰۰ بر سانتی‌متر) که موقعیت قله‌ها، عرض و ارتفاع می‌تواند برای ارزیابی و شناسایی مواد مختلف استفاده شود [۳، ۱۶ و ۱۷]. در لایه‌های گرافنی بی‌نظم و همراه عیب، برخی از باندهای دیگر مثل باند D (۱۳۵۰ بر سانتی‌متر)، D' (۱۶۲۰ بر سانتی‌متر)، G^* (۲۴۵۰ بر سانتی‌متر) [۱۸ و ۱۹] و D (۲۹۵۰ بر سانتی‌متر) [۲۰] نیز ایجاد می‌شود [۲۱]. اطلاعات مفیدی می‌تواند از قله‌های طیف رامان گرافن به‌دست آید [۱۸ و ۲۲]. نسبت شدت قله‌های G به 2D برای گرافن تک‌لایه حدود دو و برای گرافن چندلایه کمتر از یک است. همچنین پهنا در نیمه ماکزیمم ارتفاع (FWHM)، موقعیت، شدت و شکل قله 2D پارامترهای مهم برای مشخصه‌یابی لایه‌های گرافن و نظم انباشتگی در امتداد محور C در ساختار گرافیتی است [۱۸، ۲۱ و ۲۲]. گزارش شده است وقتی از متان برای سنتز گرافن استفاده می‌شود نسبت I_{2D}/I_G اغلب بین ۰/۵ تا یک به ترتیب برای گرافن کم‌لایه تا گرافن چندلایه بسته به موقعیت آنالیز رامان روی نمونه فوم گرافن است. این پدیده به رسوب ترجیحی اتم‌های کربن در مرز دانه‌های زیرلایه نیکل پلی‌کریستال نسبت داده می‌شود و در این محل‌ها تعداد لایه‌های بیشتری از گرافن تشکیل می‌شود [۱۳]. لازم به‌ذکر است که موقعیت قله 2D در گرافن توربواستراتیک^{۱۷}



شکل ۶- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی از داربست پلی کاپرولاکتون در بزرگنمایی‌های مختلف

پلیمری هم تخلخل میکرومتری دارد و هم خود شاخه‌های ساختار سه‌بعدی پلیمری به دلیل حذف نیکل توخالی هستند. از این رو انتظار می‌رود که از نظر ویژگی انتقال مواد مغذی و اکسیژن و ... به خوبی عمل کند. شکل (۷) تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی گسیل میدانی از سطح داخلی نمونه Drop-1080 که دو مرتبه به صورت قطره‌ای پوشش داده شده است را نشان می‌دهد. ساختار گرافن سه‌بعدی کاملاً مشخص است و پلیمر داخل برخی حفرات و سطح شاخه‌های گرافنی را پوشانده است. تخلخل‌های ناشی از تبخیر حلال از سطح پلیمر نیز قابل مشاهده است.

شکل (۸) تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی گسیل میدانی نمونه Drop& dip -1080 را که با روش قطره‌ای و غوطه‌وری ساخته شده است نشان می‌دهد. مشخص است که پلیمر بخش عمده‌ای از نمونه را پوشانده و تنها در محل تخلخل‌ها، گرافن قابل مشاهده است. خواص مکانیکی و الکتریکی کانال هدایت ساخته شده نیز مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات زیادی هست که خصوصیات بیومکانیکی عصب‌ها را مورد ارزیابی قرار داده است. اما نتایج اکثر این مطالعات از یکدیگر متفاوت هستند که علت آن بررسی عصب‌های مختلف، روش‌های جراحی و عوامل دارویی متفاوتی است که استفاده می‌شود [۲۵]. در واقع مقادیر خواص مکانیکی بسته به نوع عصب، نوع حیوان و حتی خصوصیات بیولوژیکی حیوان مورد نظر مثل سن و جنس، تغییر می‌کند چرا که در هر مورد اجزای ماتریکس برون سلولی (ECM) ^{۱۷} یعنی

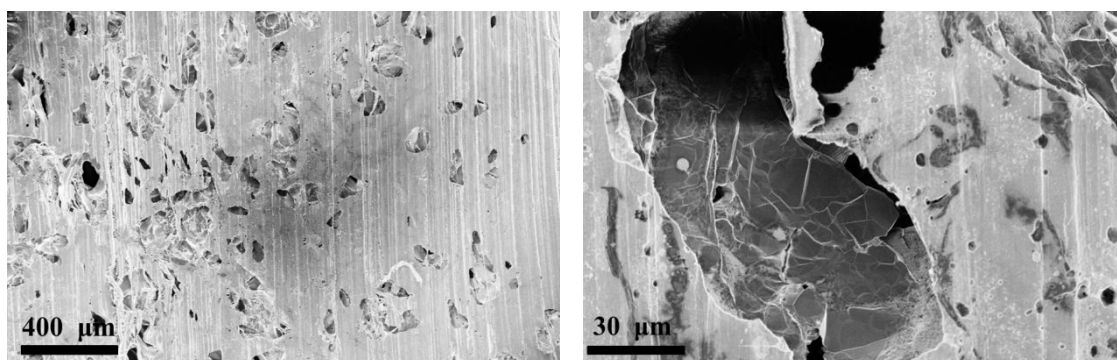
است که قابلیت انحلال کربن در آن بالا است بنابراین در مرحله رشد متان روی زیرلایه نیکلی طبق معادله (۱) تجزیه شده و کربن به درون حجم نیکل نفوذ می‌کند. طی مرحله سرد شدن، کربن حل شده از حجم به سطح نیکل آمده و تشکیل لایه گرافنی را می‌دهد. تحقیقات نشان داده که در نیکل پلی کریستال در مکان مرزخانه‌ها و عیب‌ها تعداد لایه گرافن بیشتری تشکیل می‌شود و محدوده‌ای از تعداد لایه‌های گرافنی وجود دارد. در سنتز گرافن روی نیکل پلی کریستال، پوشش به‌طور کامل یکنواخت نیست و در برخی مناطق تعداد لایه‌های گرافن بیشتر است. به‌طور عمومی این مناطق مرزخانه‌ها یا محل برخورد دانه‌ها هستند [۱۳]. همچنین چین و چروک‌هایی روی سطح نمونه مشاهده می‌شود (شکل ۵-ب) که گزارش شده است چروکیدگی و ترک‌های ایجاد شده روی سطح به دلیل اختلاف ضریب انبساط حرارتی بین زیرلایه نیکلی و گرافن تشکیل شده است [۱۳].



شکل (۶) تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی گسیل میدانی داربست پلیمری ساخته شده را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود ساختار داربست پلیمری همانند ساختار فوم نیکلی است که داخل برخی از حفرات با پلیمر پر و یا نیمه‌پر شده است و برخی از حفرات نیز خالی باقی مانده‌اند. قبلاً کانال هدایت از پلی کاپرولاکتون با روش‌هایی مثل الکتروریسی، قالب‌گیری تزریقی و ... ساخته شده است [۲۴]. اما با استفاده از فوم نیکلی به‌عنوان الگو این کار انجام نشده بود. این داربست



شکل ۷- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی گسیل میدانی از نمونه Drop-1080



شکل ۸- تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی گسیل میدانی نمونه Drop & dip -1080

فوم گرافن خودایستا در حالت فشاری و کششی به ترتیب دارای مدول یانگ حدود $1/2$ مگاپاسکال و 339 کیلوپاسکال و استحکام نهایی در حالت کششی برابر $4/8$ کیلوپاسکال است و فوم در حالت فشاری بهتر عمل می‌کند. همچنین گزارش کرد که استحکام فوم در کشش به دلیل هم‌راستا شدن شاخه‌های گرافنی است که شاخه‌ها را قادر می‌سازد که از خصوصیات صفحه‌ای گرافن استفاده کند [۲۷]. علاوه بر این رفتار کششی فوم گرافن نشان داد که شکست فوم گرافن در یک صفحه ۴۵ درجه رخ می‌دهد. این دلالت می‌کند که فوم گرافن ساختار پیوسته‌ای دارد که می‌تواند نیروها را از طریق کل فوم انتقال دهد [۷]. اما مشاهده شد که به‌علت عیب در ساختار فوم گرافن مثل شاخه‌های گرافن ترک خورده و ورقه‌های گرافنی ناپیوسته،

کلاژن و الاستین تغییر کرده و خواص عصب تغییر خواهد کرد [۲۶]. در جدول (۳) مقادیر پارامترهای مکانیکی اندازه‌گیری شده برای عصب‌های حیوانات مختلف در چندین پژوهش، خواص مکانیکی فوم گرافن خودایستا ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود مقادیر خواص مکانیکی برای دو عصب متفاوت از یک حیوان (خوک) و همچنین یک عصب از دو حیوان مختلف (مثل خوک و موش صحرائی)، متفاوت است. تحقیقات نشان داده است که خواص مکانیکی عصب خوک به عصب انسان نزدیک‌تر است؛ بنابراین مقایسه داده‌ها با عصب خوک منطقی است [۲۶].

خواص مکانیکی فوم گرافن خودایستا نیز در جدول (۳) ارائه شده است. نتایج تحقیقات نایتو و همکاران نشان داد که

جدول ۳- خصوصیات مکانیکی چند عصب در حیوانات مختلف و گرافن سه بعدی

شماره	نوع عصب / ماده	مدول یا نگ (مگاپاسکال)	استحکام کششی نهایی (مگاپاسکال)	کرنش در شکست	نوع حیوان	مقاومت الکتریکی (اهم)	مرجع
۱	Peroneal	۷/۷۵ ± ۱/۲۶	۱/۲۳ ± ۰/۱۳	۰/۲۳ ± ۰/۰۸	خوک	-	[۲۶]
۲	Tibial	۷/۴۳ ± ۱/۶۹	۰/۸۷ ± ۰/۲۹	۰/۱۶ ± ۰/۰۵	خوک	-	[۲۶]
۳	Fresh sciatic nerves	۰/۵۸	۲/۷	۰/۸۱	موش صحرائی	-	[۳۰]
۴	Acellular sciatic nerves	۰/۵۷	۱/۴	۰/۴۸	موش صحرائی	-	[۳۰]
۵	sciatic nerve	۱/۷	۰/۸۴ ± ۰/۱	۰/۶۰ ± ۰/۰۲	خرگوش	-	[۲۵]
۶	گرافن سه بعدی خودایستا	۰/۳۴	۰/۰۰۴۸	۰/۰۵	-	-	[۲۷]

Drop & dip-1080 افزایش می‌یابد. بنابراین می‌توان گفت تخلخل مهم‌ترین عامل در تعیین خواص مکانیکی کانال‌های هدایت ساخته شده است به طوری که کاهش درصد تخلخل نمونه‌های کامپوزیتی، باعث افزایش قابل توجهی در خواص مکانیکی (افزایش استحکام کششی نهایی از ۰/۰۶ مگاپاسکال برای کانال پلی‌کاپرولاکتون به حدود ۱/۸ مگاپاسکال برای نمونه‌های کامپوزیتی) می‌شود.

مقایسه خواص مکانیکی کانال‌های کامپوزیتی ساخته شده با عصب خوک (که در جدول ۳ گزارش شده است) نشان می‌دهد که کانال‌های هدایت کامپوزیتی برای کاربرد به عنوان کانال هدایت عصبی خواص مکانیکی قابل قبولی دارند. نمونه Drop & dip که با روش قطره‌ای و غوطه‌وری ساخته شده است، قابلیت کار با دست بیشتری دارد. این نمونه به راحتی خم شده و با پیچی بریده می‌شود. بنابراین می‌توان یک کانال هدایت با طول زیاد را بسته به نیاز به کانال‌هایی با طول‌های کوچک‌تر برید.

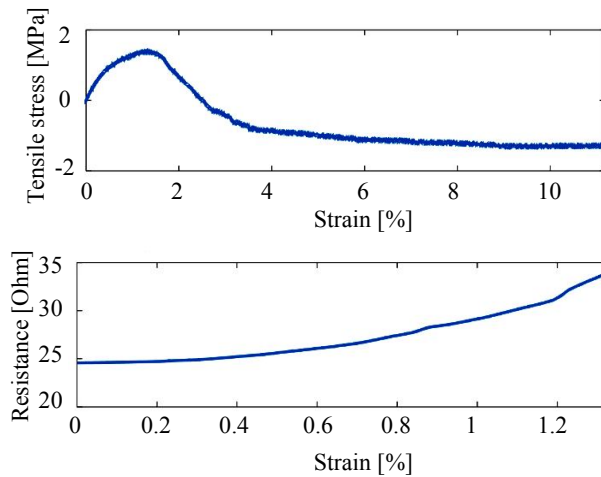
مقادیر مقاومت الکتریکی برای هر کدام از نمونه‌های ساخته شده در این پژوهش نیز در جدول (۴) ارائه شده است. کانال هدایت ساخته شده از پلی‌کاپرولاکتون (بدون گرافن سه بعدی)، هیچ‌گونه هدایت الکتریکی ندارد اما کانال‌های هدایت کامپوزیتی ساخته شده هادی هستند. مقاومت الکتریکی کانال هدایت ساخته شده برای نمونه پوشش داده شده با روش

فقط بخش کوچکی از شاخه‌های گرافنی بارها را تحمل می‌کنند. ساخت یک ساختار فوم گرافن که عیب‌های کمتر داشته باشد منجر به تحمل بار بیشتر توسط شاخه‌ها شده و بنابراین خصوصیات مکانیکی گرافن سه بعدی را افزایش می‌دهد [۲۷]. همچنین انتقال بار در امتداد شاخه‌های به هم متصل و سرهای فوم گرافنی، علاوه بر مدول الاستیک صفحه‌ای بالای آن، می‌تواند استحکام کششی نهایی کامپوزیت‌های زمینه پلیمری را افزایش دهد. بنابراین شبکه فوم گرافنی اجازه انحراف ترک را داده و نتیجه افزایش تافنس شکست مواد کامپوزیتی بر پایه فوم گرافن است [۲۸]. با توجه به این تحقیقات انجام شده مشخص است که فوم گرافن خودایستا به تنهایی استحکام کمی دارد چرا که ساختار هندسی فوم گرافنی کرنش محدودی را تحمل می‌کند و خصوصیات مکانیکی آن بایستی با کامپوزیت‌سازی با پلیمر تقویت شود [۲۹].

جدول (۴)، خواص مکانیکی و الکتریکی نمونه‌های ساخته شده در این پژوهش را به همراه درصد تخلخل نمونه‌ها نشان می‌دهد. کانال پلی‌کاپرولاکتون ۶۲/۵ درصد تخلخل دارد در حالی که درصد تخلخل نمونه‌های کامپوزیتی Drop-1080 و Drop & dip-1080 به ترتیب به ۴۵/۵ و ۱۵ درصد کاهش می‌یابد. همچنین مدول یا نگ نمونه‌های ساخته شده از ۰/۶۲ مگاپاسکال برای کانال پلی‌کاپرولاکتون به ۲/۷۲ و ۳/۹۰ مگاپاسکال به ترتیب برای کانال‌های کامپوزیتی Drop-1080 و

جدول ۴- خصوصیات مکانیکی و الکتریکی کانال‌های هدایت کامپوزیتی ساخته شده

کد نمونه	مدول یانگ (مگاپاسکال)	استحکام کششی نهایی (مگاپاسکال)	کرنش در شکست	درصد تخلخل	مقاومت الکتریکی (اهم)
PCL scaffold	۰/۶۲	۰/۰۶	۰/۱۱	۶۲/۵ ± ۳/۸	Over load
Drop-1080	۲/۷۲	۱/۸۵	۳	۴۵/۵ ± ۰/۵	۳۲
Drop & dip-1080	۳/۹۰	۱/۸۰	۲	۱۵ ± ۵	۲۵



شکل ۹- الف) منحنی تنش-کرنش و ب) منحنی مقاومت الکتریکی - کرنش Drop-Dip-1080

قطع می‌شود و در نهایت استحکام شروع به کاهش و مقاومت شروع به افزایش می‌کند.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش کانال هدایت عصبی بر پایه گرافن سه‌بعدی سنتز شده با روش رسوب شیمیایی بخار ساخته شد. آنالیز رامان نمونه‌ها نشان داد که گرافن سنتز شده به صورت چندلایه و با عیب بسیار کم است. تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حضور مناطق تیره و روشن که به محدوده تعداد لایه‌های گرافن بستگی دارد را نشان داد. استفاده از پلیمر محافظ سایکلودودکان امکان حذف نیکل بدون آسیب رسیدن به ساختار گرافن سه‌بعدی را فراهم کرد. بررسی خواص کانال‌های هدایت عصبی ساخته شده نشان داد کانال ساخته شده از پلی‌کاپرولاکتون هدایتی ندارد اما کانال‌های ساخته شده از گرافن سه‌بعدی/ پلی‌کاپرولاکتون مقاومت الکتریکی بسیار

قطره‌ای و نمونه پوشش داده شده با روش قطره‌ای/ غوطه‌وری نزدیک به هم است. بنابراین با مقایسه خواص مکانیکی چند عصب ارائه شده در جدول با کانال هدایت ساخته شده می‌توان گفت کانال هدایت ساخته شده بر پایه گرافن سه‌بعدی/ پلیمر با روش قطره‌ای و غوطه‌وری، خصوصیات مکانیکی مناسبی برای استفاده در ترمیم عصب قطع شده دارا است. علاوه بر این حضور گرافن سه‌بعدی در هسته ساختار کانال هدایت عصبی باعث افزایش هدایت الکتریکی شده و انتظار می‌رود بهبود فرایند ترمیم عصب و رشد آکسون‌ها را به دنبال داشته باشد. همچنین شکل (۹) منحنی تنش-کرنش و مقاومت-کرنش را برای نمونه Drop & dip-1080 نشان می‌دهد. با مقایسه روند منحنی‌ها می‌توان گفت در محدوده‌ای که استحکام نمونه شروع به کاهش می‌کند، مقاومت نمونه شروع به افزایش می‌کند. در واقع با اعمال نیروی کششی، شاخه‌های گرافن شروع به جدا شدن از همدیگر کرده و مسیر اعمال نیرو یا حرکت الکترون نیز

۲/۷۲ مگاپاسکال برای کانال‌های کامپوزیتی می‌شود.

تشکر و قدردانی

از صندوق حمایت از پژوهشگران کشور به دلیل حمایت مالی از این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

پایین (حدود ۳۲ اهم) دارند و این نشان می‌دهد حضور گرافن سه‌بعدی باعث افزایش هدایت الکتریکی کانال شده و انتظار می‌رود که این امر بهبود فرایند ترمیم عصب و رشد آکسون‌ها را به دنبال داشته باشد. بررسی خواص مکانیکی نمونه‌ها نشان داد کاهش تخلخل‌ها با ساخت کامپوزیت، منجر به افزایش استحکام کششی نهایی و مدول یانگ به ترتیب از حدود ۰/۰۶ و ۰/۶۲ مگاپاسکال برای کانال پلی‌کاپرولاکتون تا حدود ۱/۸۰ و

واژه‌نامه

1. graphene flakes
2. polylactidoglic acid (PLGA)
3. layer by layer coating
4. polycaprolactone (PCL)
5. polyglycolide acid/Polydopamine (PGA/PDA)
6. in vivo
7. in vitro
8. chemical vapor deposition (CVD)
9. food and drug administration (FDA)
10. induction chemical vapor deposition (ICVD)
11. poly methyl methacrylate (PMMA)
12. Cyclododecane
13. cyclic hydrocarbon
14. free-standing
15. field emission scanning electron microscope (FESEM)
16. scanning electron microscope (SEM)
17. turbostratic

مراجع

1. Kayhan, E., "Graphene: Synthesis, Characterization, Properties and Functional Behavior as Catalyst Support and Gas Sensor", Ms.c Thesis, Department of Chemistry, Technical University of Darmstadt, 2013.
2. Sharon, M., Shinohara, H., and Tiwari, A., *Graphene: An Introduction to the Fundamentals and Industrial Applications*, New Jersey: Wiley, ISBN: 978-1-118-84256-0, 2015.
3. Sharma, D., "Chemical Vapor Deposition of Graphene on a Dielectric Substrate and Its Characterization", MSc Thesis, University of Eastern Finland, Department of Physics and Mathematics, 2012.
4. Li, N., Zhang, Q., Gao, S., Song, Q., Huang, R., Wang, L., Liu, L., Dai, J., Tang, M., and Cheng, G., "Three-Dimensional Graphene Foam as a Biocompatible and Conductive Scaffold for Neural Stem Cells", *Scientific Reports*, Vol. 3, pp. 1-6, 2013.
5. Golafshan, N., Kharaziha, M., and Fathi, M., "Tough and Conductive Hybrid Graphene-PVA: Alginate Fibrous Scaffolds for Engineering Neural Construct", *Carbon*, Vol. 111, pp. 752-763, 2017.
6. Hong, S. W., Lee, J., Kang, S. H., Hwang, E. Y., Hwang, Y. S., Lee, M. H., Han, D. W., and Park, J. C., "Enhanced Neural Cell Adhesion and Neurite Outgrowth on Graphene-Based Biomimetic Substrates", *BioMed Research International*, Vol. 2014, pp. 1-8, 2014.
7. Yuan, W., "An 4?bvcntegrated Multi-Layer 3D-Fabrication of PDA/RGD Coated Graphene Loaded PCL Nanoscaffold for Peripheral Nerve Restoration", *Nature Communications*, Vol. 9, No. 323, pp. 1-16, 2018.
8. Jakus, A. E., Secor, E. B., Rutz, A. L., Jordan, S. W., Hersam, M. -C., and Shah, R. -N., "Three Dimensional Printing of High-Content Graphene Scaffolds for Electronic and Biomedical Applications", *American Chemical Society*, Vol. 9, pp. 4636-4648, 2015.
9. Qin, Z., Jung, G. S., Kang, M. J., and Buehler, M., "The Mechanics and Design of a Lightweight Three-Dimensional Graphene Assembly", *Science Advanced*, Vol. 3, e1601536, 2017.
10. Min, Z., Wen-Long, W., and Xue-Dong, B., "Preparing Three-Dimensional Graphene Architectures: Review of Recent Developments", *Chinese Physics B*, Vol. 22, No. 9, pp. 1-6, 2013.
11. Chen, Z., Ren, W., Gao, L., Liu, B., Pei, S., and Cheng, H. M., "Three-Dimensional Flexible and Conductive Interconnected Graphene Networks Grown by Chemical Vapour Deposition", *Nature Materials*, Vol. 10, pp. 424-428, 2011.
12. Lai, Y. C., Yu, S. C., Rafailov, P. M., Vlaikova, E.,

- Valkov, S., Petrov, S., Koprinarova, J., Terziyska, P., Marinova, V., Lin, S. -H., Yu, P., Chi, G. -C., Dimitrov, D., and Gospodinov, M. M., "Chemical Vapour Deposition Growth of Graphene Layers on Metal Substrates", *Journal of Physics: Conference Series*, Vol. 558, p. e 012059, 2014.
13. Trinsoutrot, P., Vergnes, H., and Causat, B., "Three Dimensional Graphene Synthesis on Nickel Foam by Chemical Vapor Deposition from Ethylene", *Materials Science and Engineering: B*, Vol. 179, pp. 12-16, 2014.
 14. Kehoe, S., Zhang, X. F., and Boyd, D., "FDA Approved Guidance Conduits and Wraps for Peripheral Nerve Injury: A Review of Materials and Efficacy", *Injury*, Vol. 43, pp. 553-572, 2012.
 15. Capasso, A., De Francesco, M., Leoni, E., Dikonimos, T., Buonocore, F., Lancellotti, L., Bobeico, E., Sarto, M. S., Tamburrano, A., De Bellis, G., and Lisi, N., "Cyclododecane as Support Material for Clean and Facile Transfer of Large-Area few-Layer Graphene", *Applied Physics Letters*, Vol. 105, No. 11, p. 113101, 2014.
 16. Tan, A. "Optimization of Chemical Vapor Deposition Grown Graphene", Ph.D. Thesis, Department of Physics, Linfield College, McMinnville, 2014.
 17. Pollard, B., "Growing Graphene via Chemical Vapor Deposition", Ph.D. Thesis, Department of Physics, Pomona College, 2011.
 18. Malard, L. M., Pimenta, M. A., Dresselhaus, G., and Dresselhaus, M. S., "Raman Spectroscopy in Graphene", *Physics Reports*, Vol. 473, No. 5-6, pp. 51-87, 2009.
 19. Ferrari, A. C., "Determination of Bonding in Diamond-Like Carbon by Raman Spectroscopy", *Diamond and Related Materials*, Vol. 11, pp. 1053-1061, 2002.
 20. Hawaldar, R., Merino, P., Correia, M. R., Bdkin, I., Gracio, J., Mendez, J., Martin-Gago, J. A., and Singh, M. K., "Large-Area High-Throughput Synthesis of Monolayer Graphene Sheet by Hot Filament Thermal Chemical Vapor Deposition", *Scientific Reports*, Vol. 2, p. 682, 2012.
 21. Habibi, A., Khoie, A., FarzadMahboubi, S. M. M., and Urgan, M., "Fast Synthesis of Turbostratic Carbon Thin Coating by Cathodic Plasma Electrolysis", *Thin Solid Films*, Vol. 621, pp. 253-258, 2017.
 22. Ferrari, A. C., "Raman Spectroscopy of Graphene and Graphite: Disorder, Electron-Phonon Coupling, Doping and Nonadiabatic Effects", *Solid State Communications*, Vol. 143, No. 1-2, pp. 47-57, 2007.
 23. Calizo, I., Ghosh, S., Bao, W., Miao, F., Ning Lau, C., and Balandin, A. A., "Raman Nanometrology of Graphene: Temperature and Substrate Effects", *Solid State Communications*, Vol. 149, No. 27-28, pp. 1132-1135, 2009.
 24. Arslantunali, D., Dursun, T., Yucel, D., Hasirci, N., and Hasirci, V., "Peripheral Nerve Conduits: Technology Update", *Medical Devices: Evidence and Research*, Vol. 7, pp. 405-524, 2014.
 25. Mekaj, A. Y., Morina, A. A., Lajqi, Sh., Manxhuka-Kerliu, S., Kelmendi, F. -M., and Duci, S. -B., "Biomechanical Properties of the Sciatic Nerve Following Repair: Effects of Topical Application of Hyaluronic Acid or Tacrolimus", *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, Vol. 8, No. 11, pp. 20218-20226, 2015.
 26. Zilic, L., Garner, P. E., Yu, T., Roman, S., Haycock, W. J., and Wilshaw, S -P., "An Anatomical Study of Porcine Peripheral Nerve and Its Potential use in Nerve Tissue Engineering", *Journal of Anatomy*, Vol. 227, pp. 302-314, 2015.
 27. Nieto, A., Boesl, B., and Agarwal, A., "Multi-Scale Intrinsic Deformation Mechanisms of 3D Graphene Foam", *Carbon*, Vol. 85, pp. 299-308, 2015.
 28. Jia, J., Sun, X., Lin, X., Shen, X., Mai, Y. -W., and Kim, J. -K., "Exceptional Electrical Conductivity and Fracture Resistance of 3D Interconnected Graphene Foam/Epoxy Composites", *ACS Nano*, Vol. 8, No. 6, pp. 5774-5783, 2014.
 29. Idowu, A., Boesl, B., and Agarwal, A., "3D Graphene Foam-Reinforced Polymer Composites – A Review", *Carbon*, Vol. 135, pp. 52-71, 2018.
 30. Borschel, H. G., Kia, F. K., Kuzon, M. W., and Dennis, G. R., "Mechanical Properties of Acellular Peripheral Nerve", *Journal of Surgical Research*, Vol. 114, No. 2, pp. 133-139, 2003.