

ТЕХНОЛОГИИ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДИФFUЗНОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Радьков И.В.¹, Лаптев В.В.¹, Плехова Н.Г.¹

¹ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «ТГМУ» Минздрава России), Владивосток, e-mail: vgtmu.nauka@mail.ru

Выполнен анализ литературных источников российских и международных баз литературных данных по проблеме моделирования черепно-мозговой травмы, а именно лёгкой диффузной формы или сотрясения головного мозга на лабораторных животных. Представлены современные технологии выполнения моделей ударного ускорения для индукции сотрясения головного мозга. Дана оценка с позиции биомеханики нанесения сотрясения головного мозга, которые наиболее приемлемы с точки зрения получения черепно-мозговой травмы человеком. Эти способы получения травмы включают комбинированное воздействие на голову силы удара за счёт падения груза и действие инерционных сил за счёт вращения на 180° при свободном падении животного в резервуар. Получаемые в результате выполнения представленной модели повреждения головного мозга животного имеют все основные отличительные признаки, характерные для сотрясения головного мозга человека. Это включает отсутствие макроскопических повреждений мозга (очагов ушиба) и переломов черепа, отсутствие нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера и микроглиоза и отсутствие очаговой симптоматики с превалированием расстройств координации движений и поведения в неврологическом статусе. Данная методика может быть использована для изучения множественных и повторных травм и последствий травмы.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, диффузное аксональное повреждение, сотрясение головного мозга, модели травмы на животных.

TECHNOLOGIES OF MODELING THE DIFFUSE TRAUMATIC BRAIN INJURY

Radkov I.V.¹, Laptev V.V.¹, Plekhova N.G.¹

¹Pacific Medical University, Vladivostok, e-mail: vgtmu.nauka@mail.ru

In this article we analyzed literature sources of Russian and international databases concerning the problem of modeling traumatic brain injury (TBI) and diffuse axonal injury (DAI) in laboratory animals are analyzed. Observing induction of the rodents concussion, the most advantageous are impact acceleration models. These methods use a combined exposure on the head both of the impact force after fall of the weight and the action of inertial forces due to rotation by 180° with the free fall of the animal in the tank. These methods seem to be the most effective in relation to biomechanics of concussion. The resulting trauma has all the distinguishing features of human mild TBI: the absence of macroscopic brain injuries (contusions) and skull fractures, as well as absence of dysfunction of the permeability of blood-brain barrier and microgliosis and absence of focal symptomatology with prevalence of movement coordination disorders and behavior in the neurological status. This technique can be used in the study of multiple and repeated injuries and posttraumatic syndrome.

Keywords: traumatic brain injury, diffuse axonal injury, brain concussion, models of trauma in animals.

Ежегодно в Российской Федерации регистрируются 550-600 тысяч черепно-мозговых травм (ЧМТ), что составляет 386 на 100 тыс. населения в год [1] и значительно превышает количество этих травм в США и Европе [2]. До 90% всех травм приходится на лёгкие формы ЧМТ, ведущую позицию среди которых занимает сотрясение головного мозга (СГМ) [3]. В связи с этим проблема диагностики и эффективной терапии ЧМТ представляет одну из наиболее актуальных проблем современной медицинской науки во всём мире. Несмотря на значительные достижения в исследованиях патогенеза и лечения ЧМТ, многие аспекты недостаточно полно изучены. Одним из спорных вопросов остается целесообразность стационарного лечения при лёгкой форме ЧМТ, особенно это касается пациентов детского

возраста, пожилых пациентов, пациентов в алкогольном опьянении, у которых диагностика заболевания наиболее затруднена. Так, при оценке тяжести на фоне вероятного бессимптомного клинического течения рекомендуется уточнение механизма и обстоятельств ее получения.

Изучение патогенеза СГМ сопряжено с проектированием и использованием новых экспериментальных моделей на животных. В настоящее время разработано множество различных вариантов моделирования черепно-мозговой травмы, однако крайне мало из них соответствуют требованиям для изучения сотрясения головного мозга (СГМ). Прежде всего, это связано с особенностью диффузной травмы у людей, которую довольно сложно воспроизвести в экспериментальных условиях. Кроме того, существует мнение, что термин «диффузное аксональное повреждение» (ДАП), который характеризует специфическое повреждение аксонов преимущественно в области крупных проводящих путей, правомочен только при характеристике ЧМТ у человека или при условии моделирования на крупных животных с относительно большим размером головного мозга [4].

Цель выполнения настоящего обзора - дать представление о наиболее применимых с позиций биомеханики моделей для воспроизведения диффузной лёгкой ЧМТ (СГМ) у животных. Был выполнен анализ литературных источников российских и международных баз данных по проблеме моделирования ЧМТ и лёгкой диффузной ЧМТ (СГМ) на лабораторных животных.

По биомеханике экспериментальные модели нанесения ЧМТ делятся на три основных вида: модель падающего груза, жидкостно-перкуSSIONная и контролируемое корковое повреждение. Модель падающего груза относится к начальному варианту нанесения ЧМТ. Очаговое воздействие на головной мозг животного создается свободно падающим на голову грузом, направляемым в трубке. Возможно воспроизведение травмы различной степени тяжести в зависимости от высоты падения и массы груза при сочетании с краниотомией. Однако есть некоторые ограничения в применении этой модели, например непреднамеренные переломы черепа, риск повторной травмы при отскакивании бойка и неточность места воздействия [5-7].

Жидкостно-перкуSSIONная модель (ЖПМ) является одной из наиболее часто используемых моделей прямого воздействия на головной мозг. Она была признана достоверной для исследования морфологии, патофизиологии и фармакологии ЧМТ на многих видах животных. В этой модели травма наносится действием ударной силы пульсовой волны жидкости на неповреждённую твёрдую мозговую оболочку (ТМО) через трепанационный дефект. Последний производится по средней линии между брегмой и лямбдой или сбоку, чаще в левой теменной области, в поперечном направлении на 4,0 мм от

сагиттального шва. Как правило, центральные и боковые типы этой модели имеют сопоставимую патоморфологическую картину головного мозга, в том числе и повреждение аксонов. Боковая ЖПМ наносит в основном односторонний ушиб, редко с участием контралатеральной коры и ствола мозга, тогда как центральная модель вызывает двусторонние кортикальные повреждения, связанные с прямым осевым движением нижнего отдела ствола. В обеих моделях было подтверждено нарушение церебральной гемодинамики и проницаемости гемато-энцефалического барьера (ГЭБ). Использование этой модели, в особенности её центрального типа, ограничено высокой степенью тяжести травмы и смертностью из-за невозможности контроля повреждения ствола мозга и развития нейrogenного отёка лёгких. По биомеханике эта модель самая далёкая от ЧМТ у человека, а аксональное повреждение в отдаленных структурах, таких как гиппокамп и таламус, по данным исследователей, вероятнее всего, возникает в результате вторичных нейрoхимических реакций [8].

Контролируемое корковое повреждение (ККП) является жесткой перкуссионной моделью, при которой травма обеспечивается воздействием на ТМО механической силы воздуха или металлического поршня. Этот вариант моделирования позволяет более точно контролировать такие параметры, как скорость удара и глубина повреждения, что даёт ей потенциальное преимущество перед ЖПМ. Изменения в результате травмы, такие как нарушения церебральной гемодинамики, повышение внутричерепного давления (ВЧД), уменьшение перфузии мозга, гистологические изменения и неврологические расстройства, связаны с глубиной повреждения и скоростью удара. Патологические изменения, включая диффузную аксональную травму, были обнаружены в белом веществе и мозжечке, внутренней капсуле, таламических ядрах, среднем мозге, стволе и спинном мозге [4-6].

Перечисленные методы моделирования травмы имеют неоспоримое преимущество для изучения очагового повреждения и достаточно точно имитируют ушиб головного мозга в эксперименте. Тем не менее с точки зрения биомеханики нанесения ЧМТ легкой степени эти варианты в должной мере не воспроизводят ДАП и сотрясение мозга. Моделирование диффузной ЧМТ на животных ограничено из-за патофизиологических особенностей ее индукции у человека. ДАП является результатом воздействия на голову не ударной силы, а инерционной линейной и вращательной силы ускорения/замедления, при которой размер мозга человека имеет решающее значение [9]. Во время быстрого ускорения, под действием собственного веса мозг большой массы растягивается и разрывается. Те же самые силы, применяемые к мозгу меньшего размера, будут вызывать меньшие деформации с меньшей степенью повреждения [10-12]. Соответственно, на животных параметры повреждений головного мозга должны быть увеличены по сравнению с его размером, для того чтобы

воспроизвести в полной мере механическую нагрузку, характерную для ЧМТ у человека [13; 14]. Например, для индукции тех же параметров, ведущих к тяжёлой форме ДАП у людей, для мозга бабуина, весом 140 г, ускорение должно быть увеличено на 500%, для головного мозга свиньи, весом 90 г - на 630% [15-17]. Это условие масштабирования параметров травмы в соответствии с размером мозга создало дискуссию относительно валидации моделей вращательного ускорения головы у мелких животных, в первую очередь грызунов. Действительно, инерционные силы, необходимые для производства эквивалентных травм в мозге крыс, весом менее 2 г, по-видимому, недостижимы, при том что ускорения приближаются к 8000% от необходимого для отражения тканевых повреждений мозга человека [18]. Тем не менее существуют модели, применимые для индукции аксонального повреждения у небольших лабораторных животных, с соответствующими клиническими и морфологическими изменениями.

Модель вращения головы (head rotation model) первоначально была предложена для выполнения на низших приматах [19], а затем успешно адаптирована для свиней [20]. Диффузная аксональная травма у крупных животных воспроизводится быстрым ускорением и замедлением головы в коронарной плоскости без ударного воздействия с использованием станка с подвижной рамой [20]. Эта модель создает ряд клинически значимых функциональных расстройств, которые коррелируют с повреждением аксонов [21]. *Meythaler* и соавт. предложили оригинальное устройство, использующее принцип свободного вращения, для воспроизведения ДАП у крыс. Устройство *Meythaler* представляет собой вращающийся в горизонтальной плоскости контейнер, в котором зафиксировано животное [22; 23].

Имитация ДАП на крысах была описана *Marmarou* в 1994 году и получила широкую известность как модель ударного ускорения [24]. Травматическое устройство состоит из свободно падающего груза массой 450 г с высоты 2 метра через направляющую трубку. Животное располагается на поролоновой подушке и в результате удара по голове отскакивает вниз. Для того чтобы предотвратить перелом черепа, удар осуществляется по прикреплённому к нему на костный цемент металлическому диску («шлему»). В отличие от ранее описанных моделей падающего груза, голова не фиксируется, что позволяет свободное вращение при падении. Математический анализ показал, что ускорение мозга в результате травмы составляет 900 G, а градиент сжатия 0,28 мм. Свободное падение животного после контактного воздействия приводит к диффузному повреждению аксонов в базальных ядрах и стволе мозга и повышению внутричерепного давления [4; 8; 24]. Авторы сообщают, что груз массой 450 г, падающий с высоты 2 м (0,9 кг/м), привел к смерти 44% животных, переломы черепа выявлены в 12,5% случаев [24]. В сравнении с ранее используемыми методами

падающего груза на фиксированную голову животного данные показатели считаются достаточно низкими [8].

Другие модификации моделирования имитации ДАП связаны с совершенствованием технологий ударного ускорения. Для воспроизведения у грызунов повреждения лобной области была разработана модель *Maryland*, в которой ударная сила применяется к передней части черепа и воспроизводит ДАП, вызванное передне-задним и сагиттальным вращательным ускорением мозга внутри неповрежденного черепа [8].

В последующем модель *Marmarou* была модифицирована *M.J. Kanea* и соавт. для воспроизведения лёгкой ЧМТ на мышах весом 22-25 г. Для нанесения травмы использовали груз диаметром 19 мм и весом 95 г при высоте падения 1,5 метра [25]. Вес груза оценивали по соотношению с весом мозга мыши и крысы (~ 0,21). Основным аспектом модификации стало падение животного после удара по голове в резервуар высотой 23 см, на поролоновую подушку для смягчения. Для исключения сопротивления при ударе поверхность резервуара укрывается перфорированной фольгой таким образом, чтобы она могла выдержать вес мыши. После удара по голове фольга легко разрывается, и животное с ускорением падает вниз. Дальнейшее движение груза было ограничено до 1 см ниже поверхности головы. Ускорение и падение, вызванное ударом, всегда включает горизонтальное вращение тела мыши на 180°. Гистологический анализ коррелировал с поведенческими и неврологическими расстройствами после травмы. Очагов ушиба в точке воздействия не выявлено [25].

Авторами проведено сравнение метода с моделью *Marmarou*. При модификации моделирования имитации ДАП уровень смертности после одиночных ударов составил 5%, множественных ударов – 10%, тогда как в оригинальном способе нанесения травмы отмечалась высокая смертность животных (64%). При моделировании ЧМТ по *Marmarou* выявлены существенные нарушения гематоэнцефалического барьера и очаги ушиба мозга в месте удара с выраженным микроглиозом через 30 дней после травмы, тогда как в методе *Kanea* целостность гематоэнцефалического барьера, которую оценивали путем измерения уровня экспрессии интрацеребрального IgG, была сохранена, а оценка активации микроглиоза с использованием гистохимического окрашивания на наличие интерлейкина ILB4 была отрицательная при повышении экспрессии GFAP и фосфотау [25].

Другая модифицированная модель экспериментального сотрясения головного мозга у молодых крыс, по *R. Mychasiuk и соавт.*, напоминает описанную выше установку для нанесения ЧМТ, включающую резервуар, обеспечивающий свободное падение и вращение животного после удара по голове. Вес животных в этом методе варьирует от 50 до 120 г, для удара по голове используется груз весом 150 г, высота падения 50 см [26].

Животные, получившие травму, медленнее пробуждаются от наркоза, однако после

пробуждения мало чем отличаются от здоровых особей. Для оценки состояния животных использовался тест прохождения по балке, который объективно оценивал расстройства координации при отсутствии очаговой неврологической симптоматики. Показатели смертности и переломы черепа после такого способа моделирования были низкими. Кроме расстройства координации, у животных выявлено депрессивное поведение и изменившиеся социальные взаимодействия. Морфологическая картина головного мозга травмированных крыс демонстрировала снижение плотности синаптического аппарата средних ключевых нейронов в прилежащем ядре (*nucleus accumbens*), что, по мнению авторов, может являться причиной поведенческих расстройств у животных [27].

Заключение. При сравнении степени использования способов моделирования ЧМТ у грызунов модель падающего груза получила наибольшее распространение по причине упрощенного воспроизведения в лабораторных условиях, так как не требует наличия сложного дорогостоящего оборудования. Недостатком данной модели долгое время была недостаточная точность в определении степени тяжести травмы путём выбора высоты падения и массы груза экспериментальным путём, из-за чего в литературе появилось множество публикаций, отстаивающих свои собственные расчеты. Полезность такого большого количества разнообразных вариантов моделирования травмы спорна, так как разные авторские методики при использовании одного и того же принципа нанесения ЧМТ могут получить различающиеся результаты. Для того чтобы устранить недостатки модели падающего груза, была разработана жидкостно-перкуSSIONная модель, модифицированная в методику контролируемого коркового повреждения. Последняя позволяет более точно нанести травму соответственно степени тяжести, однако этот метод в достаточной мере не воспроизводит действие инерционных сил, которое необходимо учитывать при изучении патогенеза диффузного аксонального повреждения. Модели индукции ДАП у грызунов по методам *Meythaler* и *Marmarou* с позиции биомеханики травмы недостаточно точны, требуют весьма сложных манипуляций и ограничены для изучения сотрясения головного мозга.

С другой стороны, не всегда корреляция степени тяжести ЧМТ с неврологической симптоматикой и изменениями в веществе мозга дает полное представление о патогенезе травмы. На наш взгляд, необходимо учитывать биомеханику превалирующего типа повреждения, очаговый или диффузный, который напрямую зависит от механизма нанесения травмы в эксперименте. Наиболее удачными для этой цели являются модели ударного ускорения с использованием комбинированного метода: действие на голову ударного ускорения за счёт падения груза, и действие инерционных сил за счёт вращения на 180° при свободном падении животного в резервуар после удара. С точки зрения биомеханики

воспроизведения СГМ этот способ наиболее приемлем. Еще одним преимуществом такой модели нанесения ЧМТ является возможность получения клинически значимых травм легкой степени с основными отличительными чертами, подобных проявлению СГМ у человека. К ним относится отсутствие макроскопических повреждений мозга (очагов ушиба) и переломов черепа, отсутствие нарушения проницаемости ГЭБ и микроглиоза и отсутствие очаговой симптоматики с превалированием расстройств координации движений и поведения в неврологическом статусе. По мнению авторов этого способа моделирования, к его преимуществу помимо наличия низкой смертности после индукции ЧМТ относится возможность изучения повторных лёгких травм и оценки состояния животных через длительный период после травмы. Таким образом, при использовании этого способа возможно изучение не только острого периода ЧМТ, но и посттравматического синдрома.

Список литературы

1. Овсянников Д. Социальные и эпидемиологические аспекты черепно-мозговой травмы // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2012. – Т. 8. – № 3. – С. 777-785.
2. Храпов Ю. Роль биомаркеров повреждения вещества головного мозга в диагностике, оценке эффективности лечения и прогнозировании исходов тяжёлой черепно-мозговой травмы // Волгоградский науч.-мед. журнал. – 2013. - № 3. – С. 10-20.
3. Лихтерман Л. Сотрясение головного мозга // Нейрохирургия. – 2002. – № 2. – С. 4-7.
4. Johnson V. Animal models of traumatic brain injury // Handbook Clin. Neurology, 2015, vol. 127, pp. 115–128.
5. Bondi C.O. Found in translation: understanding the biology and behavior of experimental traumatic brain injury // Neuroscience & Biobehav. Rev., 2015, vol. 58, pp. 123-146.
6. Cernak I. Animal Models of Head Trauma // J. American Soc. Exper. NeuroTherapeutics., 2005, vol. 2, pp. 410-422.
7. Rostami E. Traumatic brain injury in humans and animal models. Stockholm, Publ. Karolinska Institut.: Elham Rostami, 2012, pp. 7-12.
8. Xiong Ye. Animal models of traumatic brain injury // Nature Rev. Neuroscien., 2013, vol. 14, pp. 128-142.
9. Pascual J.M., Prieto R. Surgical management of severe closed head injury in adults operative neurosurg. Techniq., vol. 2, 6th Edition. Ed. A. Quinones-Hinojosa, PA.: Elsevier, 2012, Ch. 133, pp. 1513-153.
10. Holbourn A. Mechanics of head injuries // Lancet, 1943, vol. 242, Is. 6267, pp. 438–441.
11. McIntosh A.S., Patton D.A., Frechede B. et al. The biomechanics of concussion in

unhelmeted football players in Australia: a case-control study // *BMJ Open*. 2014, vol. 4 (5), e005078.

12. Margulies S. Physical model simulations of brain injury in the primate // *J. Biomech.*, 1990, vol. 23, Is.8, pp. 823–836.

13. Smith D.H. Neuromechanics and pathophysiology of diffuse axonal injury in concussion // *Bridge* (Washington, DC), 2016, vol. 46 (1), pp. 79-84.

14. Thibault L. The strain dependent pathophysiological consequences of inertial loading on central nervous system tissue. *Proceed. Internat. Conf. Biomechanics IRCOBI*, 1990, pp. 191-202.

15. Cullen D.K., Harris J.P., Browne K.D. et al. A porcine model of traumatic brain injury via head rotational acceleration // *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ), 2016, vol. 1462, pp. 289-324.

16. Browne K.D., Chen X.H., Meaney D.F., Smith D.H. Mild traumatic brain injury and diffuse axonal injury in swine // *J. Neurotrauma*, 2011, vol. 28 (9), pp. 1747-1755.

17. Johnson V.E., Stewart W., Smith D.H. Axonal pathology in traumatic brain injury // *Exp. Neurol.*, 2013, vol. 246, pp. 35-43.

18. Ma M., Matthews B.T., Lampe J.W. et al. Immediate short-duration hypothermia provides long-term protection in an in vivo model of traumatic axonal injury // *Exp Neurol.*, 2009, vol. 215 (1), pp. 119-127.

19. Adams J.H., Jennett B., Murray L.S. et al. Neuropathological findings in disabled survivors of a head injury // *J Neurotrauma*, 2011, vol. 28 (5), pp. 701-709.

20. Zhang J., Groff R.F., Chen X.H. et al. Hemostatic and neuroprotective effects of human recombinant activated factor VII therapy after traumatic brain injury in pigs // *Exp Neurol.*, 2008, vol. 210 (2), pp. 645-655.

21. Friess S.H. Neurobehavioral functional deficits following closed head injury in the neonatal pig // *Exp. Neurol.*, 2007, vol. 204, pp. 234–243.

22. Цымбалюк В.И. Экспериментальное моделирование черепно-мозговой травмы // *Украинский нейрохирургический журнал*. – 2008. – № 2. – С. 10-12.

23. Meythaler J.M., Peduzzi J.D., Eleftheriou E., Novack T.A. Current concepts: diffuse axonal injury-associated traumatic brain injury // *Arch Phys Med Rehabil.*, 2001, vol. 82 (10), pp. 1461-1471.

24. Marmarou A. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics // *J. neurosurgery*, 1994, vol. 80, №. 2, pp. 291-300.

25. Kanea M. A mouse model of human repetitive mild traumatic brain injury // *J. Neuroscience Methods*, 2012, vol. 203, Is. 1, pp. 41-49.

26. Mychasiuk R. A novel model of mild traumatic brain injury for juvenile rats // *J. Visual.*

Exp., 2014, pp. 201-207.

27. Hehar H. Impulsivity and concussion in juvenile rats: examining molecular and structural aspects of the frontostriatal pathway // PLoS ONE, 2015, 10 (10), e0139842.