

Романова Г.А.<sup>1</sup>, Шакова Ф.М.<sup>1</sup>, Парфёнов А.Л.<sup>2</sup>

## Моделирование черепно-мозговой травмы

<sup>1</sup> — ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», 125315, Балтийская ул., 8

<sup>2</sup> — ФГБНУ «Госпиталь для incurable больных — лечебно-реабилитационный центр», 109028, Москва, ул. Солянка, 14, стр. 3

*Обзор современной литературы по экспериментальному моделированию черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Даны характеристики различных экспериментальных методов создания моделей ЧМТ. Представляется наиболее адекватной — ударная очаговая модель, позволяющая выявить зависимость степени повреждения коры головного мозга крыс от силы травмирующего воздействия.*

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, типы моделей, ударная модель, крысы

Romanova G.A.<sup>1</sup>, Shakova F.M.<sup>1</sup>, Parphenov A.L.<sup>2</sup>

## Modeling of traumatic brain injury

<sup>1</sup> — FGBNU NII General pathology and pathophysiology, Moscow, 125315, Baltijskaya str., 8

<sup>2</sup> — FSBI «Hospital for Incurable Patient — the Scientific Medical and Rehabilitation Center», Solijnka str., 14, bild. 3, Moscow

*Contemporary approaches to experimental traumatic brain injury modeling, the principles of functioning and technical characteristics of appropriate equipment are reviewed. The methods describing traumatic brain injury modeling and assessment of brain structural and functional changes caused by the weight drop method are given.*

**Key words:** modeling of experimental traumatic brain injury, pattern of models, weight drop method, rats

Проблема диагностики и эффективного лечения черепно-мозговой травмы (ЧМТ) является одной из важнейших в современной медицинской науке. В последние десятилетия происходит широкое распространение ЧМТ в связи с повышением темпа жизни, увеличением количества скоростных транспортных средств, индустриализацией, а также такими явлениями, как терроризм, локальные военные конфликты. По данным статистики в мире ежегодно погибают вследствие ЧМТ около 5 млн чел. Смертность от ЧМТ составляет 26—82%. ЧМТ — главная причина гибели и нетрудоспособности в посттравматический период для людей моложе 50 лет, причем мужчины страдают в 2,5 раза чаще, чем женщины. ЧМТ приводит к тяжелой инвалидизации и значительному снижению качества жизни [1—3].

Степень этих нарушений определяется характером травматического воздействия на мозг и могут привести к временному или постоянному ухудшению познавательного, физического и психосоциологического состояния. ЧМТ — сложная травматическая болезнь, которая наносит структурный ущерб и вызывает функциональные дефициты, происходящие как из-за основного механического, так и вторичного результата непосредственного разрушения мозговой ткани. ЧМТ происходит во время воздействия внешней силы и включает контузию, по-

вреждение кровеносных сосудов (кровоизлияние), нервных клеток и аксональных отростков нейронов. Вторичное повреждение развивается за минуты и спустя месяцы после первичной травмы в результате каскадов метаболических, клеточных и молекулярных событий, которые в конечном счете приводят как к двигательным, так и неврологическим и когнитивным расстройствам. ЧМТ инициирует каскад патохимических, патофизиологических изменений в головном мозге, что объективно регистрируется нарушением нейрометаболических и морфофункциональных параметров. Особенности этих реакций определяют многообразие клинических проявлений ЧМТ и их динамику. Патофизиологическая разнородность, наблюдаемая у пациентов с ЧМТ, может проявляться как результат локализации, вида, серьезности первичной травмы и определяться существующими ранее факторами, включая состояние исходного здоровья, пол, лечение, употребление алкоголя и наркотиков а также генетическими особенностями пациента.

Низкая эффективность лечения ЧМТ в значительной степени обусловлена недостаточным пониманием патогенеза данной патологии и недостатком адекватных экспериментальных моделей для оценки эффективности новых терапевтических стратегий.

Модели ЧМТ разработаны на животных так, чтобы произвести относительно гомологичный тип первичного повреждения [4—6]. Недостаточная характеристика неврологического дефицита осложняет сравнительную оценку неврологических расстройств в различных моде-

**Для корреспонденции:** Романова Галина Александровна, д.биол.н., проф., гл. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы, ФГБНУ НИИ ОПГ; e-mail: Romanovaga@mail.ru

лях. Таким образом, любая экспериментальная модель не может полностью отразить все аспекты вторичного повреждения при ЧМТ у человека. Несомненно, моделирование ЧМТ у животных важно для изучения биомеханических, клеточных и молекулярных аспектов ЧМТ, которые не могут быть исследованы при лечении травматической болезни человека, но необходимы при разработке новых терапевтических стратегий.

Новые и уже существующие модели ЧМТ должны быть созданы для заполнения терапевтического окна между доклиническими исследованиями и адекватным медицинским лечением, а также прогнозированием спонтанного восстановления.

Любая модель ЧМТ должна отвечать ряду критериев [2, 3, 6]: точная локализация повреждения и строго определенная тяжесть травмы, которая должна соответствовать прилагаемой к черепу животного (закрывающая — ЗЧМТ) или непосредственно к головному мозгу (открывающая — ОЧМТ) механической силе и пропорционально возрастать при её увеличении. Вместе с тем моделирование тяжелого неврологического дефицита всегда связано с высоким показателем гибели животных.

ЧМТ возникает вследствие удара по голове движущимся объектом или столкновения головы с неподвижным препятствием, обуславливающим смещение головного мозга внутри черепа. В большинстве моделей ЧМТ механическое воздействие на головной мозг животного предусматривает однородность степени повреждения и контроль за возникшими функциональными нарушениями для получения репрезентативных результатов.

В настоящее время разработаны и используются несколько различных моделей ЧМТ в эксперименте: жидкостно-перкуSSIONная травма мозга, модель контролируемого коркового повреждения, модель ЧМТ в результате падения груза, модель ударного ускорения. Предложено [2, 3, 5—9] классифицировать модели ЧМТ в зависимости от способа воздействия на головной мозг: ударные, инерционные и с непосредственной деформацией мозга. Принципиальное значение имеет выбор области коры для создания ЧМТ.

*Ударные модели* [2, 3, 5, 6, 9, 10] предусматривают непосредственный удар по голове животного свободно падающим грузом с различными пружинными устройствами или калиброванным маятником. При этом происходит локальная деформация головного мозга от удара. В этих моделях голова животного может быть жестко фиксирована или нет, и в зависимости от этого морфофункциональные последствия значительно различаются.

Наиболее распространенной моделью ЧМТ считают ударную модель, при которой удар по фиксированной голове животного осуществляется *свободно падающим грузом (weight drop method)*. ЧМТ наносят под общей анестезией, после разреза скальпа и обнажения поверхности черепа. Такая модель предполагает воздействие

твердым ударником непосредственно по черепу крысы (ЗЧМТ) [9—13] или через окно в черепе на твердую мозговую оболочку (ОЧМТ) [14—17]. При таких способах моделирования ЧМТ, у грызунов выявляют различные повреждения мозга: от легких, моделирующих сотрясение головного мозга, до очаговых ушибов (в месте падения груза на череп), сопровождающихся вторичной гибелью нервных клеток в отдаленные сроки. Также при этом отмечаются нарушения двигательной и когнитивной функций. Модель травмы головного мозга с помощью падающего груза позволяет исследовать изменения двигательной функции, таким образом, относительно просто создать локальное повреждение моторной коры головного мозга и оценить двигательную функцию задних конечностей в экспериментах с тестированием дисфункции у крыс.

*Жидкостно-перкуSSIONная модель (FPI)* — одна из широко используемых экспериментальных моделей на крысах [18, 19]. При этом виде травмирования мозга происходит комбинированное воздействие — контузия коры и диффузное подкорковое повреждение (гиппокамп и таламус), которое возникает в течение первых минут после воздействия и приводит к повреждению и гибели нейронов в коре уже через 12 часов, а через 7 дней повреждения и далее область травмы увеличивается, развиваются прогрессивные дегенеративные процессы в наиболее уязвимых отделах головного мозга, что приводит к поведенческим и когнитивным расстройствам. У этого типа моделей отмечается высокая смертность по сравнению с другими, вероятно, в связи с повреждением стволовых структур мозга [20, 21].

Для воспроизведения модели контролируемого коркового удара (CCI) используется пневматическое или электромагнитное устройство, при этом наносится травма на открытую неповрежденную твердую мозговую оболочку, что вызывает повреждение корковой ткани, сопровождается острой субдуральной гематомой, аксональной травмой, сотрясением мозга, отеком, деструкцией гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и даже комой [22]. Воздействие, оказываемое на неповрежденную твердую мозговую оболочку через одностороннюю краниотомию в области теменной коры, вызывая деформацию коркового вещества, может диффузно распространиться и привести к гиппокампальной и таламической дегенерации.

Преимущество этой модели ЧМТ перед другими моделями — возможность управлять такими факторами, как время, скорость и глубина воздействия. В зависимости от степени повреждения функциональные нарушения сохраняются длительное время, вплоть до 1 года, спонтанное восстановление полностью невозможно.

*Метод криогенной травмы у грызунов* [23–25] ведет к диффузному мозговому повреждению. Травма головного мозга в этой модели обычно производится с помощью помещения на твердую мозговую оболочку мед-

ного цилиндра, заполненного смесью ацетона и сухого льда ( $78^{\circ}\text{C}$ ) или шарика льда. У крыс при такой ЧМТ происходит повреждение мозговой ткани, причем первичное повреждение окружено областью полутени, где вторичные процессы приводят к расширению размера повреждения, сопровождаемого нейронным некрозом, цитостатическим и сосудистым отеком, активацией астроцитов и воспалением. Эта модель только условно воспроизводит клиническую картину ЧМТ и наиболее подходит для исследования нарушений ГЭБ и отека мозга.

Однако один тип модели не может воспроизвести весь спектр функциональных расстройств, возникающих при ЧМТ, поэтому выбор модели определяется поставленными экспериментальными задачами.

*Цель данного исследования* — создание модели дозированной открытой черепно-мозговой травмы в эксперименте на крысах, исследование неврологических расстройств, дискоординации движений и морфофункциональных изменений головного мозга в разные сроки после ЧМТ. Для выполнения этой задачи создана установка, которая позволяет использовать градуированное по высоте падение груза весом 50—60 г на мозг крысы с целью создания локальной или диффузной ЧМТ разной степени тяжести. Травматическое воздействие осуществляется через черепное окно при сохранной мозговой оболочке.

Голова животного, находящегося под наркозом, закреплена в стереотаксическом приборе и с помощью стереотаксического атласа мозга крысы определяются координаты области повреждения мозга.

Функциональные показатели двигательных, координационных и других нарушений, вызванных ЧМТ разной степени тяжести, предполагается анализировать в разные сроки после ЧМТ при длительном наблюдении.

Морфологический анализ повреждения мозга при ЧМТ разной степени тяжести оценивается на серийных окрашенных гистологических срезах и выборочно с помощью МРТ анализа. С помощью световой микроскопии будет дано описание повреждения ткани мозга в зависимости от тяжести ЧМТ.

В настоящем исследовании используются неврологические тесты, которые наиболее эффективно показали себя в оценке долгосрочного сенсомоторного дефицита у крыс: тест «Цилиндр» для оценки асимметрии использования передних конечностей, тест «Сужающаяся дорожка», выявляющий опорно-двигательный дефицит, также используется система балльной оценки неврологического дефицита — тест «Постановка конечности на опору». Весь процесс оценки неврологических показателей фиксируется на видеокамеру и полученные функциональные показатели соотносятся со степенью тяжести ЧМТ, подвергаются статистической обработке и графическому оформлению.

Сопоставление функциональных и морфологических показателей позволит прогнозировать реабили-

тационный потенциал при разной степени тяжести ЧМТ в эксперименте.

### Список литературы

1. Maegele M, Engel D, Bouillon B. et al. Schaefer U, Klug N, Neugebauer E: Incidence and outcome of traumatic brain injury in an urban area in Western Europe over 10 years. *Eur Surg Res.* 2007; 39: 372-9.
2. Белошицкий В.В. Принципы моделирования черепно-мозговой травмы в эксперименте. *Украинский нейрохирургический журнал.* 2008;4: 9-15.
3. Цымбалюк В.И., Кочин О.В. Экспериментальное моделирование черепно-мозговой травмы. *Украинский нейрохирургический журнал.* 2008; 2:10-2.
4. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высш. школа, 1991.
5. Statler KD, Jenkins LW, Dixon CE, Clark RS, Mari- on DW, Kochanek PM: The simple model versus the super model: translating experimental traumatic brain injury research to the bedside. *J Neurotrauma.* 2001; 18: 1195-206.
6. Fennie J. Animal models of traumatic brain injury :a review. *Aust Vet. J.* 2001; 79(9): 628-33.
7. Albert-Weissenberger Ch., Siren A-L. Experimental traumatic brain injury. *Experimental and Translational Stroke Medicine.* 2010; 2: 16.
8. Ye Xiong, Mahmood A., Chopp M. Animal models of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurosci.* 2013;14 (2): 128-142.
9. Laurer H.L., Lenzlinger P.M., McIntosh T.K. Models of traumatic brain injury. *Eur. J. Trauma.* 2000; 3: 95-110.
10. Flierl MA, Stahel PF, Beauchamp KM, Morgan SJ, Smith WR, Shohami E. Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. *Nat Protoc.* 2009; 4: 1328-37.
11. Blaha M, Schwab J, Vajnerova O, Bednar M, Vajner L, Michal T: Intracranial pressure and experimental model of diffuse brain injury in rats. *J Korean Neurosurg Soc.* 2010; 47: 7-10.
12. Adelson PD, Robichaud P, Hamilton RL, Kochanek PM: A model of diffuse traumatic brain injury in the immature rat. *J Neurosurg.* 1996; 85: 877-84.
13. Chen Y, Constantini S, Trembovler V, Weinstock M, Shohami E. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *J Neurotrauma.* 1996; 13: 557-68.
14. Kilbourne M., Kuehn R., Tosun C., Caridi J., Keledjian K., Bochicchio G. et al. Novel model of frontal impact closed head injury in the rat. *J Neurotrauma.* 2009; 26: 2233-43.
15. Longhi L., Laurer H., Maegele M., Neugebauer E., Graham D.J., Stocchetti N., McIntosh T.K. Experimental models of traumatic brain injury: do we really need to build a better mousetrap? *Neuroscience.* 2005; 136: 971-89.
16. Cernak I. Animal models of head trauma. *Neuro Rx.* 2005; 2: 410-22.
17. Isaksson J., Hillered L., Olsson Y. Cognitive and histopathological outcome after weight-drop brain injury in the rat: influence of systemic administration of monoclonal antibodies to ICAM-1. *Acta Neuropathol.* 2001; 102: 246-56.
18. Allen GV, Gerami D, Esser MJ: Conditioning effects of repetitive mild neurotrauma on motor function in an animal model of focal brain injury. *Neuroscience.* 2000; 99: 93-105.
19. Thompson HJ, Lifshitz J, Marklund N, Grady MS, Graham DI, Hovda DA, McIntosh TK: Lateral fluid percussion brain injury: a 15-year review and evaluation. *J Neurotrauma.* 2005; 22: 42-75.

20. Spain A, Dumas S, Lifshitz J, Rhodes J, Andrews PJ, Horsburgh K, Fowler JH: Mild Fluid Percussion Injury in Mice Produces Evolving Selective Axonal Pathology and Cognitive Deficits Relevant to Human Brain Injury. *J Neurotrauma*. 2010; 27(8); 1429-38.

21. Kelley BJ, Lifshitz J, Povlishock JT: Neuroinflammatory responses after experimental diffuse traumatic brain injury. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007; 66: 989-1001.

22. Elliott MB, Jallo JJ, Tuma RF: An investigation of cerebral edema and injury volume assessments for controlled cortical impact injury. *J Neurosci Methods*. 2008; 168: 320-4.

23. Quintana A., Giralt M., Rojas S. et al. Differential role of tumor necrosis factor receptors in mouse brain inflammatory responses in cryolesion brain injury. *J Neurosci Res*. 2005; 82: 701-16.

24. Siren AL, Radyushkin K, Boretius S, Kammer D, Riechers CC, Natt O, et al. Global brain atrophy after unilateral parietal lesion and its prevention by erythropoietin. *Brain*. 2006; 129: 480-9.

25. Eriskat J, Furst M, Stoffel M, Baethmann A: Correlation of lesion volume and brain swelling from a focal brain trauma. *Acta Neurochir Suppl*. 2003, 86:265-6.

Поступила 06.04.15

## References

1. Maegele M, Engel D, Bouillon B, Schaefer U, Klug N, Neugebauer E: Incidence and outcome of traumatic brain injury in an urban area in Western Europe over 10 years. *Eur Surg Res*. 2007; 39: 372-9.

2. Beloshickij V.V. The principles of experimental traumatic brain injury modeling. *Ukrainskij neirohirurgicheskij zhurnal*. 2008; 4: 9-15. (in Russian)

3. Cymbalyuk V.I., Kochin O.V. Experimental modeling of head injury. *Ukrainskij neirohirurgicheskij zhurnal*. 2008; 2:10-2. (in Russian)

4. Buresh Ja., Bureshova O., Hjuston Dzh.P. *Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior*. M.; Vyssh. Shkola, 1991. (in Russian)

5. Statler KD, Jenkins LW, Dixon CE, Clark RS, Marion DW, Kochanek PM: The simple model versus the super model: translating experimental traumatic brain injury research to the bedside. *J Neurotrauma*. 2001;18 (1): 1195-206.

6. Fennie J. Animal models of traumatic brain injury: a review. *Aust Vet. J*. 2001; 79(9): 628-33.

7. *Albert-Weissenberger Ch., Siren A-L*. Experimental traumatic brain injury. *Experimental and Translational Stroke Medicine*. 2010; (2): 16.

8. Ye Xiong, Asim Mahmood, Michael Chopp Animal models of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurosci*. 2013; 14(2): 128-42.

9. Laurer H.L., Lenzlinger P.M., McIntosh T.K. Models of traumatic brain injury. *Eur. J. Trauma*. 2000; (3): 95-110.

10. Flierl MA, Stahel PF, Beauchamp KM, Morgan SJ, Smith WR, Shohami E. Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. *Nat. Protoc*. 2009; 4: 1328-37.

11. Blaha M, Schwab J, Vajnerova O, Bednar M, Vajner L, Michal T. Intracranial pressure and experimental model of diffuse brain injury in rats. *J Korean Neurosurg Soc*. 2010; 47 (1): 7-10.

12. Adelson PD, Robichaud P, Hamilton RL, Kochanek PM: A model of diffuse traumatic brain injury in the immature rat. *J Neurosurg*. 1996; 85:877-84.

13. Chen Y, Constantini S, Trembovler V, Weinstock M, Shohami E. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *J Neurotrauma*. 1996; 13: 557-68.

14. Kilbourne M, Kuehn R, Tosun C, Caridi J, Keledjian K, Bochicchio G, Scalea T, Gerzanich V, Simard JM. Novel model of frontal impact closed head injury in the rat. *J Neurotrauma*. 2009; 26: 2233-43.

15. Longhi L, Laurer H, Maegele M, Neugebauer E, Graham DJ, Stocchetti N, McIntosh TK: Experimental models of traumatic brain injury: do we really need to build a better mousetrap? *Neuroscience*. 2005; 136: 971-89.

16. Cernak I: Animal models of head trauma. *Neuro Rx*. 2005; (2): 410-22.

17. Isaksson J, Hillered L, Olsson Y: Cognitive and histopathological outcome after weight-drop brain injury in the rat: influence of systemic administration of monoclonal antibodies to ICAM-1. *Acta Neuropathol*. 2001; 102: 246-256.

18. Allen GV, Gerami D, Esser MJ: Conditioning effects of repetitive mild neurotrauma on motor function in an animal model of focal brain injury. *Neuroscience*. 2000; 99: 93-105.

19. Thompson HJ, Lifshitz J, Marklund N, Grady MS, Graham DI, Hovda DA, McIntosh TK. Lateral fluid percussion brain injury: a 15-year review and evaluation. *J Neurotrauma*. 2005; 22: 42-75.

20. Spain A, Dumas S, Lifshitz J, Rhodes J, Andrews P.J, Horsburgh K, Fowler J.H. Mild Fluid Percussion Injury in Mice Produces Evolving Selective Axonal Pathology and Cognitive Deficits Relevant to Human Brain Injury. *J Neurotrauma*. 2010; 27(8) 1429-38.

21. Kelley BJ, Lifshitz J, Povlishock JT. Neuroinflammatory responses after experimental diffuse traumatic brain injury. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007; 66: 989-1001.

22. Elliott MB, Jallo JJ, Tuma RF: An investigation of cerebral edema and injury volume assessments for controlled cortical impact injury. *J Neurosci Methods*. 2008; 168: 320-4.

23. Quintana A., Giralt M., Rojas S. et al. Differential role of tumor necrosis factor receptors in mouse brain inflammatory responses in cryolesion brain injury. *J Neurosci. Res*. 2005; 82: 701-16.

24. Siren AL, Radyushkin K, Boretius S, Kammer D, Riechers CC, Natt O, Sargin D, Watanabe T, Sperling S, Michaelis T, Price J, Meyer B, Frahm J, Ehrenreich H. Global brain atrophy after unilateral parietal lesion and its prevention by erythropoietin. *Brain*. 2006; 129: 480-9.

25. Eriskat J, Furst M, Stoffel M, Baethmann A. Correlation of lesion volume and brain swelling from a focal brain trauma. *Acta Neurochir. (Suppl)* 2003; 86: 265-6.

Received 06.04.15

## Сведения об авторах:

Шакова Фатимат Мухамедовна, к.м.н., вед. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы ФГБНУ НИИ ОПП Парфёнов А.Л., к.м.н., гл. реаниматолог, ФГБИ «Госпиталь для инкурабельных больных — научный лечебно-реабилитационный центр»