

文章编号: 1004-7220(2023)01-0014-16

旋转运动下脑组织致伤机制研究

王丽珍, 殷欢, 徐鹏, 樊瑜波

(北京航空航天大学 生物与医学工程学院, 生物力学与力学生物学教育部重点实验室, 北京市生物医学工程高精尖创新中心, 北京 100083)

摘要: 创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 已造成严重的经济和社会负担, 但因其异质性的特点, 尚未有有效的治疗方法。在各种程度的颅脑损伤中, 弥漫性轴索损伤 (diffuse axonal injury, DAI) 的发病率很高, 对 DAI 的研究有助于 TBI 诊治。本文对 TBI 的分类和 DAI 相关研究现状进行总结, 对动物实验研究和临床中常用的脑损伤检测方法、动物实验模型及其相关损伤准则和阈值进行综述。结果显示, DAI 主要由旋转加速度产生, 与角加速度、角速度和持续时间相关。已有众多动物模型能够产生 DAI 病理特征, 且已有惯性旋转模型可以产生纯旋转加速度。然而, 这些模型均为瞬时旋转模型, 旋转时间并不严格可控, 且不能够提供更长时间的旋转时间, 从而不能研究长时间旋转运动下的 DAI 程度。本文建议, 可开发时间可控的旋转脑损伤模型, 用以确定长时间和短时间旋转加速度下的脑损伤阈值, 并探究这些致伤条件下的病理机制。这些研究可能对 DAI 的预防和治疗起到积极作用。

关键词: 旋转加速度; 创伤性脑损伤; 弥漫性轴索损伤; 阈值; 病理机制

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.01.003

The Mechanism of Brain Injury Induced by Rotational Motion

WANG Lizhen, YIN Huan, XU Peng, FAN Yubo

(Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Key Laboratory of Biomechanics and Mechanobiology, Ministry of Education, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100083, China)

Abstract: Traumatic brain injury (TBI) has caused serious economic and social burdens, but due to its heterogeneity, there is no effective treatment. In TBI with different severity, diffuse axonal injury (DAI) incidence is high. The investigation on DAI will contribute to the diagnosis and treatment of TBI. In this study, the classification of TBI and the research status of DAI were summarized. The method to judge the severity of TBI and DAI, and animal experimental models and related injury criteria and thresholds were reviewed. The result show that DAI is mainly generated by rotational acceleration and it is related to angular acceleration, angular velocity and duration. Several TBI animal models can induce the pathology of DAI, and inertial rotation models which can produce only rotational acceleration have been developed. However, these models are instantaneous rotation models, and the rotation duration is uncontrollable, thus a longer duration is impossible, and DAI severity under long rotational motion cannot be studied. The study proposes that a new rotation animal model which can control rotation duration should be developed. The development of the animal model and investigation on pathomechanism of the model will contribute to the prevention and treatment of DAI.

Key words: rotational acceleration; traumatic brain injury (TBI); diffuse axonal injury (DAI); threshold; pathomechanism

收稿日期: 2023-02-01; 修回日期: 2023-02-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (11822201), 111 引智工程 (B13003)

通信作者: 樊瑜波, 教授, E-mail: yubofan@buaa.edu.cn

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)由外部力学载荷引起,如冲击性头部损伤、物体穿透、机动车事故的突然加速减速和冲击波传播^[1]。美国每年有超过200万TBI发生,主要来自跌倒、机动车事故和运动^[2]。在幸存者中,这些伤害往往不可逆,导致长期疼痛和严重残疾,每年的费用超过800亿美元^[2]。TBI会造成神经系统的损伤,根据损伤的严重程度,其病征从暂时的轻度认知缺陷到影响运动功能、情绪和认知的永久性严重削弱^[3]。

目前TBI的发病机制尚不完全清楚,TBI相关的神经退行性疾病预防也并不令人满意,原因是TBI是一种异质性疾病,患者经常表现出不同严重程度和区域分布的复杂病变。在TBI的所有分类中,弥漫性轴索损伤(diffuse axonal injury, DAI)的发病率较高,也最难以诊断。DAI主要由头部的旋转运动所引起,不论是跌倒、机动车事故或是运动碰撞等均可以引起头部的旋转运动,从而导致头部DAI的产生。由于旋转运动是人体头部常见的运动形式,而DAI主要由旋转运动所引起,因此,充分认识DAI病理机制和损伤阈值,有助于提高颅脑损伤特别是头部旋转运动导致的脑损伤的诊治和预防水平。

本文对脑损伤分类、DAI特点和病理学机制、常见检测方法进行总结,然后综述脑损伤研究中常用的动物实验模型及相关损伤阈值。在此基础上,挖掘DAI损伤中尚待解决的问题,以及可能存在的解决方案。

1 头部基本解剖结构

人的头部可以被视为多层结构,头皮是最外层,中间是颅骨、脑膜,最内层是脑组织。头皮厚度为5~7 mm,由毛发皮肤、皮下结缔组织层、肌肉和筋膜层组成。当向头部皮肤施加牵引力时,头皮会相对于颅骨移动。头皮下方是颅骨和脑膜。脑膜从外到内分为3层,依次为硬脑膜、蛛网膜和软脑膜,对脊髓和大脑起到了保护和支撑的作用。硬脑膜是一层坚韧的纤维膜,而蛛网膜类似蜘蛛网。两个膜被一个狭窄的空间(硬膜下腔)隔开。软脑膜覆盖在脑的沟回表面,而蛛网膜下腔将蛛网膜和软脑膜分开。脑脊液(cerebro-spinal fluid, CSF)充满蛛网膜下腔和脑室,可以对大脑和脊髓起到缓冲保

护作用,免其遭受机械性休克。几条血管穿过脑膜供应大脑和头皮,其中的桥静脉(即桥接硬膜下腔的静脉)特别重要,在外载荷作用下其容易发生撕裂,导致脑血肿产生。在结构和功能上,脑组织可分大脑、小脑、间脑、中脑、脑桥和延髓,通常把中脑、脑桥和延髓合称为脑干。

2 旋转运动致脑损伤的病理机制

2.1 脑损伤分类

根据硬脑膜是否破裂,脑损伤可分为闭合性脑损伤和开放性脑损伤。根据损伤区域的范围分类,脑损伤可分为局灶性脑损伤和弥漫性脑损伤(diffuse brain injury, DBI)。局灶性损伤的特点是挫伤(即打击部位的损伤)和撕裂伤,通常伴有血肿。而DBI包括在直接附近和远离撞击部位观察到的更为广泛的、多灶性的损伤,经常发生在交通或军事袭击相关事故中^[4]。DBI至少有4类^[4]: ① DAI; ② 弥漫性缺氧、缺血或缺血性损伤; ③ 弥漫性肿胀; ④ 弥漫性血管损伤。DAI是最常见的DBI类型,其特点是整个脑组织的轴突发生形态学变化,通常会导致昏迷或死亡^[5-6]。

根据神经病理学分类,将脑损伤分为原发性损伤和继发性损伤阶段两个主要阶段。原发性TBI是力学载荷作用的结果,并在遭受载荷时立即发生。力学载荷可以是各种形式的,例如穿透损伤、旋转加速、压缩和拉伸等,主要损伤表现为宏观(组织撕裂、血管破裂)、微观(细胞剪切)或纳米级(细胞骨架断裂、浆细胞损伤)的层面的物理损伤。继发性损伤包括复杂的生化和生理过程,由原发性损伤引发,但在数小时至数天内表现出来。复杂的继发病理生理级联包括炎症和反应性胶质增生、水肿、代谢缺陷、离子稳态丧失、异常酶激活、活性氧种类增加、兴奋性毒性、缺氧和细胞信号改变^[3]。这些有害级联可能导致延长的细胞功能障碍、轴突变性和细胞死亡,最终可能会严重导致慢性神经功能障碍。

2.2 DAI的病征及病理学进程

在所有闭合性头部损伤中,DAI是最常见和最严重的病理特征之一^[7]。DAI是一种临床病理综合征,表现为患者从受伤时就失去知觉,其脑组织无明显的局灶性损伤,但是大脑、小脑和脑干存在

广泛的轴索损伤^[7],严重时在胼胝体和大脑背外侧可能出现偶发的局灶性出血点。DAI 主要分布于矢状窦旁白质、胼胝体、穹窿、中央灰质、小脑背侧、齿状核等区域,表现为局部轴突肿胀或串珠状。受损轴突分散分布在组织学完整的神经纤维中,故导致了 DAI 难以确诊。根据严重程度,DAI 被分为 I 级(脑白质中广泛分布的轴索损伤)、II 级(除白质中广泛的 DAI 外,伴有胼胝体局灶性损伤)、III 级(除上述两级的损伤特征外,脑干背外侧局灶性损伤)^[5-6,8]。1943 年,Holbourn^[9]提出脑组织受到“剪切应力伤”的影响最大。该研究认为,颅骨的剪切模量远大于脑组织的剪切模量。在颅骨的有限空间内,脑组织的体积模量很大,加之脑组织对形变的阻力很小,抗剪切系数极低,故旋转加速度引起的剪切力是造成的脑损伤的主要原因。剪切应力可造成轴索和小血管的损伤。此外,该研究认为,脑组织并非对称分布,而是沿着正中矢状面的镜像分布。因此,沿着不同轴旋转时,两半球脑组织的损伤程度也并非相同,产生不对称的损伤。Strich 等^[10]针对颅脑损伤患者的病理学研究证明了该不对称分布的结论。1956 年,Strich^[11]报告了 5 名在闭合性头部损伤后存活了 5~15 个月的严重脑损伤后痴呆患者,从病理学变化叙述了“大脑白质的弥漫性变性”(diffuse degeneration of the white matter of the cerebral hemispheres)。1961 年,Strich^[10]的研究表明,大脑半球和脑干的广泛白质损伤是由于在头部旋转加速过程中产生的剪切应力使得神经纤维被拉伸或撕裂所致,损伤进而会导致了神经纤维的继发性退化。之后,该病理过程以不同的名称被命名,如剪切伤 (shearing injury)^[12]、直接撞击型弥漫性脑损伤 (diffuse brain damage of immediate impact type)^[13] 和弥漫性脑白质剪切损伤 (shearing injuries of the cerebral white matter)^[14]。1982 年,Adams 等^[5]对 45 例颅脑损伤病人进行研究,使用 DAI 来描述这类以脑深部神经轴突变化为病理特征的脑损伤,该命名被研究人员广泛接受使用,后续一致使用 DAI 作为该病理特征的名称。此外,通过与 Gennarelli 等^[6]关于灵长类动物头部由于纯惯性载荷(角加速度)产生了 DAI 的研究结论进行比较,Adams 等^[5]认为头部受伤时即可产生 DAI。

DAI 主要由头部旋转引起,引发脑组织的动态

剪切、拉伸和压缩应变,细长的轴突则更易受到损伤。尽管这些组织变形很少导致损伤时轴突断开,然而它们可以在轴突中造成一系列局灶性病理异常,从而导致轴突继发性断开或持续功能障碍。在正常情况下,轴突是柔软的,可以适应拉伸变形^[15-18]。例如:在准静态载荷条件下,轴突的拉伸延伸率可以超过 100%,并且回弹后没有任何结构或功能失效的迹象^[18]。然而,轴突的成分在快速加载下会变得脆弱,从而导致轴突以及轴浆中的脆弱结构容易受到力学损伤,这些损伤通常发生在轴突长度上的离散点^[19]。这种对快速变形的经典黏弹性反应提示了动态损伤的分类,其中所施加的力在小于 50 ms 内发生,从而在大脑快速变形时使轴突暴露于高应变率^[15]。这些力引发了轴突的原发性损伤。

创伤发生在轴突长度方向的某一点引发了局灶性扰动,包括轴突膜通透性和轴突纤维/骨架的损伤,这是机械力造成的原发性的损伤。损伤后该点将发生顺行运输中断,细胞骨架成分和膜细胞器在该点积聚,表现为局灶性轴突肿胀。随着时间的延长,近端轴突节段与远端分离断开,远端轴突则经历 Wallerian 变性^[20]。这种进化/延迟性轴切手术并不局限于只受最轻微损伤的动物。研究人员使用不同 TBI 模型证实了相同的局灶性轴浆损伤和肿胀,故表明上述轴突病理生物学既不是损伤模型特异性,也不是物种特异性^[21-24]。轴突肿胀沿着损伤部位轴突的长度呈周期性排列,通常称为“轴突静脉曲张”^[7]。TBI 后,轴突局部肿胀继而形成单个肿胀的“轴突球”(或称为“回缩球”)的轴突病理学变化,此时轴突可能已经完全断开^[7]。损伤后轴突上述变化的时间进程是可变的,并且依赖于物种,在啮齿类动物中比高级动物中发生得更快^[7]。

在经历 TBI 后,轴突膜的破坏引发离子通道紊乱,钙离子内流增加,可能引发一系列有害级联^[25]。伤后轴突内离子水平的变化范围从轻微、可逆到灾难性。对于有髓轴突,离子通量的改变主要发生在郎飞结,也可以沿着节间轴突发生。与有髓轴突相比,无髓轴突创伤后离子水平的波动沿着轴突分布更均匀。钙离子内流的增加将激活钙蛋白酶、磷脂酶等蛋白酶。活化钙蛋白酶的底物包括细胞骨架蛋白、蛋白激酶 C、磷脂酶、磷酸酶、钙调蛋白结合蛋

白、膜蛋白等。因此,钙蛋白酶的活化可溶解神经丝蛋白,引发轴突微管内的多聚结构解聚,破坏轴浆运输,引起轴突肿胀的形成。磷脂酶的活化将引起膜成分的通透性的增加甚至破裂,包括轴膜、髓鞘、线粒体膜等。轴膜的破坏将引起离子通道的进一步损伤。此外,线粒体中的钙超载,也将引发线粒体变形、通透性改变、甚至导致线粒体的死亡。线粒体结构和功能的异常,将影响其提供维持局部轴突结构和功能所需的高能磷酸盐的能力,阻碍轴突的轴浆转运和功能维持。

3 动物实验和临床中常用的脑损伤检测方法

3.1 病理切片检测

旋转运动致脑损伤中,最常见和最严重的是DAI。目前对DAI最准确的诊断方法是对尸体的病理切片。在历史上,苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining)和银浸渍技术(如Palmgren's)已成功应用于识别轴突肿胀^[8,26],但这些染色技术不能充分反映轴突损伤的病理程度,且在DAI早期检测时间上受到限制。淀粉样前体蛋白(β APP)的免疫标记可在创伤后早期检测DAI的变化,已成为评估日常神经病理学和法医环境以及动物调查中DAI发生的金标准。 β APP是一种跨膜糖蛋白,生理条件在轴突中沿微管参与快速轴浆运输。在经历DAI后,顺行运输的中断使得 β APP在断点处累积,该处 β APP浓度升高,可使用 β APP抗体特异性检测出损伤轴突损伤和运输受损部位。使用 β APP能在TBI患者伤后最早1.75 h即可检测早期轴突肿胀^[27]。标准银浸渍技术需要18 h的存活时间才能可靠地证明DAI^[27]。且与银浸渍技术进行比较时,APP染色揭示了更广泛的轴突病理^[28]。

3.2 影像学检测

虽然确认DAI金标准是死后脑组织的病理学检查,但无法用于脑损伤患者的检测,使用无创的神经成像技术对脑组织中白质的评估显得尤为重要。DAI在计算机断层扫描(computed tomography, CT)和常规磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)上不易检测到。此外,尽管在CT和MRI图像上可以看到DAI的典型特征,但形态学特征通常与临床严重程度不一致,并且在隐匿性损伤的早期阶段无法检测到形态学变化^[29]。磁共振弥散张量成

像(diffusion tensor imaging, DTI)作为一项新兴技术,提供了非侵入性检测和表征活体人脑轴突损伤的有效方法。有证据表明,DTI可用于评估甚至轻度TBI患者^[30-34]。其基本成像原理是利用水分子的弥散各向异性进行成像。理论上,在均匀的组织结构中,水分子在各个方向上的扩散速度相同,称为各向同性(isotropy);在非均匀结构中,水分子向各个方向扩散的速度不一致,称为各向异性(anisotropy)。而脑白质为非均匀组织,由于受到髓鞘、轴膜及轴索内结构的影响,水分子扩散表现出显著的各向异性,平行于轴索方向水分子扩散快,垂直方向扩散慢,因而可反映神经纤维的方向。水分子扩散速度的差异作为DTI的成像基础,可反映为DTI图像灰度值和参数值的改变。目前,用于评估轴突损伤等DTI参数包括:①沿主轴的扩散张量(axial diffusion, AD)。在白质束中,AD被认为与轴突纤维平行;②径向扩散张量(radial diffusion, RD)。RD是垂直于轴突方向上的表观水扩散系数;③平均弥散率(mean diffusivity, MD)。MD用于定量评估与方向无关的扩散量;④各向异性的扩散分数(fractional anisotropy, FA)。FA反映水分子弥散各向异性的程度;⑤相对各向异性(relative anisotropy, RA)。RA反映各向异性弥散与各向同性弥散之比。

3.3 生物标志物检测

通常来说,大脑生物标志物是可以从生物流体中重复和安全地测量出的蛋白质。理想的大脑损伤生物标志物的特征如下:①特异性。独特地存在于中枢神经系统,并准确地反映大脑损伤的程度;②敏感性。高度丰富且易于检测;③测量治疗效果。生物标志物水平可以反映治疗干预的效果。脑损伤常采用血液和CSF中可测量的蛋白质结构作为生物标志物。但是值得注意的是,这些生物标志物并非DAI所独有,也与其他类型的脑损伤相关,但是可以在一定程度反映出DAI的损伤程度。以下是几种常用的脑损伤生物标记物。

3.3.1 神经纤丝

神经纤丝(neurofilaments, NF)是神经轴索骨架的重要组成部分。NF杂聚物由轻链(NF-L, 68 kDa)、中链(NF-M, 150 kDa)、重链(NF-H, 190~210 kDa)和 α -内啡肽组成^[35],具有维持神经轴索形态及保证轴浆运输的双重作用。NF

亚基定位在胞体中,并在轴突运输中流动,会在断开的轴突中积累^[36]。在受到创伤后,钙离子浓度的升高将激活钙蛋白酶、磷酸酶等,使得NF经历侧臂缺失、压实、降解等过程。NF通常只在神经元中存在,而在神经退行性疾病中,脑脊液和血液中的NF水平将显著升高^[37-38]。NF是TBI预后的良好预测标志,并作为诊断工具来预测轻度TBI患者的损伤严重程度^[37-38]。也已有研究报道,DAI患者的血清NF-H水平升高^[39-40]。

3.3.2 裂解的 Tau Tau是一种细胞内微管相关蛋白(microtubule-associated protein tau, MAPT),分子量为48~67 kDa,在轴突中高度富集。作为一种微管结合磷蛋白,tau蛋白稳定地组装轴突微管束,并参与顺行轴浆运输^[41-42]。在正常情况下,轴突tau低于免疫染色的检测水平。轴突损伤后,激活的钙蛋白酶使周围和轴突中的微管解聚。聚集、过度磷酸化的tau随后形成丝状内含物,称为神经纤维缠结。这些“tau缠结”是轴突损伤的病理标志。在损伤期间,tau被钙蛋白酶-1和caspase-3裂解成分子量分别为17、50 kDa的多肽,这些片段被称为裂解的Tau(cleaved-tau, C-Tau)。来自受损微管的大量C-tau通过受损的血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)扩散到CSF和血清中^[43-44]。TBI后C-tau浓度显著提高且与不良预后相关^[45]。

3.3.3 髓磷脂碱性蛋白 髓鞘包裹在神经细胞轴突外侧,作用为防止神经电冲动从神经元轴突传递至另一神经元轴突。髓磷脂碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)是最丰富的髓鞘蛋白之一(30%),含有带正电荷的氨基酸残基簇,有助于髓磷脂鞘的压实^[46-47]。脱髓鞘疾病中,髓鞘的完整性丧失和髓磷脂蛋白的降解已被广泛研究^[46]。事实上,在TBI后,也会造成髓鞘的破坏,进而引起脑脊液和血液中MBP浓度的升高。血清和脑脊液MBP也已被作为TBI的生物标志物^[48-50]和预后评估指标^[51-53]。

3.3.4 神经元特异性烯醇化酶 神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)是糖酵解酶烯醇化酶的一种同工酶,主要位于神经元细胞质中,参与轴浆运输^[54-55]。正常情况下,完整神经元不会将NSE分泌到细胞外液中。当神经元的结构损伤时,NSE将泄露到细胞外液中,又经损坏的血脑屏障流至血液中,在血清中可检测到NSE^[56-57]。鉴于

其位置和丰度,体液中的NSE对轴突损伤应具有相对较高的特异性和敏感性^[58-59]。因此,NSE是作为创伤性脑损伤长期预后和临床监测的有效指标^[60-61]。且已有研究表明,DAI患者创伤初期的NSE与预后的关系密切相关^[56,62]。

3.3.5 S100 β S100 β 作为脑损伤的生物标志物被广泛研究。它是一种小的二聚体钙结合蛋白,位于多种细胞的细胞质和细胞核中,参与许多细胞过程的调节。中枢神经系统的神经胶质细胞和神经细胞是表达S100 β 最丰富的细胞。在脑损伤后,可以在血清中检测到更高浓度的S100 β 水平^[63]。且S100 β 浓度与DAI预后相关^[62]。

3.4 神经心理学检测

DAI与急性和亚急性损伤后阶段的意识障碍相关,表现为长时间昏迷。同时也与慢性恢复阶段的较差结果相关,相关的认知缺陷通常包括处理速度减慢、记忆和执行功能中断,尽管在损伤严重程度较轻的情况下,这些缺陷可能不太持久。由于临床DAI经常与其他颅脑损伤并发,目前尚无DAI特定的临床特征。虽然神经心理学测试无法直接确认DAI的存在和程度,但其提供了DAI发生概率的间接测量。针对TBI患者的神经心理学测试,可以在一定程度上反映DAI的严重程度。以下将介绍临床和动物实验中主要使用的神经心理学测试方法。

DAI严重程度的判断对于评估治疗方法有效性起着至关重要的作用。格拉斯哥昏迷评分(Glasgow coma scale, GCS)等标准化临床评分是评估患者状态的有用工具,可用于评估创伤严重程度和康复预后。GCS评分是由英国格拉斯哥大学Teasdale和Jennett教授于1974年发明,内容包括睁眼反应、言语反应和运动反应3项指标。确定3项反应的计分后,再累计记分,分数越低表明意识障碍越严重,预后越差。将颅脑损伤分为3个等级^[64]——轻型:GCS评分13~15分,意识障碍小于30 min;中型:GCS评分9~12分,意识障碍小于12 h;重型:GCS评分3~8分,意识障碍大于12 h或持续昏迷。但由于其未引入影像学信息,后续的脑损伤严重程度分级标准又进一步改进,加入了影像学分析结果。目前临床上常用的颅脑损伤分级标准为^[64]——轻型(单纯性脑震荡伴有或无颅骨骨折):昏迷时间0~30 min,仅有轻度头晕、头痛等自觉症状,无阳性

神经体征;中型(轻度脑挫裂伤伴有或无颅骨骨折及蛛网膜下腔出血,无脑受压者):昏迷时间小于12 h,有轻度神经系统阳性体征,体温呼吸脉搏血压轻度改变;重型(广泛颅骨骨折,广泛脑挫裂伤及脑干损伤或颅内血肿):昏迷时间大于12 h,意识障碍逐渐加重或出现再昏迷,有明显神经系统阳性体征,体温呼吸脉搏血压有明显改变;特重型(指重型中更急更重者):脑原发伤重伤后深昏迷,有去大脑强直或伴有其他部位的脏器伤、休克等,已有晚期脑疝,包括瞳孔散大、生命体征严重紊乱或呼吸已近停止。

GCS 依赖于对于言语因素和运动命令的反应评估,因而无法用于实验动物模型。因此,在实验动物中,也开发了一系列的方式验证 TBI 的严重程度以及预后程度。Gennarelli 等^[6]验证非人灵长类动物 DAI 和昏迷的关系。该研究根据昏迷时间将损伤动物判定为脑震荡和长期昏迷,昏迷时间少于15 min 定义为脑震荡;昏迷 16~119 min 定义为轻度长期创伤性昏迷;昏迷 2~6 h 定义为中度长期创伤性昏迷;昏迷时间超过 6 h 定义为严重长期创伤性昏迷。另外,该研究根据是否睁眼和视觉跟随定义昏迷阶段、初醒阶段和恢复阶段。将未睁眼阶段定义为昏迷阶段,双侧角膜反射消失为初始昏迷阶段,至少存在一种角膜反射为中间昏迷阶段;将至少 1 只眼睛可自发或响应有害刺激张开而无视觉跟随定义为初醒阶段;视觉自动跟随为恢复阶段。此外,根据动物行为判定动物的恢复程度。将没有明显的行为或神经功能缺损定义为良好恢复;存在行为或神经缺陷但动物能够自主进食和饮水定义为中度残疾;存在严重的神经功能障碍以至于无法进食和饮水定义为重度残疾。该研究发现昏迷时间小于 15 min 的动物,即该文定义的脑震荡动物,无 DAI 的产生。其他动物的昏迷时间与 DAI 程度和神经功能损伤相关,且该研究证明非人灵长类的冠状面旋转更易发生脑震荡。

Smith 等^[65]开发了一个数值昏迷评分系统,通过使用以下类别来表征脑损伤猪的无意识深度:角膜反射(0=无,1=单侧,2=双侧);疼痛反应(0=缺席,1=无任何意图的运动,2=有意图的运动);自发睁眼(0=阴性,2=阳性);翻正反射(2=阳性)。昏迷的严重程度取决于得分的总和;0~1 表示严重昏

迷,2~3 表示中度昏迷,4~5 表示轻度昏迷,6~8 表示昏迷。从受伤后立即开始,每隔 30 min 测定每只动物的昏迷评分。该研究发现,昏迷的严重程度与脑干轴突损伤程度相关,没有发现昏迷与其他脑区轴突损伤程度之间的关系。该研究认为脑干轴突损伤在创伤后立即昏迷的诱导中起主要作用,DAI 可在无昏迷的情况下发生。

在啮齿动物中,尤其是与旋转脑损伤相关的实验中,急性功能缺失评估(如角膜反射恢复时间和翻正反射恢复时间)被广泛测量^[66-73]。角膜反射消失时间作为无意识时间,更长的无意识时间与更严重的损伤相关。翻正反射的恢复时间作为另一个恢复指标,翻正反射的再现时间也与损伤严重程度相关。该两项指标可在损伤后即刻进行评估,且 DAI 与昏迷时间相关,因此,该两项指标的测量对于即刻评估旋转脑损伤程度较为重要。

神经行为功能障碍是 TBI 的后遗症之一。神经严重程度评分(neurological severity score, NSS)通常可作为测量 TBI 动物模型。Shapira 等^[74]首次将全球神经功能的早期临床前评估应用于 CHI 大鼠模型。该综合评分基于以下 5 项评估:① 翻正反射;② 偏瘫;③ 存在偏瘫;④ 寻求行为;⑤ 离开大环(直径 50 cm)的能力。自 NSS 最初发布以来,已进行了修改,以评估 TBI 后可能受损的运动功能的特定方面。目前,广泛使用的 NSS 评分标准主要有 3 种:25 分制、18 分制、10 分制,18 分制和 10 分制的评分标准均是在 25 分制的基础上改进。在实验中,通常对创伤后 1 h~2 周内的动物在不同时间点进行评分,研究目的包括创伤严重程度的评估和药物治疗疗效的评测。创伤后 1 h 的 NSS 与损伤严重程度相关,且与后续恢复程度相一致。因此,创伤后 1 h 的 NSS 被认为是损伤严重程度和预后预测的可靠指标。虽然 NSS 最早提出时是用来评估重物下降模型中啮齿类动物的脑损伤,但后来其他动物模型也使用 NSS 来评估啮齿类动物的神经损伤严重程度,其中包括单纯旋转的 DAI 模型。此外,重物下降模型中的 Marmarou 模型也可产生 DAI,该模型也广泛使用 NSS 进行脑损伤评估。

除了神经功能的评测外,根据实验目的的不同,TBI 实验还对创伤后 1 d~2 周啮齿类动物的运动功能、焦虑样行为、学习记忆能力等方面进行评

估。运动功能评估包括梁平衡任务、梁行走任务、斜面任务和旋转杆等。旷场实验(open field test, OFT)和高架十字迷宫测试(elevated plus maze, EPM)可用于评估焦虑样行为。对于学习记忆能力, Morris水迷宫实验可以用于评估啮齿类动物的空间学习和记忆能力,用于测量认知受损程度或药物治疗后的恢复情况。

4 脑损伤研究中常用的动物实验模型

4.1 脑损伤的动物模型

几十年来,已经开发了很多用于研究的脑损伤动物模型。本节中介绍的几种模型中,只有穿透损伤模型属于贯穿损伤,其他属于闭合头部损伤模型。闭合头部损伤模型又分为闭合头部击打模型、惯性损伤模型。惯性损伤模型包括爆炸损伤模型和加速度损伤模型。局灶性脑损伤的主要机制是头部受到接触碰撞造成的局部组织损伤。而弥漫性损伤主要是由线性加速度或者角加速度等惯性载荷冲击造成。混合损伤模型则包含了上述两种损伤类型^[75]。闭合头部击打模型主要造成局灶性的损伤,但其中部分模型也会与头部瞬时旋转相关,引起广泛DAI特点。惯性损伤模型由于与头部瞬时加/减速度息息相关,则会引起广泛的弥漫性损伤。

4.1.1 穿透损伤模型 穿透损伤模型(penetrating TBI models)旨在探讨穿透伤的影响,这些损伤通常可以由导弹、枪声或尖锐物体产生^[76-78]。实验中通常将撞击产生的能量控制在非致命水平。穿透损伤实验的动物包括猫^[79]、狗^[78]、绵羊^[80]、啮齿类动物^[81-82]等。该模型中脑组织将产生广泛的撕裂和粉碎,血管、神经元和轴突的拉伸,显著的出血腔、大量出血、伤口周围的血管源性水肿,颅内压升高,脑灌注压降低^[83]。

4.1.2 控制皮质冲击模型 受控皮质冲击(controlled cortical impact, CCI)模型以受控变量冲击,导致脑实质变形。该模型首先用于雪貂^[84],然后扩展到大鼠^[85]、小鼠^[86]、猪^[87]、非人灵长类^[88]、绵羊^[89]等实验对象。该模型的经典实验过程:通过开颅手术暴露硬脑膜,受到气动活塞或电磁制动器控制下的杆快速撞击,撞击时间、速度和深度均由计算机控制,可精确定量^[85]。CCI可导致皮质挫

伤、血管破裂(BBB损伤)、急性硬膜下血肿、颅内压增高和神经细胞损伤和变性。除开颅手术暴露硬脑膜外,CCI模型之后扩展到闭合性颅骨损伤,用于研究轻度和重复性TBI^[90-91]。由于该模型具有良好的可控性,因而可避免冲击后的反弹伤害危险,反弹伤害在重力下降模型中较为常见。同时,该模型的机械可控性也有助于探索脑损伤的潜在生化和分子机制。应注意的是,由于不同实验室CCI的校准不同,同样的实验参数可能产生的损伤程度不同^[92-94]。

4.1.3 液体冲击模型 20世纪60年代, Lindgren等^[95]已经开发了一种液体压力闭合性头部损伤模型,以产生“实验性脑震荡”。液体冲击伤(fluid percussion injury, FPI)被开发用于猫^[96],随后用于狗和羊^[97]、猪^[98]、兔子^[99]以及啮齿类动物^[100]。FPI模型用于复制无颅骨骨折的人的TBI,颅骨骨折会导致水肿、出血和灰质损伤^[101]。FPI模型分为中线FPI(midline FPI)和侧部FPI(lateral FPI),由冲击部位决定。该模型需先进行开颅手术,中线FPI需在冠矢点(bregma)和顶枕点(lambda)之间的矢状缝合线的中线颅骨上进行开窗并置入鲁尔锁(Luer lock),侧部FPI需在冠矢点(bregma)和顶枕点(lambda)之间中线外侧3.5 mm进行开窗并置入鲁尔锁。FPI中的损伤是由摆锤撞击充满流体的管子末端的活塞引起,然后流体压力脉冲通过鲁尔锁直接撞击暴露的硬脑膜。通过调整摆锤的高度,可以产生不同的流体压力脉冲,导致不同程度的脑组织变形、移位和损伤严重程度。与MFPI相比,LFPI模型具有如下显著的优势^[75,102]: ① MFPI模型在开颅手术中的微小位移会导致神经损伤结果的显著变化,模型再现性较差。而LFPI可以在组织病理学、行为和生理功能、损伤分析机制方面都具有更好的模型再现性。将颅骨切除术的位置从中线改变为侧向位置会改变组织最大损伤的位置,并将剪切成分引入损伤。② MFPI模型会产生矢状窦破裂,对脑干和呼吸中枢的压迫,死亡率较高。LFPI模型改善了上述情况且降低了死亡率。流体压力脉冲的主要损伤类型包括挫伤、组织剪切/拉伸、硬膜下血肿和出血。虽然FPI模型已经产生了有价值的血流动力学、电生理学和分子信息,但由于该模型将额外的液体引入硬脑膜上,其在TBI后颅内压

(intracranial pressure, ICP) 反应研究中的应用受到限制^[83]。

4.1.4 落体打击模型 落体打击伤 (weight drop injury, WDI) 模型是利用经管子引导的重物自由落体运动产生局部或弥漫性脑损伤。损伤的严重程度可根据重物下降的高度和质量进行调整。1981年, Feeney 等^[103]的 WDI 模型将冲击直接施加到硬脑膜上, 导致皮层挫伤、出血损伤、BBB 损伤、免疫细胞浸润以及根据损伤严重程度激活神经胶质细胞。之后, Shapira 等^[74]和 Chen 等^[104]将啮齿动物头部固定在硬平台上, 使用 WDI 进行了闭合头部损伤模型实验。上述这些模型中, 严重损伤会引起脑组织局灶性挫伤。1994年, Marmarou 等^[105]改进了 WDI, 该实验中将大鼠俯卧于弹性海绵垫上, 在颅骨表面固定 1 枚金属圆盘, 头部没有固定, 在力冲击下允许头部向下旋转, 重物落下后可引起的弥漫性损伤。Marmarou 模型已被广泛采用来制造 DBI。该模型需注意意外颅骨骨折的影响。同时, 在重物落下后应立即移开动物, 以免受到重物回弹引起的二次伤害。

4.1.5 旋转模型 目前已经开发了非撞击的头部加速和减速旋转模型。Gennarelli 等^[6]将灵长类的头部固定于带有连接杆的金属头盔中。该装置由一个可编程的气动装置启动, 带动连接杆推动带动头盔和动物头部旋转, 头部在 11~22 ms 内产生 60° 旋转, 旋转中心位于下颈椎。该模型实验结果显示蛛网膜下腔或硬膜下间隙少量出血, 额叶和颞叶少量挫伤, 以及分级 DAI。该研究还证实, 冠状面上的头部运动会导致广泛的轴突损伤和长时间昏迷, 而矢状面旋转会导致短暂的意识丧失且 DAI 程度较低。该研究提出, 冠状面头部加速导致的轴突损伤是导致长期创伤性昏迷及其后遗症的主要原因。使用类似的方法, Maxwell 等^[106]设计了一个 DAI 狒狒模型, 其中头部横向旋转 60°。在该模型中, 旋转时间减少到 6~8 ms。Ross 等^[107]使用类似模型诱导了猪的旋转脑损伤。Cullen 等^[3]使用定制的连杆和咬合板对损伤装置进行修改, 以便在猪脑中实现受控、有角度的头部旋转。通过这些技术调整, 猪惯性加速度模型能够产生与损伤严重程度相关分级 DAI。与灵长类动物的冠状旋转不同, 猪的轴向旋转导致了广泛的轴突损伤, 从而引起长时间的无

意识。在该模型中, 冠状旋转的损伤程度较低, 矢状和轴向旋转损伤的大脑出现了水肿和蛛网膜下腔/硬膜下出血, 出血点通常在小脑幕和大脑底部周围。

除了大型动物, 对于啮齿类动物, 头部旋转模型也已被开发。有学者开发了头部矢状面向后旋转模型^[4, 108-110]。将与鼠的颅骨轮廓匹配的连接板与其颅骨用牙科胶相连, 将连接板插入并固定到可绕水平轴自由旋转的旋转杆上。利用空气驱动器加速称为撞针的重物, 使其撞击位于撞针靶上的橡胶块, 产生的脉冲使旋转杆和动物头部受到矢状面向后的旋转加速度, 而后以接近恒定的速度向后旋转, 直至撞击到以泡沫包被的横梁终止。旋转加速度的大小是通过修改撞针速度来选择, 撞针速度通过修改专门设计的空气驱动加速器中的空气压力来改变。另外, 冠状侧向旋转模型也已经被开发^[67-68], 头部被固定在由力臂、上下支撑和前固定装置的头盔中, 冲击器击打沿着头盔的横向延伸部, 导致头盔和头部被限制在冠状面内旋转, 冲击能量传递到头部, 该装置可引起广泛的 DBI。此外, 啮齿类动物的冠状面瞬时旋转加速-减速损伤装置也已经被开发^[66, 71, 111-114]。将动物俯卧, 用双侧外耳棒和一个顶骨固定装置来将头部固定在旋转盘上。以大鼠脑质量为中心, 以弹簧的回复力作为驱动力, 带动圆盘和动物头部做侧向旋转, 转到预定角度(0°~90°)时, 运动突然停止。大鼠经该装置致伤后, 出现原发性昏迷, 呼吸节律异常等脑干损伤; 蛛网膜下腔出血、脑室出血、严重情况出现硬膜下血肿; 广泛的轴索肿胀、轴突球的形成, 以及脑干背外侧和胼胝体的点状出血灶^[66]。

4.1.6 爆炸损伤模型 当炸药被引爆时, 它会产生向外传播的高压波, 爆炸性创伤会导致严重的脑损伤。当前的爆炸模型既有大动物模型也有小动物模型。这些模型可大致分为露天暴露、爆炸管爆炸和带有压缩空气或气体的冲击管^[115]。爆炸性 TBI 的神经病理学包括神经元变性、胶质增生、脱髓鞘、微血管破裂和/或短暂性 BBB 损害^[116]。

4.2 实验动物模型的仿真度

当前, 各类实验动物已被用于各类 TBI 模型中, 用以重现人类 TBI 病理学特征和临床表现, 以期用于作为病理模型使用、或者用于 TBI 病理机制

和研究方法的研究。在对于 DAI 的研究中,由于 DAI 受到旋转加速度的影响较大,故不同动物颅骨、脑组织解剖结构的差异均对研究结果影响较大。

首先,剪切力和惯性载荷与大脑质量有关。与非人类灵长类动物和人类相比,大脑较小的动物可以承受更大的加速/减速载荷。DAI 的风险高度依赖于脑质量。DAI 通常是惯性载荷作用的结果,当颅骨加速或减速时,大脑由于惯性滞后于或继续相对于颅骨的运动,产生的组织间剪切应力是导致了 DAI 产生的原因之一。而大脑惯性的大小取决于脑组织的质量。因此,根据不同动物实验得到的损伤阈值需经比例公式的缩放^[117-118]才可与人类损伤阈值相当。

另外,动物是否存在脑回也影响 DAI 的结果。与没有脑回的大脑相比,有脑沟回的大脑在撞击后会发生更大的大脑变形^[119]。同时,脑沟回也影响角加速度下的应力分布,当受到角加速度时,无脑回动物的脑组织会产生均匀的应力场,脑表面经历较大的应力。而有脑沟回的动物中,最大应力会存在于脑沟底部,脑沟深部将产生更大的机械损伤。常见的 DAI 动物模型中,啮齿动物是最典型的无脑回实验动物。大多数的非人灵长类动物、猪、羊、狗都是有脑沟脑回的,但应注意的是,狨猴虽然是非人灵长类,但狨猴是无脑回的。此外,由于 DAI 的主要特征为轴突损伤,故不同动物脑白质量的多少也将影响 DAI 模型结果。DAI 动物实验模型优先选择非人灵长类动物,因为它们的脑回相对较大,具有丰富的白质区域;而啮齿类动物大脑具有相对稀疏的白质结构。尽管如此,许多啮齿动物头部撞击模型也清楚地发现了胼胝体、丘脑、脑干等处轴突肿胀的证据。

实验动物和人类的另一个差异是大脑和颅骨的结构。人类的大脑和脊髓的长轴几乎呈直角,只有非人灵长类动物和人类相似,在四足动物中大脑和脊髓的长轴是平行的,这也是由于人类和动物的行走方式不同引起。这种几乎线性的神经轴(neuroaxis)可能会阻碍头部撞击后的旋转剪切,并使受试者不易受到脑震荡的影响。颅骨的差异同样引起结果的不同。蝶骨小嵴是人类加速/减速损伤中大脑损伤的常见区域。虽然所有哺乳动物都有蝶骨,但不同物种的突起不同,啮齿类动物几乎

没有或没有嵴。同时,人类有一个坚硬的小脑幕,将大脑(幕上)和小脑(幕下)分开。绵羊、猪,特别是双足动物也有相对坚硬的小脑幕,但啮齿类动物有一个退化的结缔组织膜,充当小脑幕^[120]。坚硬的小脑幕的存在不仅对脑组织剪切力起作用,同时也影响颅内压。小脑幕在限制颅内压增加到幕上室中起着重要作用^[121]。由于啮齿动物的小脑幕是退化的结缔组织膜,故啮齿类动物幕上隔室压力的任何增加都可以很容易地分配到其他隔室。

非人灵长类模型和人类脑组织最为接近,但由于伦理问题,其他非灵长类大动物被引入实验中。相较于啮齿类动物,大动物模型与人类更为接近,以及由于其体积较大更易观察,对于损伤的生理和形态学表征非常有用,但在分子变化和功能结果的表征方面取得的进展较少。虽然啮齿类动物与人类有诸多差异,但不论从动物成本、设备成本,还是生化技术应用等层面,啮齿类动物仍然具有其强大优势,因此其依旧作为最基础的实验动物。啮齿类动物模型的开发在 DAI 的研究中起到不可或缺的作用,可以对生化和分子损伤机制进行更为深度的探索。

5 动物试验中的脑损伤准则及阈值

头部损伤标准似乎均是根据计算得到。最广泛公认的损伤标准是头部损伤准则(head injury criterion, HIC),然而其只关注线性加速度而受到广泛的批判。目前也已提出了旋转脑损伤相关的标准,如 BrIC^[122]、PRHIC^[123]、RIC^[123]和 UBrIC^[124]。这些计算依据的前人发表的临床和实验数据,包括但不限于美式足球运动员头部碰撞数据、动物实验、假人实验数据等。本文不关注数值和理论计算以及计算得到头部损伤标准,而关注临床和动物实验的部分。在临床和动物试验中,需要考虑以什么标准去判定动物是否损伤和以什么标准去评估损伤的严重程度,从而去确定损伤的阈值。

对于人类 TBI 患者,可通过 GCS^[125-126]或改良/扩展 GCS^[126]用于 TBI 诊断和判断损伤严重程度。GCS 是根据眼睛、言语和运动的 15 分神经评分。结合失去意识持续时间和 GSC 结构成像的临床指南将人类 TBI 分为轻度、中度和重度。然而,目前还没有确定的指南或标准来评估实验性 TBI 动物

模型中的损伤严重程度。在啮齿类动物中, Marmarou 等^[105]使用可导致 DBI 的重物下降模型, 根据死亡率定义脑损伤程度。将无死亡率的冲击定义为轻度颅脑损伤, 将约 50% 致死率的冲击定义为重度损伤(此时颅骨骨折率较低), 将重度损伤冲击能量减半的值定义为中度损伤组。Cernak 等^[127]使用重物冲击模型, 也利用创伤后 24 h 的死亡率确定损伤程度, 损伤程度由撞击位移决定, 分别设定了 16、17、18、19 和 20 mm 位移, 发现位移 16 mm 未导致任何死亡, 位移 17、18、19、20 mm 的死亡率分别为 12%、26%、56%、90%。将 18 mm 高度造成的损伤定义为中度损伤, 19/20 mm 定义为重度损伤。于建云等^[128]根据大鼠颅脑解剖病理学区分轻度脑损伤和重度脑损伤。轻度脑损伤标准: 颅脑病理解剖肉眼未见颅内出血、脑组织未见挫伤改变。中度脑损伤标准: 颅脑病理解剖肉眼可见硬膜外或/和硬膜下或/和蛛网膜下腔出血, 肉眼可见的脑组织点灶状挫伤出血。Namjoshi 等^[73]评估了 TBI 后神经损伤严重程度、旋转棒实验、开放场地实验、高架迷宫实验、组织学病理学和生物标志物, 该实验根据不同冲击能量是否造成以上所做实验中至少一种行为和神经病理学指标的显著变化, 以及实验组时间的显著差异来定义是否损伤。其发现冲击能量为 0.1~0.4 J 时, 与对照组 (Sham) 相比, 行为和神经病理学结果方面没有显著变化; 冲击能量为 0.5 J 时, 观察到至少 1 种行为和神经病理学指标的显著变化; 冲击能量为 0.6、0.7 J 产生的损伤明显大于 0.5 J。因此, 该实验将 7 个能量组的数据分为 4 类: Sham(0 J)、亚阈值(0.1、0.3 和 0.4 J), 阈值(0.5 J)、轻度 TBI(0.6 和 0.7 J)。

在 DAI 损伤程度的评估中, DAI 被分为 I 级(脑白质中广泛分布的轴索损伤)、II 级(除白质中广泛的 DAI 外, 伴有胼胝体局灶性损伤)、III 级(除上述两级的损伤特征外, 脑干背外侧局灶性损伤)^[5]。但对于更细致的 DAI 损伤分级时, 尚未有统一标准, 使用的标准各不相同。对于猪的旋转脑损伤, Smith 等^[65, 129]分别单独评估了以下脑区: 额叶、顶叶、颞叶和枕叶; 侧脑室区; 外囊; 大脑脚; 丘脑; 脑干。根据特定解剖区域每 1.2 mm² 面积的轴突损伤数量对轴突病理特进行评分, 定义 1~5 个受损轴突评级为轻度, 6~15 个受损轴突为中度, 超过

15 个受损的轴突评级为重度。对于啮齿类动物 DAI 损伤程度, Davidsson 等^[4]使用矢状旋转装置, 记录了创伤后存活 3~120 h 的鼠脑损伤情况, 只关注大脑部分的 DAI, 未关注脑干和小脑。结果发现, 皮质和胼胝体之间的交界处、丘脑、胼胝体下边缘、胼胝体内、尾状壳核、连合和海马区均可见 β APP 阳性轴突带。该研究将大脑分为额部、中部和枕部, 并从这 3 个区域各取两张切片, 对 β APP 进行计数, 根据每张切片阳性 β APP 的数量和形态分为 1~3 级。0 级为少量阳性 β APP; 1 级为 50~100 个阳性 β APP, 小且不对称; 2 级为 100~200 个阳性 β APP, 大且不对称; 3 级为大于 200 个阳性 β APP, 大且沿轴突延展。在该模型中, 发现额部的阳性 β APP 数量最多, 且在额叶切片中, β APP 阳性轴突在皮层和胼胝体之间的边界上最多, 在胼胝体和尾状核壳上也发现。根据产生的最开始发现产生阳性 β APP 的参数值定为损伤阈值, 并根据公式换算成人脑损伤阈值。此外, 该研究还测定了其他相关指标(COX2 和 S100)共同确认损伤阈值。

6 总结和展望

综上所述, DAI 是 DBI 的主要形式, 主要由旋转加速度产生。在现实生活中, 大多形式的 TBI, 包括机动车事故、碰撞运动、跌倒等, 均可或多或少地引起头部的旋转, 进而引起 DAI。当前的闭合性脑损伤 TBI 动物模型中, 大多可引起 DAI 病理特征。CCI 模型主要引起局灶性损伤。FPI 模型既可引起局灶性损伤, 又可引起 DAI 病理学特点。对于重物下降模型, Marmarou 等^[105]改进的模型已被广泛接受可导致 DBI, 但是该模型并非纯旋转加速度形式。由于 TBI 是异质性疾病, 多个损伤机制的叠加, TBI 的机制探索更为复杂。因此, 将不同因素单独抽离, 可能会更好探索其潜在机制。事实上, 旋转模型也已被开发, 可使动物瞬时旋转, 这使得研究单一旋转脑损伤成为可能。旋转脑损伤不仅与角加速度和角速度有关, 持续时间也是关键因素, 如若达到相同的损伤程度, 更小的角加速度需延长其持续时间^[67, 130]。然而, 目前的致伤设备均为瞬时旋转, 并不能精确控制持续时间, 且不能观察延长持续时间对于 DBI 病理的影响。因此, 开发可精确控制时间且可长时间旋转的纯旋转设备, 可能会提供

更多旋转运动下脑损伤信息,也可确定脑损伤阈值。

若要根据新的设备确定脑损伤的耐受曲线/曲面,需要大量的数据,需要判断动物是否损伤,以及损伤程度如何。然而,除了人类以外,在TBI动物实验中,并未有公认的损伤程度的标准,因此,需要在实验中确定有效且适应实验需求的方式定义损伤程度。若要评估动物脑损伤的程度和阈值,则需判断动物是否损伤,以及损伤严重程度。然而,除了人类以外,在TBI动物实验中,尚未有公认的损伤程度的标准。且根据实验目的的不同,各实验室提出的损伤标准也有差异。因此,应根据具体需求选择适合的实验动物类型,制定有效且适应实验需求的损伤程度标准。

在DAI的损伤程度中,根据胼胝体和脑干背外侧是否具有局灶性出血,共可分为Ⅲ级。然而,针对Ⅰ级中的大脑、脑干、小脑的轴突损伤位置和严重程度并未有公认的分类标准,这可能导致不能区分Ⅰ级损伤中的严重程度。由于创伤后不同存活时间下,DAI发生的部位和位置可能有所差异,因此,应严格控制动物创伤后处死时间,并在特定的时间和特定部位判断DAI的病理程度。此外,由于继发性脑损伤对轴突病理的影响较大,若要判断原发性损伤对轴突的影响,则应在创伤后早期2~3 h则进行判断(β APP最早在人脑损伤中1.75 h即可检测阳性,啮齿类动物的进程更快),以避免继发性损伤的影响。

另外,除了DAI程度,旋转脑损伤同样会拉伸血管,造成血管的撕裂损伤。且在长时间旋转下,呼吸、心率、血压等生理指标同样发生变化。宏观行为表现(昏迷、反射、神经损伤程度、运动、焦虑样症状、学习记忆功能等)可能不仅由轴突损伤所决定,上述的其他因素也可能造成较大的行为学差异。因此,在评估旋转运动下的脑损伤时,除了病理和行为测试外,其他指标的测量也很重要,包括生理指标的变化、是否发生蛛网膜下腔或硬膜下出血、脑实质内的出血灶、BBB通透性改变等。

本文提出以下展望:①开发新的时间可控的纯旋转加速度模型,利用该模型进行动物实验,确定旋转加速度、角速度、持续时间的脑损伤耐受曲线/曲面;②评估旋转脑损伤的病理机制。

参考文献:

- [1] THURMAN DJ, ALVERSON C, DUNN KA, *et al.* Traumatic brain injury in the United States: A public health perspective [J]. *J Head Trauma Rehabil*, 1999, 14(6): 602-615.
- [2] FAUL M, CORONADO V. Epidemiology of traumatic brain injury [J]. *Handb Clin Neurol*, 2015, 127: 3-13.
- [3] CULLEN DK, HARRIS JP, BROWNE KD, *et al.* A porcine model of traumatic brain injury via head rotational acceleration [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1462: 289-324.
- [4] DAVIDSSON J, ANGERIA M, RISLING M. Injury threshold for sagittal plane rotational induced diffuse axonal injuries [C]// *Proceedings of 2009 IRCOBI Conference*. York: IRCOBI, 2009: 43-56.
- [5] ADAMS JH, GRAHAM D, MURRAY LS, *et al.* Diffuse axonal injury due to nonmissile head injury in humans: An analysis of 45 cases [J]. *Ann Neurol*, 1982, 12(6): 557-563.
- [6] GENNARELLI TA, THIBAUT LE, ADAMS JH, *et al.* Diffuse axonal injury and traumatic coma in the primate [J]. *Ann Neurol*, 1982, 12(6): 564-574.
- [7] JOHNSON VE, STEWART W, SMITH DH. Axonal pathology in traumatic brain injury [J]. *Exp Neurol*, 2013, 246: 35-43.
- [8] ADAMS JH, DOYLE D, FORD I, *et al.* Diffuse axonal injury in head injury: Definition, diagnosis and grading [J]. *Histopathology*, 1989, 15(1): 49-59.
- [9] HOLBOURN A. Mechanics of head injuries [J]. *Lancet*, 1943, 242(6267): 438-441.
- [10] STRICH S. Shearing of nerve fibres as a cause of brain damage due to head injury: A pathological study of twenty cases [J]. *Lancet*, 1961, 278(7200): 443-448.
- [11] STRICH SJ. Diffuse degeneration of the cerebral white matter in severe dementia following head injury [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1956, 19(3): 163-185.
- [12] PEERLESS SJ, REWCASTLE NB. Shear injuries of the brain [J]. *Can Med Assoc J*, 1967, 96(10): 577-582.
- [13] ADAMS H, MITCHELL DE, GRAHAM DI, *et al.* Diffuse brain damage of immediate impact type. Its relationship to 'primary brain-stem damage' in head injury [J]. *Brain*, 1977, 100(3): 489-502.
- [14] ZIMMERMAN RA, BILANIUK LT, GENNERALLI T. Computed tomography of shearing injuries of the cerebral white matter [J]. *Radiology*, 1978, 127(2): 393-396.
- [15] SMITH DH, MEANEY DF. Axonal damage in traumatic brain injury [J]. *Neuroscientist*, 2000, 6(6): 483-495.
- [16] TANG-SCHOMER MD, JOHNSON VE, BAAS PW, *et al.*

- Partial interruption of axonal transport due to microtubule breakage accounts for the formation of periodic varicosities after traumatic axonal injury [J]. *Exp Neurol*, 2012, 233(1): 364-372.
- [17] SMITH DH, WOLF JA, LUSARDI TA, *et al.* High tolerance and delayed elastic response of cultured axons to dynamic stretch injury [J]. *J Neurosci*, 1999, 19(11): 4263-4269.
- [18] TANG-SCHOMER MD, PATEL AR, BAAS PW, *et al.* Mechanical breaking of microtubules in axons during dynamic stretch injury underlies delayed elasticity, microtubule disassembly, and axon degeneration [J]. *FASEB J*, 2010, 24(5): 1401-1410.
- [19] GEDDES-KLEIN DM, SCHIFFMAN KB, MEANEY DF. Mechanisms and consequences of neuronal stretch injury *in vitro* differ with the model of trauma [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(2): 193-204.
- [20] POVLISHOCK JT, CHRISTMAN CW. The pathobiology of traumatically induced axonal injury in animals and humans: A review of current thoughts [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(4): 555-564.
- [21] GENNARELLI TA, THIBAUT LE, TIPPERMAN R, *et al.* Axonal injury in the optic nerve: A model simulating diffuse axonal injury in the brain [J]. *J Neurosurg*, 1989, 71(2): 244-253.
- [22] MAXWELL WL, KANSAGRA AM, GRAHAM DI, *et al.* Freeze-fracture studies of reactive myelinated nerve fibres after diffuse axonal injury [J]. *Acta Neuropathol*, 1988, 76(4): 395-406.
- [23] MAXWELL WL, GRAHAM IA, ADAMS JH, *et al.* Focal axonal injury: The early axonal response to stretch [J]. *J Neurocytol*, 1991, 20(3): 157-164.
- [24] TOMEI G, SPAGNOLI D, DUCATI A, *et al.* Morphology and neurophysiology of focal axonal injury experimentally induced in the guinea pig optic nerve [J]. *Acta Neuropathol*, 1990, 80(5): 506-513.
- [25] SMITH DH, HICKS R, POVLISHOCK JT. Therapy development for diffuse axonal injury [J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(5): 307-323.
- [26] STRITCH S. Shearing of nerve fibers as a cause of brain damage due to head injury [J]. *Lancet*, 1961, 2(3): 443.
- [27] BLUMBERGS PC, SCOTT G, VIS JM, *et al.* Topography of axonal injury as defined by amyloid precursor protein and the sector scoring method in mild and severe closed head injury [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(4): 565-572.
- [28] GENTLEMAN SM, ROBERTS GW, GENNARELLI TA, *et al.* Axonal injury: A universal consequence of fatal closed head injury? [J]. *Acta Neuropathol*, 1995, 89(6): 537-543.
- [29] LAWRENCE TP, STEEL A, EZRA M, *et al.* MRS and DTI evidence of progressive posterior cingulate cortex and corpus callosum injury in the hyper-acute phase after traumatic brain injury [J]. *Brain Inj*, 2019, 33(7): 854-868.
- [30] BAZARIAN JJ, ZHONG J, BLYTH B, *et al.* Diffusion tensor imaging detects clinically important axonal damage after mild traumatic brain injury: A pilot study [J]. *J Neurotrauma*, 2007, 24(9): 1447-1459.
- [31] BAZARIAN JJ, ZHU T, BLYTH B, *et al.* Subject-specific changes in brain white matter on diffusion tensor imaging after sports-related concussion [J]. *Magn Reson Imaging*, 2012, 30(2): 171-180.
- [32] MAYER AR, LING J, MANNELL MV, *et al.* A prospective diffusion tensor imaging study in mild traumatic brain injury [J]. *Neurology*, 2010, 74(8): 643-650.
- [33] MILES L, GROSSMAN RI, JOHNSON G, *et al.* Short-term DTI predictors of cognitive dysfunction in mild traumatic brain injury [J]. *Brain Inj*, 2008, 22(2): 115-122.
- [34] WILDE EA, MCCAULEY SR, HUNTER JV, *et al.* Diffusion tensor imaging of acute mild traumatic brain injury in adolescents [J]. *Neurology*, 2008, 70(12): 948-955.
- [35] PETZOLD A. Neurofilament phosphoforms: surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss [J]. *J Neurol Sci*, 2005, 233(1-2): 183-198.
- [36] CHEN XH, MEANEY DF, XU BN, *et al.* Evolution of neurofilament subtype accumulation in axons following diffuse brain injury in the pig [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1999, 58(6): 588-596.
- [37] SHAHIM P, POLITIS A, VAN DER MERWE A, *et al.* Neurofilament light as a biomarker in traumatic brain injury [J]. *Neurology*, 2020, 95(6): e610-e622.
- [38] KHALIL M, TEUNISSEN CE, OTTO M, *et al.* Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders [J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14(10): 577-589.
- [39] ŽUREK J, BARTLOVÁ L, FEDORA M. Hyperphosphorylated neurofilament NF-H as a predictor of mortality after brain injury in children [J]. *Brain Inj*, 2011, 25(2): 221-226.
- [40] VAJTR D, BENADA O, LINZER P, *et al.* Immunohistochemistry and serum values of S-100B, glial fibrillary acidic protein, and hyperphosphorylated neurofilaments in brain injuries [J]. *Soud Lek*, 2012, 57(1): 7-12.
- [41] ÖST M, NYLEN K, CSAJBOK L, *et al.* Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury [J]. *Neurology*, 2006, 67(9): 1600-1604.
- [42] TEUNISSEN CE, DIJKSTRA C, POLMAN C. Biological

- markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis [J]. *Lancet Neurol*, 2005, 4(1): 32-41.
- [43] ZEMLAN FP, JAUCH EC, MULCHAHEY JJ, *et al.* C-tau biomarker of neuronal damage in severe brain injured patients; Association with elevated intracranial pressure and clinical outcome [J]. *Brain Res*, 2002, 947(1): 131-139.
- [44] CENGIZ P, ZEMLAN F, ELLENBOGEN R, *et al.* Cerebrospinal fluid cleaved-tau protein and 9-hydroxyoctadecadienoic acid concentrations in pediatric patients with hydrocephalus [J]. *Pediatr Crit Care Me*, 2008, 9(5): 524-529.
- [45] SHAW GJ, JAUCH EC, ZEMLAN FP. Serum cleaved tau protein levels and clinical outcome in adult patients with closed head injury [J]. *Ann Emerg Med*, 2002, 39(3): 254-257.
- [46] LIU MC, AKLE V, ZHENG W, *et al.* Extensive degradation of myelin basic protein isoforms by calpain following traumatic brain injury [J]. *J Neurochem*, 2006, 98(3): 700-712.
- [47] OTTENS AK, GOLDEN EC, BUSTAMANTE L, *et al.* Proteolysis of multiple myelin basic protein isoforms after neurotrauma: Characterization by mass spectrometry [J]. *J Neurochem*, 2008, 104(5): 1404-1414.
- [48] SU E, BELL MJ, KOCHANNEK PM, *et al.* Increased CSF concentrations of myelin basic protein after TBI in infants and children; Absence of significant effect of therapeutic hypothermia [J]. *Neurocrit Care*, 2012, 17(3): 401-407.
- [49] BERGER RP, DULANI T, ADELSON PD, *et al.* Identification of inflicted traumatic brain injury in well-appearing infants using serum and cerebrospinal markers; A possible screening tool [J]. *Pediatrics*, 2006, 117(2): 325-332.
- [50] BERGER RP, ADELSON PD, PIERCE MC, *et al.* Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children [J]. *J Neurosurg*, 2005, 103(1 Suppl): 61-68.
- [51] BERGER RP, BEERS SR, RICHICHI R, *et al.* Serum biomarker concentrations and outcome after pediatric traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2007, 24(12): 1793-1801.
- [52] THOMAS DG, PALFREYMAN JW, RATCLIFFE JG. Serum-myelin-basic-protein assay in diagnosis and prognosis of patients with head injury [J]. *Lancet*, 1978, 1(8056): 113-115.
- [53] YAMAZAKI Y, YADA K, MORII S, *et al.* Diagnostic significance of serum neuron-specific enolase and myelin basic protein assay in patients with acute head injury [J]. *Surg Neurol*. 1995, 43(3): 267-270.
- [54] LI XY, FENG DF. Diffuse axonal injury: Novel insights into detection and treatment [J]. *J Clin Neurosci*, 2009, 16(5): 614-619.
- [55] DE KRUIJK J, LEFFERS P, MENHEERE P, *et al.* S-100B and neuron-specific enolase in serum of mild traumatic brain injury patients. A comparison with healthy controls [J]. *Acta Neurol Scand*, 2001, 103(3): 175-179.
- [56] 成惠林, 王汉东. 弥漫性轴突损伤患者血清神经元特异性烯醇化酶的变化及意义[J]. *医学研究生学报*, 2000, 13(3): 152-153.
- [57] BANDYOPADHYAY S, HENNES H, GORELICK MH, *et al.* Serum neuron-specific enolase as a predictor of short-term outcome in children with closed traumatic brain injury [J]. *Acad Emerg Med*, 2005, 12(8): 732-738.
- [58] HANS VH, KOSSMANN T, LENZLINGER PM, *et al.* Experimental axonal injury triggers interleukin-6 mRNA, protein synthesis and release into cerebrospinal fluid [J]. *J Cerebr Blood F Met*, 1999, 19(2): 184-194.
- [59] BERGER RP, PIERCE MC, WISNIEWSKI SR, *et al.* Neuron-specific enolase and S100B in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children [J]. *Pediatrics*, 2002, 109(2): E31.
- [60] BEGAZ T, KYRIACOU DN, SEGAL J, *et al.* Serum biochemical markers for post-concussion syndrome in patients with mild traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(8): 1201-1210.
- [61] GRADISEK P, OSREDKAR J, KORSIC M, *et al.* Multiple indicators model of long-term mortality in traumatic brain injury [J]. *Brain Inj*, 2012, 26(12): 1472-1481.
- [62] CHABOK SY, MOGHADAM AD, SANEEI Z, *et al.* Neuron-specific enolase and S100BB as outcome predictors in severe diffuse axonal injury [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 72(6): 1654-1657.
- [63] GEYER C, ULRICH A, GRAFE G, *et al.* Diagnostic value of S100B and neuron-specific enolase in mild pediatric traumatic brain injury [J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2009, 4(4): 339-344.
- [64] 李培建. 弥漫性轴索损伤的诊断和治疗 [J]. *中华神经创伤外科电子杂志*, 2017, 4(3): 65-68.
- [65] SMITH DH, NONAKA M, MILLER R, *et al.* Immediate coma following inertial brain injury dependent on axonal damage in the brainstem [J]. *J Neurosurg*, 2000, 93(2): 315-322.
- [66] SHENG XH, YU YS, XIANG Z, *et al.* Diffuse axonal injury due to lateral head rotation in a rat model [J]. *J Neurosurg*, 2000, 93(4): 626-633.
- [67] FIJALKOWSKI RJ, STEMPEL BD, PINTAR FA, *et al.* Influence of angular acceleration duration on functional

- outcomes following mild diffuse brain injury [C]// Proceedings of 2007 IRCOBI conference. Maastricht: IRCOBI, 2007; 161-171.
- [68] FIJALKOWSKI RJ, STEMPER BD, PINTAR FA, *et al.* New rat model for diffuse brain injury using coronal plane angular acceleration [J]. *J Neurotrauma*, 2007, 24(8): 1387-1398.
- [69] WANG HC, DUAN ZX, WU FF, *et al.* A new rat model for diffuse axonal injury using a combination of linear acceleration and angular acceleration [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(4): 707-719.
- [70] LI Y, ZHANG LY, KALLAKURI S, *et al.* Quantitative relationship between axonal injury and mechanical response in a rodent head impact acceleration model [J]. *J Neurotrauma*, 2011, 28(9): 1767-1782.
- [71] FRANK D, MELAMED I, GRUENBAUM BF, *et al.* Induction of diffuse axonal brain injury in rats based on rotational acceleration [J]. *J Vis Exp*, 2020, 159: e61198.
- [72] WANG G, ZHANG YP, GAO Z, *et al.* Pathophysiological and behavioral deficits in developing mice following rotational acceleration-deceleration traumatic brain injury [J]. *Dis Model Mech*, 2018, 11(1): dmm030387.
- [73] NAMJOSHI DR, CHENG WH, BASHIR A, *et al.* Defining the biomechanical and biological threshold of murine mild traumatic brain injury using CHIMERA (Closed Head Impact Model of Engineered Rotational Acceleration) [J]. *Exp Neurol*, 2017, 292: 80-91.
- [74] SHAPIRA Y, SHOHAMI E, SIDI A, *et al.* Experimental closed head injury in rats: Mechanical, pathophysiologic, and neurologic properties [J]. *Crit Care Med*, 1988, 16(3): 258-265.
- [75] MA X, ARAVIND A, PFISTER BJ, *et al.* Animal models of traumatic brain injury and assessment of injury severity [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(8): 5332-5345.
- [76] CAREY ME, SARNA GS, FARRELL JB, *et al.* Experimental missile wound to the brain [J]. *J Neurosurg*, 1989, 71(5 Pt 1): 754-764.
- [77] CROCKARD HA, BROWN FD, JOHNS LM, *et al.* An experimental cerebral missile injury model in primates [J]. *J Neurosurg*, 1977, 46(6): 776-783.
- [78] TAN Y, ZHOU S, LIU Y, *et al.* A gross and microscopic study of cerebral injuries accompanying maxillofacial high-velocity projectile wounding in dogs [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1998, 56(3): 345-348.
- [79] CAREY ME, SARNA GS, Farrell JB. Brain edema following an experimental missile wound to the brain [J]. *J Neurotrauma*, 1990, 7(1): 13-20.
- [80] FINNIE JW, MANAVIS J, BLUMBERGS PC, *et al.* Brain damage in sheep from penetrating captive bolt stunning [J]. *Aust Vet J*, 2002, 80(1-2): 67-69.
- [81] WILLIAMS AJ, HARTINGS JA, LU XC, *et al.* Characterization of a new rat model of penetrating ballistic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2005, 22(2): 313-331.
- [82] PLANTMAN S, NG KC, LU J, *et al.* Characterization of a novel rat model of penetrating traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2012, 29(6): 1219-1232.
- [83] VINK R. Large animal models of traumatic brain injury [J]. *J Neurosci Res*, 2018, 96(4): 527-535.
- [84] LIGHTHALL JW. Controlled cortical impact: A new experimental brain injury model [J]. *J Neurotrauma*, 1988, 5(1): 1-15.
- [85] DIXON CE, CLIFTON GL, LIGHTHALL JW, *et al.* A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat [J]. *J Neurosci Methods*, 1991, 39(3): 253-262.
- [86] SMITH DH, SOARES HD, PIERCE JS, *et al.* A model of parasagittal controlled cortical impact in the mouse: Cognitive and histopathologic effects [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(2): 169-178.
- [87] MANLEY GT, ROSENTHAL G, LAM M, *et al.* Controlled cortical impact in swine: Pathophysiology and biomechanics [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(2): 128-139.
- [88] KING C, ROBINSON T, DIXON CE, *et al.* Brain temperature profiles during epidural cooling with the ChillerPad in a monkey model of traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(10): 1895-1903.
- [89] DUTCHKE J, ANDERSON R, SANDOZ B, *et al.* A biomechanical model of traumatic contusional injury produced by controlled cerebrocortical indentation in sheep [C]//Proceedings of 2016 IRCOBI Conference. Malaga: IRCOBI, 2016; 354-368.
- [90] CHEN Y, MAO H, YANG KH, *et al.* A modified controlled cortical impact technique to model mild traumatic brain injury mechanics in mice [J]. *Front Neurol*, 2014, 5: 100.
- [91] SMITH SL, HALL ED. Mild pre- and posttraumatic hypothermia attenuates blood-brain barrier damage following controlled cortical impact injury in the rat [J]. *J Neurotrauma*, 1996, 13(1): 1-9.
- [92] BUDINICH CS, CHEN H, LOWE D, *et al.* Mouse brain PSA-NCAM levels are altered by graded-controlled cortical impact injury [J]. *Neural Plast*, 2012, doi: 10.1155/2012/378307.
- [93] WASHINGTON PM, FORCELLI PA, WILKINS T, *et al.* The effect of injury severity on behavior: A phenotypic study of cognitive and emotional deficits after mild, moderate, and severe controlled cortical impact injury in mice [J]. *J Neurotrauma*, 2012, 29(13): 2283-2296.
- [94] IGARASHI T, POTTS MB, NOBLE-HAEUSSLEIN LJ. Injury severity determines Purkinje cell loss and microglial

- activation in the cerebellum after cortical contusion injury [J]. *Exp Neurol*, 2007, 203(1): 258-268.
- [95] LINDGREN S, KINDER L. Production and distribution of intracranial and intraspinal pressure changes at sudden extradural fluid volume input in rabbits [J]. *Acta Physiol Scand*, 1969, 76(3): 340-351.
- [96] SULLIVAN HG, MARTINEZ J, BECKER DP, *et al.* Fluid-percussion model of mechanical brain injury in the cat [J]. *J Neurosurg*, 1976, 45(5): 521-534.
- [97] MILLEN JE, GLAUSER FL, FAIRMAN RP. A comparison of physiological responses to percussive brain trauma in dogs and sheep [J]. *J Neurosurg*, 1985, 62(4): 587-591.
- [98] PFENNINGER EG, REITH A, BREITIG D, *et al.* Early changes of intracranial pressure, perfusion pressure, and blood flow after acute head injury. Part 1: An experimental study of the underlying pathophysiology [J]. *J Neurosurg*, 1989, 70(5): 774-779.
- [99] HÄRTL R, MEDARY M, RUGE M, *et al.* Blood-brain barrier breakdown occurs early after traumatic brain injury and is not related to white blood cell adherence [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 1997, 70: 240-242.
- [100] DIXON CE, LYETH BG, POVLISHOCK JT, *et al.* A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat [J]. *J Neurosurg*, 1987, 67(1): 110-119.
- [101] THOMPSON HJ, LIFSHITZ J, MARKLUND N, *et al.* Lateral fluid percussion brain injury: A 15-year review and evaluation [J]. *J Neurotrauma*, 2005, 22(1): 42-75.
- [102] LYETH BG. Historical review of the fluid-percussion TBI model [J]. *Front Neurol*, 2016, 7: 217.
- [103] FEENEY DM, BOYESON MG, LINN RT, *et al.* Responses to cortical injury; I. Methodology and local effects of contusions in the rat [J]. *Brain Res*, 1981, 211(1): 67-77.
- [104] CHEN Y, CONSTANTINI S, TREMBOVLER V, *et al.* An experimental model of closed head injury in mice: Pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits [J]. *J Neurotrauma*, 1996, 13(10): 557-568.
- [105] MARMAROU A, FODA MA, VAN DEN BRINK W, *et al.* A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics [J]. *J Neurosurg*, 1994, 80(2): 291-300.
- [106] MAXWELL W, WATT C, GRAHAM D, *et al.* Ultrastructural evidence of axonal shearing as a result of lateral acceleration of the head in non-human primates [J]. *Acta Neuropathol*, 1993, 86(2): 136-144.
- [107] ROSS DT, MEANEY DF, SABOL MK, *et al.* Distribution of forebrain diffuse axonal injury following inertial closed head injury in miniature swine [J]. *Exp Neurol*, 1994, 126(2): 291-299.
- [108] DAVIDSSON J, RISLING M. A new model to produce sagittal plane rotational induced diffuse axonal injuries [J]. *Front Neurol*, 2011, 2: 41.
- [109] ROSTAMI E, DAVIDSSON J, NG KC, *et al.* A model for mild traumatic brain injury that induces limited transient memory impairment and increased levels of axon related serum biomarkers [J]. *Front Neurol*, 2012, 3: 115.
- [110] LOSURDO M, DAVIDSSON J, SKOLD MK. Diffuse axonal injury in the rat brain: Axonal injury and oligodendrocyte activity following rotational injury [J]. *Brain Sci*, 2020, 10(4): 229.
- [111] 刘晓斌, 宋锦宁, 陈景宇, 等. 脑弥漫性轴索损伤实验装置的研制及动物模型的建立 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2008, 29(5): 595-598.
- [112] SHENG HX, XIANG Z, ZHOU F, *et al.* Calcium overloading in traumatic axonal injury by lateral head rotation: A morphological evidence in rat model [J]. *J Clin Neurosci*, 2004, 11(4): 402-407.
- [113] LI Y, SONG J, LIU X, *et al.* High expression of STIM1 in the early stages of diffuse axonal injury [J]. *Brain Res*, 2013, 1495: 95-102.
- [114] MA YF, WU ZH, GAO M, *et al.* Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 antioxidant response element pathways protect bovine mammary epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative damage *in vitro* [J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101(6): 5329-5344.
- [115] ROSTAMI E. Traumatic brain injury models in animals [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1462: 47-59.
- [116] XIONG Y, MAHMOOD A, CHOPP M. Animal models of traumatic brain injury [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14(2): 128-142.
- [117] OMMAYA AK, HIRSCH AE, YARNELL P, *et al.* Scaling of experimental data on cerebral concussion in sub-human primates to concussion threshold for man [C]// *Proceedings of 11th Stapp Car Crash Conference*. Anaheim: STAAP, 1967.
- [118] MISSIOS S, HARRIS BT, DODGE CP, *et al.* Scaled cortical impact in immature swine: Effect of age and gender on lesion volume [J]. *J Neurotrauma*, 2009, 26(11): 1943-1951.
- [119] FINNIE J. Animal models of traumatic brain injury: A review [J]. *Aust Vet J*, 2001, 79(9): 628-633.
- [120] KLINTWORTH GK. The comparative anatomy and phylogeny of the tentorium cerebelli [J]. *Anat Rec*, 1968, 160(3): 635-642.
- [121] BULL J. *Tentorium cerebelli* [M]. USA: SAGE Publications. 1969.
- [122] TAKHOUNTS EG, HASIJA V, RIDELLA SA, *et al.* Kinematic rotational brain injury criterion (BRIC) [C]//Pro-

- ceedings of 22nd International Technical Conference on the Enhanced Safety of Vehicles. Washington DC: [s. n.], 2011.
- [123] KIMPARA H, IWAMOTO M. Mild traumatic brain injury predictors based on angular accelerations during impacts [J]. *Ann Biomed Eng*, 2012, 40(1): 114-126.
- [124] GABLER LF, CRANDALL JR, PANZER MB. Development of a metric for predicting brain strain responses using head kinematics [J]. *Ann Biomed Eng*, 2018, 46(7): 972-985.
- [125] MAAS AI, LINGSMA H, GROUP IS. New approaches to increase statistical power in TBI trials: Insights from the IMPACT study [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2008, 101: 119-124.
- [126] LU J, MARMAROU A, LAPANE K, *et al.* A method for reducing misclassification in the extended Glasgow outcome score [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(5): 843-852.
- [127] CERNAK I, VINK R, ZAPPLE DN, *et al.* The pathobiology of moderate diffuse traumatic brain injury as identified using a new experimental model of injury in rats [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 17(1): 29-43.
- [128] 于建云, 李俊祥, 郭泽云, 等. 实验大鼠轻中型闭合性脑损伤昏迷指标与分级标准[J]. *法医学杂志*, 2008, 24(1): 8-11.
- [129] SMITH DH, CHEN XH, XU BN, *et al.* Characterization of diffuse axonal pathology and selective hippocampal damage following inertial brain trauma in the pig [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1997, 56(7): 822-834.
- [130] GENNARELLI TA, THIBAUT LE. Biomechanics of acute subdural hematoma [J]. *J Trauma*, 1982, 22(8): 680-686.