

Evaluation of a Method for Causing Moderate Traumatic Brain Injury in Rats

Hamid Reza Rasouli¹, Mehdi Mohammadian Salim¹, Mersad Mehrnahad², Shahram Manoochehry¹, Mohammad Eslamian¹, Samira Talebi³, Fathollah Ahmadpour^{1*}

¹Trauma Research Center, Clinical Sciences Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

³National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

Received: 20 November 2022 Accepted: 28 May 2023

Abstract

Background and Aim: Traumatic Brain Injury (TBI) is the prevalent cause of mortality, morbidity. We need to do more research on the animal model to study this injury in detail. So, this study aimed to create a moderate TBI model with a pendulum in male rats.

Methods: In this study, 14 male Wistar rats weighing 230 ± 10 grams were prepared and kept in the laboratory environment for one week to adapt to the laboratory conditions. Grouping was done randomly in two groups the control and the trauma group. To create TBI, a pendulum with a weight of 10 kg and a length of 40 cm was made with steel profiles of 2 cm. The force on the skull caused a moderate brain injury. Then, the mice were tested by examining their behavior (Morris blue puzzle test) and using a microCT-Scan.

Results: In the study of the images obtained from the CT scan by comparing the two groups, moderate subdural brain damage was confirmed in the trauma group ($P < 0.001$). The first week was for training and learning the mice in the environment of this experiment. The learning process was carried out during the first week when the duration of finding the glass platform of each mouse was recorded on different days. Further investigation of the behavior of rats in the trauma group showed that the average duration of finding the platform increased compared to the control group ($P < 0.001$).

Conclusion: The device designed in this study could create a rat brain trauma model, so it is hoped that this device can be used in other studies.

Keywords: Moderate Brain Trauma, Behavior, Skull, Subdural, Injury.

بررسی یک روش برای ایجاد ترومای متوسط مغزی توسط آونگ در موش صحرایی نر

حمیدرضا رسولی^۱، مهدی محمدیان سلیم^۱، مرصاد مهرنهاد^۲، شهرام منوچهری^۱، محمد اسلامیان^۱،
سمیرا طالبی^۳، فتح‌الله احمدپور^{۱*}

^۱ مرکز تحقیقات تروما، پژوهشکده علوم بالینی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

^۲ دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

^۳ پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: آسیب تروماتیک مغزی (TBI) عامل اصلی ناتوانی، مرگ و میر و اختلالات روانی است. برای مطالعه دقیق این آسیب ما نیاز به انجام کارهای تحقیقاتی بیشتر در مدل حیوانی هستیم، از این رو اقدام به بررسی یک روش جدید برای ایجاد ترومای متوسط مغزی توسط آونگ ساخته شده برای مدل حیوانی در موش‌های صحرایی نر شد.

روش‌ها: برای انجام این تحقیق در ابتدا ۱۴ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 10 ± 230 گرم تهیه شده و جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند. گروه‌بندی به صورت تصادفی در دو گروه هفت‌تایی شاهد و گروه تروما انجام گرفت که به ترتیب گروه شاهد بدون تغییر و گروه تروما با آونگ ساخته شده مورد آسیب و ایجاد ضربه مغزی قرار گرفت. برای ایجاد این ضربه اقدام به ساخت یک آونگ به وزن ۱۰ کیلوگرم و طول ۴۰ سانتی‌متر با پروفیل‌های استیل ۲ سانتی‌متری شد که ارتفاع پرتاب این آونگ توسط صفحه مدرجی به شعاع ۳۴ سانتی‌متر کنترل و تنظیم می‌گردید. نیروی وارده به جمجمه باعث ایجاد ضربه متوسط مغزی گردید. سپس با بررسی رفتارشناسی و استفاده از دستگاه میکروسی‌تی موش‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: در مطالعه تصاویر به دست آمده از سی‌تی اسکن با مقایسه دو گروه، در گروه تروما آسیب متوسط مغزی از نوع سابدورال تایید گردید ($P < 0.001$). یافته‌های حاصل از آزمون معمای آبی موریس طی سه هفته یادداشت شد. هفته اول برای آموزش دادن و یادگیری موش‌ها با محیط این آزمایش بود. روند یادگیری طی هفته اول انجام پذیرفت که مدت زمان یافتن سکوی شیشه‌ای هر موش در روزهای مختلف ثبت گردید. بررسی بیشتر رفتارشناسی موش‌ها نیز در گروه تروما نشان داد میانگین مدت زمان یافتن سکو نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: دستگاه طراحی شده در این مطالعه به خوبی توانست مدل ترومای مغزی موش را به صورت فیزیکی ایجاد کند که امید است این مدل دستگاه در مطالعات آینده قابل استفاده باشد.

کلیدواژه‌ها: ترومای متوسط مغزی، رفتارشناسی، جمجمه، سابدورال، جراحی.

مقدمه

نشان داده است که ۵۵٪ از بیمارانی که در حالت اغما پذیرش می‌شوند، از آسیب منتشر مغزی رنج می‌برند، که تنها ۱۲/۶ درصد از آن‌ها به‌وسیله اسکن مغزی تشخیص داده می‌شوند و نیز نشان داده شده است (۶) در طی دهه گذشته محققین تلاش بسیاری برای یافتن مدل‌های تجربی مناسب ضربه مغزی در نمونه‌های غیرانسانی نموده‌اند، اما تا کنون هیچ کدام از مدل‌های معرفی شده نتوانسته است تمامی جنبه‌های آسیب مغزی ناشی از ضربه را نشان دهد (۷). شایع‌ترین مدل‌های ترومای مغزی عبارتند از: Impact acceleration model, Weight drop model, Control cortical impact model, Fluid percussion model بعضی از این روش‌ها منجر به آسیب‌های موضعی در بافت مغزی می‌شوند. به عنوان مثال در مدل Fluid percussion آسیب مشخص در ناحیه پایه مغز به وجود می‌آید (۶،۷).

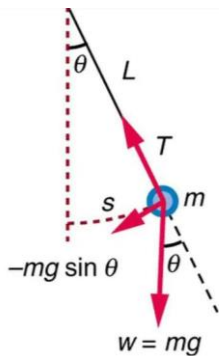
مدل‌های مختلف TBI در حیوانات برای مدل‌سازی مکانیسم‌های آسیب مختلف مرتبط با TBI انسانی توسعه یافته‌اند. مدل‌های موش Marmarou26 و Shohami91 به طور گسترده برای CHI استفاده می‌شوند و به ترتیب آسیب مغزی منتشر و کانونی را تولید می‌کنند. احتمالاً به دلیل تکرارپذیری عالی، این دو مدل پرکاربردترین مدل‌های موش برای TBI هستند. تحقیقات فزاینده‌ای در مورد انفجار TBI و ضربه‌های مغزی مرتبط با ورزش، بهیژه TBI خفیف مکرر وجود دارد. اگرچه مدل‌های حیوانی کوچک در تحقیقات TBI برای بررسی مکانیسم‌های اساسی و آسیب‌شناسی TBI و آزمایش اثربخشی درمانی استفاده شده است (۹،۱۰)، تحقیقات موفقیت‌آمیز TBI در این مدل‌های حیوانی منجر به بهبود قابل توجهی در نتایج بالینی بیماران مبتلا به TBI نشده است. یکی از موانع اصلی این است که به دلیل مسائل اخلاقی و مالی، محققان به ندرت از مدل‌های حیوانی بزرگ با معنی TBI برای نظارت بر پارامترهای فیزیولوژیکی مرتبط بالینی و نتایج عملکردی و/یا شناختی بلندمدت و آزمایش استفاده می‌کنند (۳،۷). بنابراین اثربخشی درمان‌های جدید، توسعه بیشتر و استفاده فزاینده از گونه‌های بالاتر با مغزهایی که از نظر تشریحی و عملکردی به انسان نزدیک‌تر هستند، بسیار مهم است. حداقل، قبل از شروع کارآزمایی‌های بالینی، یک درمان مؤثر در جوندگان باید اثربخشی آن در مدل‌های حیوانی بزرگ که از نزدیک پاتوژنز پیچیده TBI در انسان را تقلید می‌کنند، تأیید شود. در سال‌های اخیر گزینه‌های درمانی امیدوارکننده‌ای ظاهر شده است، شکست در دستیابی به یک پیشرفت درمانی در TBI ممکن است تنها ناشی از محدودیت‌های مدل‌های حیوانی فی‌نفسه نباشد. طراحی ضعیف مطالعه بالینی نیز عاملی در عدم انجام ترجمه درمانی است. به عنوان مثال، هیپوترمی اولیه درمانی در بسیاری از مدل‌های تجربی TBI مفید است. به نظر می‌رسد که هیپوترمی نتیجه را در بیماران مبتلا به TBI که تحت کرانیوتومی برای هماتوم قرار می‌گرفتند، تنها زمانی که هیپوترمی قبل از کرانیوتومی یا در عرض ۱/۵ ساعت پس از کرانیوتومی اعمال می‌شد، بهبود می‌بخشد، اما

آسیب تروماتیک مغزی (TBI) یک مشکل عمده بهداشتی در جوامع امروزی است (۱). مکانیسم‌های TBI به طور معمول به آسیب "اولیه" و "ثانویه" تقسیم می‌شوند. آسیب اولیه به ترومای مستقیم به مغز اشاره دارد، در حالی که آسیب ثانویه به عواقب آن اشاره دارد که شامل مجموعه پیچیده‌ای از فرآیندهای سلولی و مولکولی است که باعث تخریب یکپارچگی میتوکندری، از دست دادن تدریجی نورون از طریق نکروز و آپوپتوز، تجمع لاکتات و سیتوتوکسیک می‌باشد (۲). بروز ناتوانی‌های جدید و طولانی مدت ناشی از آسیب مغزی تقریباً ۳۳ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت در سال یا ۸۳۰۰۰ بیمار معلول جدید در سال است (۱). تورم سلول‌ها، آسیب تروماتیک مغزی (TBI) عامل اصلی مرگ، ناتوانی و اختلال در سلامت روان است. اکثر بیماران TBI از اختلال استرس پس از سانحه طولانی مدت، اختلال عملکرد شناختی و ناتوانی رنج می‌برند (۳). این عوامل برای کاهش پرفیوژن مغزی با ایجاد ادم مغزی و افزایش فشار داخل جمجمه ترکیب می‌شوند. این زوال‌ها می‌توانند برای روزها، هفته‌ها و حتی ماه‌ها پس از ترومای اولیه رخ دهند و در نتیجه آسیب بافتی به تاخیر بیافتند (۲). تشخیص و درمان بهتر، مستلزم درک بهتر مکانیسم‌های آسیب، در شدت‌های خفیف، متوسط و شدید در مدل‌های مختلف است که ممکن است به طور بالقوه منعکس‌کننده انواع مختلف آسیب‌های مغزی انسان باشد (۳). ارتباط بین TBI و اختلالات عصب روانی سال‌هاست که شناخته شده است. رفتار پرخاشگرانه یکی از مخرب‌ترین پیامدهای اجتماعی و شغلی این اختلالات عصبی روانی است (۱). آسیب تروماتیک مغزی خفیف (mTBI) بار قابل توجهی برای بیماران، خانواده‌ها و سیستم‌های مراقبت بهداشتی ایجاد می‌کند. در حالی که بهبودی در اکثر بیماران قابل انتظار است (۳،۴)، یک زیر مجموعه همچنان مشکلات جسمی، شناختی، عاطفی و یا رفتاری را گزارش می‌کند که عموماً به عنوان سندرم پس از ضربه مغزی (PCS) شناخته می‌شود (۳). زیر مجموعه‌ای از بیماران mTBI از علائم حاد پس از ضربه مغزی رنج می‌برند که ممکن است به صورت علائم جسمی (مانند حالت تهوع، سرگیجه، سردرد، تاری دید، اختلال شنوایی و خستگی)، شکایات شناختی (حافظه و عملکرد اجرایی)، احساسی و یا مشکلات رفتاری (به عنوان مثال، عدم بازداری و ناتوانی عاطفی) نمایان گردد (۳). در شرایط TBI متوسط تا شدید، مناسب‌ترین معیاره اولیه تصویربرداری عصبی، توموگرافی کامپیوتری سر بدون کنتراست (CT) است (۵،۶). مکانیسم‌هایی که توسط آن تروما می‌تواند باعث تخریب عصبی شود به طور فزاینده‌ای شناخته شده است. آسیب منتشر آکسون در اختلال عملکرد میکروتوبول‌ها نقش دارد و زمینه بالقوه‌ای را برای ایجاد آسیب‌شناسی فراهم می‌کند. با کار اخیر بر روی آنسفالوپاتی تروماتیک مزمن، آسیب‌شناسی عصبی زوال عقل پس از سانحه به‌طور فزاینده‌ای به خوبی مشخص می‌شود (۷،۸). مطالعات دیگر

گروه تروما انجام گرفت که به ترتیب گروه شاهد بدون تغییر و گروه تروما با آونگ ساخته شده مورد آسیب و ایجاد ضربه مغزی قرار گرفت (۱۳).

نحوه ساخت دستگاه

برای ایجاد این ضربه اقدام به ساخت یک آونگ به وزن ۱۰ کیلوگرم و طول ۴۰ سانتی‌متر با پروفیل‌های استیل ۲ سانتی‌متری شد که ارتفاع پرتاب این آونگ توسط صفحه مدرجی به شعاع ۳۴ سانتی‌متر کنترل و تنظیم گردید. نیروی وارده از فرمول $f = -mg \sin \delta$ اندازه گیری شد. پس از پرتاب آونگ و برخورد آن به صورت لحظه‌ای با پیستون ثابت نیروی حاصله توسط لوله ضد ضربه پنوماتیک به پیستون دوم که بر روی سر موش تثبیت گشته بود انتقال یافت (۱۲). نیروی وارده به جمجمه باعث ایجاد ضربه متوسط مغزی گردید.



تصویر-۱. فرمول محاسبه نیروی آونگ برای ایجاد ضربه مغزی متوسط

بنابر فرمول ذکر شده در (تصویر ۱) برای به دست آوردن نیروی مورد نیاز باید دستگاه با زاویه ۱۴ درجه تنظیم می‌شد تا نیروی ۱۵ نیوتن بر سانتی‌متر مربع ایجاد شود. با توجه به وجود مقدار ناچیز اصطکاک پیستون‌ها و همچنین به سبب اعشاری بودن نیروی دقیق جاذبه که در فرمول بالا مقدار g بالاتر از مقدار حقیقی خود و برابر با ۱۰ در نظر گرفته شد باید زاویه دستگاه روی ۱۵ درجه تنظیم شود تا مقدار نیروی خالص ۱۵ نیوتن را بدون در نظر گرفتن نیروی اصطکاک پیستون‌ها و نیروی تقریبی جاذبه در اختیار داشته باشیم. برای تثبیت جمجمه موش‌ها طراحی دستگاه فیکساتور با قابلیت جابجایی پیستون ناقل نیرو در جهت‌های مختلف و زاویه‌های مختلف گردید. طی یک هفته کاری در کارگاه‌های تخصصی تراشکاری انجام گرفت تا بهترین و مناسب‌ترین موقعیت و زاویه برای وارد ساختن نیرو بر جمجمه‌های جامعه آماری قابل تنظیم و اعمال باشد. تصویر ۲ مربوط به تنظیم این دستگاه در موقعیت‌ها و زاویه‌های مختلف است.

نحوه ایجاد تروما

پس از اتمام روند آداپتاسیون در روز هفتم، تمام موش‌ها را به روش صفاقی توسط داروی کتامین با دز ۵۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم

نتیجه بیمارارن مبتلا به آسیب منتشر مغز را بهبود نمی‌بخشد. این نشان می‌دهد که زمان‌بندی بهینه درمان‌های ترکیبی نقش مهمی در یک نتیجه مفید در جمعیت خاصی از بیمارارن مبتلا به TBI دارد. عدم موفقیت در درمان‌های مؤثر TBI پیچیده است و ممکن است ناشی از مسائل چندوجهی مدل‌های حیوانی غیربهمینه و طراحی و اجرای ناکافی کارآزمایی‌های بالینی باشد (۱۳-۶).

علاوه بر مشکلات خلقی و رفتاری، شناخت- بخصوص حافظه، توجه و عملکرد اجرایی توسط TBI مختل می‌شود. TBI خفیف اغلب در جوامع انسانی در پی حوادثی مثل آسیب‌های ورزشی، تصادفات وسایل نقلیه و قرار گرفتن در معرض مواد منفجره (موج انفجار) رخ می‌دهد. mTBI یک آسیب بسیار رایج در نظامیان شرکت‌کننده در جنگ‌های عراق و افغانستان است. برآورد شده است که ۱۷ تا ۳۰ درصد از سربازانی که از جنگ عراق و افغانستان برگشته‌اند از TBI رنج می‌برند. آسیب اولیه سلول‌ها که به‌وسیله TBI ایجاد می‌شود، احتمالاً غیرقابل برگشت بوده و منجر به مرگ فوری سلول می‌شود، با این حال، مرگ سلولی ثانویه یا تأخیری که در اثر آبخش فرآیندهای سلولی و مولکولی ایجاد شده توسط تروما پدید می‌آید، ممکن است در صورت استفاده از یک استراتژی محافظت‌کننده عصبی (Neuroprotective) کاهش یابد یا متوقف شود. تدوین چنین راهبردی مستلزم درک از محیط مولکولی در مغز آسیب دیده است تا بتوان مولکول‌ها و فرآیندهای زیان‌آور را شناسایی و مهار کرد (۱۷-۱۳).

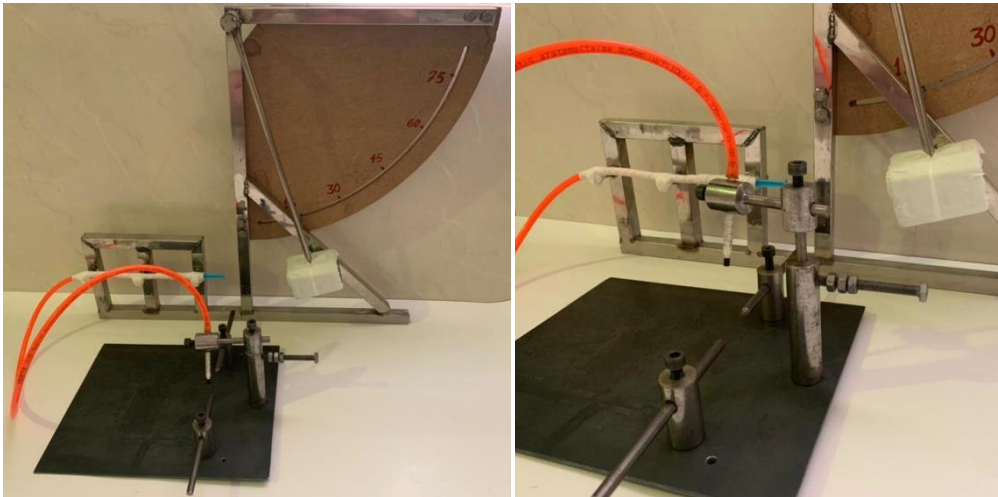
در مدل حاضر روش دیگری از آسیب تروماتیک متوسط مغز را معرفی کرده‌ایم، که با قرار دادن یک پیستون پخش‌کننده نیرو بر روی جمجمه حیوان از شکستگی جمجمه در نتیجه وارد شدن نیرو جلوگیری می‌شود و آسیب منتشر (Diffuse) و شدید (Sever) مغزی را ایجاد می‌کند که حیوان چند لحظه به حالت اغما رفته و قادر به باز کردن چشم‌ها به دنبال تحریکات نمی‌باشد. این آسیب مشابه با آن چیزی است که در اکثر موارد ضربه مغزی در انسان مشاهده می‌شود (۷). هدف این مطالعه معرفی روشی ساده و کاربردی از مدل‌های ایجاد آسیب مغزی در موش صحرایی‌نر است که ضربات مغزی مشابه با انسان (آسیب منتشر مغزی) را ایجاد می‌کند (۸-۶).

روش‌ها

برای انجام این مطالعه مداخله‌ای- تجربی در ابتدا ۱۴ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 10 ± 230 گرم تهیه شد و جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاه تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی و درجه حرارت 2 ± 22 درجه نگهداری شد و تغذیه به صورت آزادانه در اختیار آن‌ها قرار گرفت (۱۳، ۱۲).

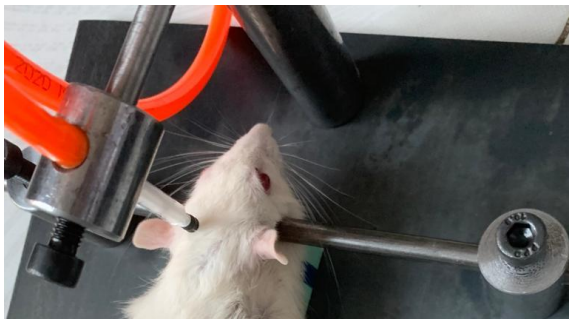
گروه بندی

گروه بندی به صورت تصادفی در دو گروه هفت‌تایی شاهد و



تصویر-۲. تنظیم موقعیت و زاویه برای وارد ساختن نیرو بر قسمت قدامی استخوان پرتال توسط دستگاه فیکساتور جمجه موش‌های صحرایی

رها می‌شوند که درون آب یک سکوی شیشه‌ای غیرقابل دیده شدن وجود دارد. در هفته اول سازگاری موش‌ها به صورت اتفاقی با شناکردن و برخورد به این سکو، موقعیت و مختصات این سکو توسط علامتی که روی دیواره استخر قرار دارد به خاطر می‌سپارند (۱۲،۱۳). در تکرار این آزمایش مدت زمان پیدا کردن سکو کمتر و سریع‌تر می‌شود، بنابراین میتوان با اندازه‌گیری مدت زمان یافتن سکو، حافظه و سلامت روانی موش‌ها را مورد بررسی قرار داد (۱۳).



تصویر-۳. نحوه تثبیت سر موش صحرایی توسط دستگاه فیکساتور



تصویر-۴. نحوه ی قرارگیری موش در دستگاه میکروسیتی

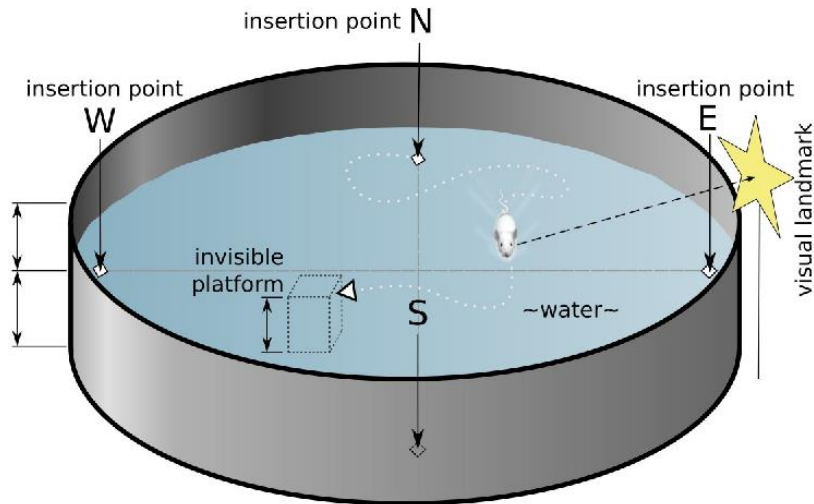
از وزن بدن و اسپرومازین با دز ۲ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم از وزن بدن بی‌هوش کرده و ناحیه پشت سر را شیو کرده و موش‌ها برای وارد کردن ضربه آماده شدند. سپس ناحیه آماده شده توسط بتادین ۱۰٪ و الکل ۷۰٪ استریل کرده و با رعایت اصول اخلاقی و آسیبی زخم‌های برشی توسط اسکالپل ۲۰ به طول ۴ سانتی‌متر ایجاد شد. هر کدام از موش‌ها را به ترتیب درون دستگاه فیکساتور قرار داده و پوست سر توسط ترکتورهای مخصوص کنار زده شد تا پیستون استریل روی جمجمه در قسمت قدامی استخوان پرتال فیکس شود. دستگاه را با نیروی ۱۵ نیوتن تنظیم کرده و توسط آن گروه تروما دچار ضربه مغزی شد (۹). پس از اتمام هر ضربه پوست سر توسط نخ‌های بخیه قابل جذب ۳-۰ به هم رسانده شد، تا ترمیم اتفاق بیافتد. موش‌ها را ریکاوری کرده و هر کدام در قفس‌های مخصوص گروه‌بندی قرار داده شدند.

آزمایشات بالینی

برای بررسی بیشتر ضربه وارد شده و تایید ضربه مغزی متوسط در گروه تروما و مقایسه آن با گروه شاهد از دستگاه میکروسیتی در آزمایشگاه پیش‌بالینی دانشگاه علوم پزشکی تهران استفاده گردید و پس از اسکن، ضایعات ایجاد شده مورد بررسی قرار گرفت (تصویر ۴). پس از انجام تصویربرداری، با انجام آنالیزهای مربوطه و تحلیل و بازسازی تصاویر پس از پیمایش نهایی، تصاویر مورد بررسی و ضایعات ساب دورال ایجاد شده تایید گردید.

بررسی رفتار شناسی

با توجه به این که اختلالات رفتاری و عصبی یکی از شایع‌ترین عوارض ضربه‌های مغزی متوسط به حساب می‌آیند موش‌ها توسط آزمون معمای آبی موریس مورد بررسی بیشتر قرار گرفتند (۱۲). فرار از آب و هیدروفوبیا در موش‌ها یک امر ذاتی است (۱۱). تست موریس بر مبنای فرار از آب و شنا کردن طراحی شده است (۱۲). این آزمایش یکی از چندین تست رفتاری برای موش‌ها می‌باشد (۱۳). در این آزمایش موش‌ها درون استخری با ارتفاع آب ۳۰ سانتی‌متر



تصویر-۵. ساختار کلی آزمون معمای آبی مورس

مورد بررسی و ضایعات ساب دورال ایجاد شده تایید گردید. یافته‌ها در دو گروه شاهد و تروما با همدیگر مقایسه شدند. تفاوت بین گروه تروما و شاهد در تصویر ۶ قابل مشاهده است.

یافته‌های حاصل از آزمون معمای آبی مورس در قالب جدول زیر طی سه هفته یاداشت شد. هفته اول برای آموزش دادن و یادگیری موش‌ها با محیط این آزمایش بود. روند یادگیری طی هفته اول انجام پذیرفت که مدت زمان یافتن سکوی شیشه‌ای هر موش در روزهای مختلف ثبت گردید (جدول ۱).

هفته دوم و سوم برای بررسی تغییرات رفتاری حاصله در اثر ایجاد ترومای مغزی بین گروه‌های تروما و گروه شاهد انجام پذیرفت و اطلاعات در قالب جدول ۲ ثبت گردید.

میانگین در دو گروه برای مدت زمان پیدا کردن سکوی محاسبه شد و داده‌های به دست آمده مورد بررسی قرار گرفت که از لحاظ آماری معنادار بود ($P < 0.001$).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

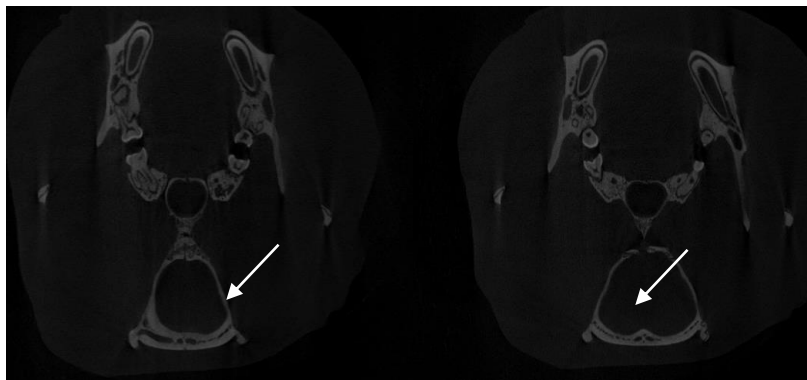
یافته‌های کمی حاصله از بررسی‌های تصویر برداری و اطلاعات به دست آمده از رفتارشناسی مورد تجزیه و تحلیل قرار داده شد تا اطلاعات به صورت داده‌های آماری ارائه شود. پارامترها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ آنالیز شدند. آزمون من‌ویتنی برای مقایسه تفاوت‌های بین دو گروه استفاده شد. در نهایت P -value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی گردید.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) با کد IR.BMSU.REC.1400.167 تایید شد.

نتایج

با تحلیل و بازسازی تصاویر پس از پیمایش نهایی، تصاویر



تصویر-۶. سمت راست نمای سی‌تی اسکن شده از موش سالم در گروه شاهد می‌باشد که هیچ عارضه‌ای در مغز و جمجمه دیده نمی‌شود و سمت چپ، نمای سی تی اسکن شده از ساب‌دورال ملتهب در تایید ضربه وارد شده به گروه تروما می‌باشد.

جدول-۱. جدول اعداد به دست آمده از کورنومتری زمان پیدا کردن سکوی شیشه ای توسط موش های در حال آموزش

موش	روز	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۲	گروه شاهد	۷۵	۷۳	۸۶	۸۰	۶۹	۶۵	۴۴
۲		۶۶	۸۲	۶۱	۹۰	۴۶	۶۷	۵۰
۳		۱۰۱	۷۵	۹۰	۶۰	۵۷	۷۲	۳۷
۴		۸۹	۷۴	۹۵	۶۷	۶۴	۵۵	۴۱
۵		۹۸	۹۳	۶۰	۵۸	۵۴	۷۲	۵۰
۶		۸۸	۷۰	۵۶	۷۰	۶۴	۶۲	۴۹
۷		۱۰۲	۶۹	۷۳	۸۹	۷۸	۵۶	۵۵
۸	گروه تروما	۸۰	۷۷	۷۱	۸۰	۸۳	۶۷	۴۵
۹		۹۸	۸۹	۸۵	۵۸	۶۸	۶۸	۴۳
۱۰		۷۴	۹۹	۷۸	۷۹	۷۶	۶۲	۴۵
۱۱		۱۰۰	۷۵	۶۷	۶۷	۷۹	۷۰	۴۶
۱۲		۷۵	۹۷	۵۶	۵۳	۶۳	۵۷	۳۵
۱۳		۸۳	۷۶	۷۱	۷۴	۸۲	۶۸	۴۲
۱۴		۷۶	۷۷	۶۷	۷۹	۶۲	۵۱	۴۱

جدول-۲. جدول اعداد به دست آمده از کورنومتری زمان پیدا کردن سکوی شیشه‌ای توسط موش‌های آسیب مغزی شده و تحت درمان و گروه کنترل و شاهد

موش	روز	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱
۱	گروه شاهد	۴۱	۴۲	۴۰	۲۷	۴۰	۳۶	۲۸	۳۵	۳۱	۲۰	۳۲	۳۳	۳۹	۲۷
۲		۳۹	۴۱	۳۴	۳۶	۴۰	۳۷	۲۷	۳۱	۳۸	۳۵	۲۵	۳۶	۳۲	۳۰
۳		۳۸	۴۱	۴۲	۳۱	۳۷	۲۹	۳۴	۲۶	۲۴	۳۳	۲۰	۳۶	۳۵	۲۰
۴		۳۵	۴۴	۳۸	۳۶	۲۹	۲۸	۲۷	۲۱	۲۲	۲۹	۳۳	۲۲	۲۷	۳۵
۵		۳۶	۴۵	۴۴	۳۸	۴۴	۳۶	۳۵	۲۳	۳۱	۳۸	۳۰	۳۶	۴۰	۲۸
۶		۳۳	۳۱	۴۴	۴۱	۳۶	۳۴	۴۰	۳۵	۲۱	۲۳	۲۰	۲۷	۳۱	۳۹
۷		۴۴	۳۷	۳۶	۳۹	۳۷	۳۵	۴۵	۳۸	۲۵	۳۷	۲۸	۲۱	۳۰	۳۷
۸	گروه تروما	۴۵	۴۷	۴۲	۳۶	۵۲	۵۳	۴۹	۲۱	۲۵	۲۷	۲۹	۲۵	۲۶	۲۸
۹		۵۰	۴۵	۴۸	۴۷	۴۵	۴۳	۳۹	۲۰	۲۶	۳۱	۲۵	۲۶	۲۴	۳۱
۱۰		۴۷	۳۷	۳۶	۵۳	۴۶	۴۵	۳۶	۳۲	۲۸	۲۲	۳۶	۲۴	۳۰	۲۷
۱۱		۳۶	۳۸	۵۲	۴۳	۴۶	۴۵	۴۷	۲۹	۲۷	۲۳	۳۱	۲۶	۲۵	۲۳
۱۲		۴۶	۴۵	۴۷	۳۸	۵۱	۴۶	۴۳	۳۴	۳۳	۳۶	۲۹	۲۷	۳۵	۳۱
۱۳		۳۵	۳۷	۴۶	۵۵	۴۲	۵۳	۳۹	۲۶	۲۹	۲۸	۲۶	۳۴	۲۴	۳۵
۱۴		۴۷	۴۹	۵۴	۴۶	۴۷	۴۵	۳۵	۲۷	۳۶	۲۹	۳۴	۲۹	۲۸	۲۴

باعث افزایش محتوای آب مغز در گروه تروما در مقایسه با موش‌های صحرائی گروه شاهد و تروما شود، که مشابه با نتایج مطالعاتی است که توسط دیگران صورت گرفته است (۱۳،۱۴). هر چند در بعضی از مطالعات این افزایش مشاهده نشده است. با توجه به یافته‌ها در این پژوهش التهاب ساب‌دورال مشاهده کردیم، که در سایر مطالعات نیز این مطلب گزارش شده است. همچنین در این مطالعه، احتقان عروقی در بعضی از مناطق قشری مغز مشاهده شد، که ممکن است تا حدودی نقش القای افزایش فشار خون را در درمان بیماران ضربه مغزی مورد سؤال قرار دهد. این مطلب می‌تواند تصمیم‌گیری در خصوص برنامه‌های درمانی را روشن سازد (۱۳،۱۴).

Anderson و همکاران (۲۰۲۱) اثرات بوپرنورفین، یک دز تک ملوکسیکام، را بر پیامدهای عصبی رفتاری در یک مدل موش ارزیابی کردند. آن‌ها انفجارهای مکرر متصل به هم را در یک شبیه‌ساز انفجار توسعه یافته فاش کردند و فرآیندهای عصبی رفتاری

بحث

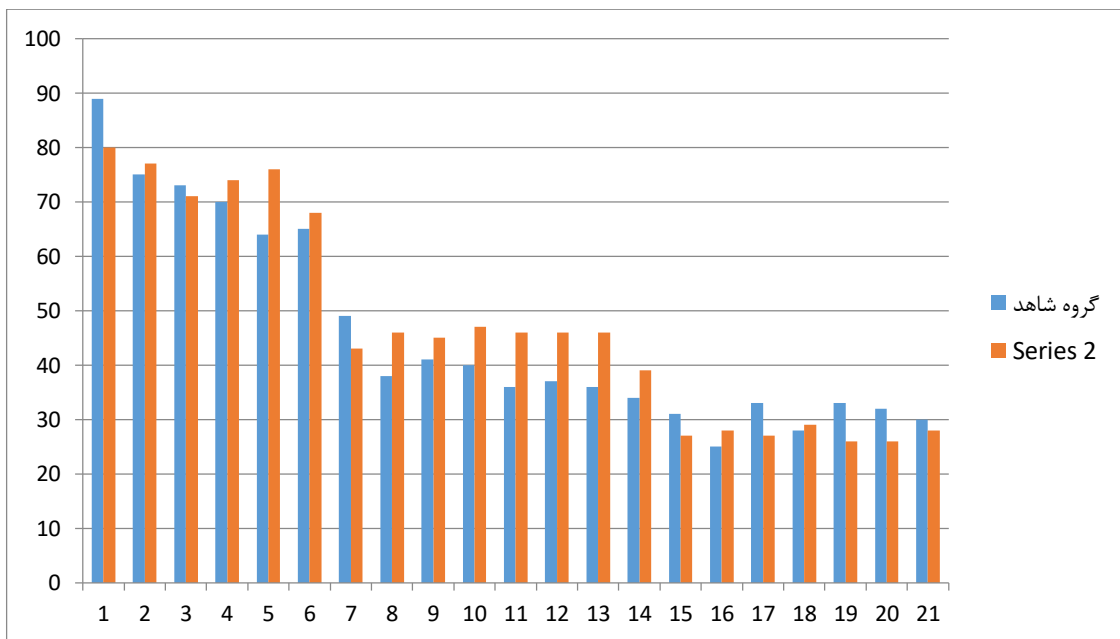
اکثر صدمات مغزی وارده در انسان از نوع آسیب منتشر مغزی است که همراه با خیز بافت مغزی و آسیب اندوتلیوم و سایر تشکیلات مغز است (۱۳). هدف از مطالعه حاضر معرفی یک روش از آسیب بسته مغزی در جوندگان است که در عین ساده بودن می‌تواند در ایجاد خیز مغزی مشابه با آنچه که برای انسان در تصادفات رخ می‌دهد، کاملاً مؤثر باشد و روش تجربی مناسبی برای تحقیقات درمانی در این عرصه باشد، ضمن این که در این روش ضربه به طور مستقیم بر روی جمجمه محافظت شده وارد می‌شود و از آسیب موضعی قشر مغز که در نتیجه شکستگی استخوان جمجمه خودداری شده است. تصویر ۶ نمای سی‌تی اسکن بافت مغز در گروه تروما اتساع و پرخونی وریدها همراه التهاب ساب‌دورال وجود دارد، بافت مغزی زیر منتر خیز را نشان می‌دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که اجرای این مدل توانسته است

را ارزیابی کردند. در گروه بوپرنورفین زمان بیشتری برای بهبودی از بیهوشی ایزوفلوران طول کشید، و باعث ایجاد نقص حافظه کوتاه مدت در حیوانات در معرض انفجار شد (۱۷).

برای روشن کردن اثرات امواج انفجار اولیه، مدل‌های حیوانی TBI مختلفی از انفجار، به طور عمده در جوندگان و خوک ایجاد شده‌اند (۱۸-۲۰). با استفاده از یک لوله شوک فشاری برای شبیه‌سازی اثرات انفجار، پیامدهای فیزیولوژیکی، آسیب‌شناسی عصبی و رفتاری در معرض انفجار قرار گرفتن ارزیابی شد و تأثیر جلیقه محافظ قفسه سینه بر مرگومیر حاد در موش‌ها و بر فراوانی TBI و DAI در حیواناتی که زنده مانده نیز مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۱). جلیقه کولار که قفسه سینه و بخشی از شکم را پوشانده بود، مرگومیر ناشی از انفجار هوا را به میزان زیادی کاهش داد و همچنین انحطاط گسترده فیبر آکسون را بهبود بخشید، که نشان می‌دهد انفجار ناشی از لوله شوک باعث ایجاد TBI در موش‌ها می‌شود که تا حدی از طریق اثرات سیستمیک، از جمله افت فشار خون و هیپوکسمی است، که احتمالاً در اثر آسیب ریه و/یا خونریزی ناشی از انفجار برانگیخته می‌شوند. یک مدل موش صحرایی TBI ناشی از انفجار که از TBI خفیف انفجاری واقعی که در درگیری‌های نظامی اخیر دیده شده است، تقلید می‌کند (۲۲).

جدول-۳. میانگین مدت زمان یافتن سکو توسط هر گروه در روزهای مختلف

روز	گروه شاهد	گروه تروما
۱	۸۹ ± ۱	۸۰ ± ۱
۲	۷۵ ± ۱	۷۷ ± ۱
۳	۷۳ ± ۱	۷۱ ± ۱
۴	۷۰ ± ۱	۷۴ ± ۱
۵	۶۴ ± ۱	۷۶ ± ۱
۶	۶۵ ± ۱/۲	۶۸ ± ۱
۷	۴۹ ± ۱/۶	۴۳ ± ۱
۸	۳۸ ± ۱	۴۶ ± ۱
۹	۴۱ ± ۱/۲	۴۵ ± ۱
۱۰	۴۰ ± ۱	۴۷ ± ۱
۱۱	۳۶ ± ۱	۴۶ ± ۱
۱۲	۳۷ ± ۱	۴۶ ± ۱
۱۳	۳۶ ± ۱/۵	۴۶ ± ۱
۱۴	۳۴ ± ۱/۲	۳۹ ± ۱
۱۵	۳۱ ± ۱/۱	۲۷ ± ۱/۱
۱۶	۲۵ ± ۱	۲۸ ± ۱
۱۷	۳۳ ± ۱	۲۷ ± ۱
۱۸	۲۸ ± ۱	۲۹ ± ۱
۱۹	۳۳ ± ۱	۲۶ ± ۰/۸
۲۰	۳۲ ± ۱	۲۶ ± ۱/۵
۲۱	۳۰ ± ۱	۲۸ ± ۱/۲



نمودار-۱. میانگین به دست آمده از مدت زمان یافتن سکو توسط موش‌ها در روزهای مختلف

اختلال عملکرد عصبی قابل توجهی می‌شود. نکته مهم این است که حتی قرار گرفتن موش‌ها در معرض انفجار سطح پایین، ICP را افزایش می‌دهد و باعث نقص‌های شناختی می‌شود. اگرچه نقص عملکردی ناشی از قرار گرفتن در معرض انفجار مشکل اصلی سلامتی در جنگ‌های مدرن است، اکثر مدل‌های انفجار موجود به جای کسری‌های عملکردی بر تخریب بافت تمرکز دارند (۲۳-۲۵).

آسیب بدون ضربه، پاتوفیزیولوژی جالبی را نشان می‌دهد که با ادم مغزی منتشر، پرخونی شدید و وازواسپاسم تاخیری مشخص می‌شود. این ویژگی‌ها در آسیب مغزی انفجاری حیوان و انسان دیده می‌شود. بارزترین ویژگی در طول ۲ هفته اولیه پس از قرار گرفتن در معرض انفجار در موش‌های با محافظ بدن بود. مشخص شده است که قرار گرفتن سر به تنهایی در معرض یک انفجار شدید انفجاری باعث

تحت کرانیوتومی برای همتوم قرار می‌گرفتند، تنها زمانی که هیپوترمی قبل از کرانیوتومی یا در عرض ۱/۵ ساعت پس از کرانیوتومی اعمال می‌شد، بهبود می‌بخشد، اما نتیجه بیماران مبتلا به آسیب منتشر مغز را بهبود نمی‌بخشد. این نشان می‌دهد که زمان‌بندی بهینه درمان‌های ترکیبی نقش مهمی در یک نتیجه مفید در جمعیت خاصی از بیماران مبتلا به TBI دارد. عدم موفقیت در درمان‌های مؤثر TBI پیچیده است و ممکن است ناشی از مسائل چندوجهی مدل‌های حیوانی غیربهینه و طراحی و اجرای ناکافی کارآزمایی‌های بالینی باشد (۱۳-۶).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد نیروی وارد شده به جمجمه برای ایجاد ترومای متوسط مغزی می‌بایست حدود ۱۵ تا ۲۰ نیوتون بر سانتی‌متر مربع باشد. از طرفی دیگر دستگاه طراحی شده در این مطالعه به خوبی توانست مدل ترومای مغزی موش را به صورت فیزیکی ایجاد کند که امید است این مدل دستگاه در مطالعات آینده قابل استفاده باشد.

تشکر و قدردانی: از تمام افرادی که در انجام مطالعه حاضر همکاری داشتند صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد. نویسندگان از داوران محترم به خاطر نظرات کارشناسی آن‌ها در ارتقای این مقاله و همچنین از همکاری‌ها و مشاوره‌های ارزشمند معاونت پژوهش و فن‌آوری واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان بقیه الله الاعظم (عج) تشکر می‌نمایند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

- Li AD, Loi SM, Velakoulis D, Walterfang M. Mania following traumatic brain injury: a systematic review. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 2023. doi:10.1176/appi.neuropsych.20220105
- Alípio CR. Efficacy and safety of the carbamylated erythropoietin in an animal model of chronic TNBS-induced colitis [dissertation]. Lisboa: Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa/Instituto Politécnico de Lisboa; 2022.
- Bodnar CN, Roberts KN, Higgins EK, Bachstetter AD. A systematic review of closed head injury models of mild traumatic brain injury in mice and rats. *Journal of Neurotrauma*. 2019;36(11):1683-706. doi:10.1089/neu.2018.6127
- Akbariqomi M, Elmi T, Chamanara M, Heidari R. An Overview of Stem Cells Applications in Military Medicine. *Journal of Military Medicine*. 2022;24(6):1358-71. doi:10.30491/JMM.24.6.1358

مدل‌های مختلف TBI در حیوانات برای مدل‌سازی مکانیسم‌های آسیب مختلف مرتبط با TBI انسانی توسعه یافته‌اند. مدل‌های موش Marmarou²⁶ و Shohami⁹¹ به طور گسترده برای CHI استفاده می‌شوند و به ترتیب آسیب مغزی منتشر و کانونی را تولید می‌کنند. احتمالاً به دلیل تکرارپذیری عالی، این دو مدل پرکاربردترین مدل‌های موش برای TBI هستند. تحقیقات فزاینده‌ای در مورد انفجار TBI و ضربه‌های مغزی مرتبط با ورزش، بویژه TBI خفیف مکرر وجود دارد. گرچه مدل‌های حیوانی کوچک در تحقیقات TBI برای بررسی مکانیسم‌های اساسی و آسیب‌شناسی TBI و آزمایش اثربخشی درمانی استفاده شده است، تحقیقات موفقیت‌آمیز TBI در این مدل‌های حیوانی منجر به بهبود قابل توجهی در نتایج بالینی بیماران مبتلا به TBI نشده است. یکی از موانع اصلی این است که به دلیل مسائل اخلاقی و مالی، محققان به ندرت از مدل‌های حیوانی بزرگ با معنی TBI برای نظارت بر پارامترهای فیزیولوژیکی مرتبط بالینی و نتایج عملکردی و/یا شناختی بلندمدت و آزمایش استفاده می‌کنند (۳،۷). اثربخشی درمان‌های جدید بنابراین، توسعه بیشتر و استفاده فزاینده از گونه‌های بالاتر با مغزهایی که از نظر تشریحی و عملکردی به انسان نزدیک‌تر هستند، بسیار مهم است. حداقل، قبل از شروع کارآزمایی‌های بالینی، یک درمان مؤثر در جوندگان باید اثربخشی آن در مدل‌های حیوانی بزرگ که از نزدیک پاتوژنز پیچیده TBI در انسان را تقلید می‌کنند، تأیید شود. در سال‌های اخیر گزینه‌های درمانی امیدوارکننده‌ای ظاهر شده است. شکست در دستیابی به یک پیشرفت درمانی در TBI ممکن است تنها ناشی از محدودیت‌های مدل‌های حیوانی فی‌نفسه نباشد. طراحی ضعیف مطالعه بالینی نیز عاملی در عدم انجام ترجمه درمانی است. به عنوان مثال، هیپوترمی اولیه درمانی در بسیاری از مدل‌های تجربی TBI مفید است. به نظر می‌رسد که هیپوترمی نتیجه را در بیماران مبتلا به TBI که

- Dewan MC, Rattani A, Gupta S, Baticulon RE, Hung YC, Punchak M, et al. Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery*. 2018;130(4):1080-97. doi:10.3171/2017.10.JNS17352
- Douglas DB, Ro T, Toffoli T, Krawchuk B, Muldermans J, Gullo J, et al. Neuroimaging of traumatic brain injury. *Medical Sciences*. 2019;7(1):2. doi:10.3390/medsci7010002
- Graham NS, Sharp DJ. Understanding neurodegeneration after traumatic brain injury: from mechanisms to clinical trials in dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2019;90(11):1221-33. doi:10.1136/jnnp-2017-317557
- Early AN, Gorman AA, Van Eldik LJ, Bachstetter AD, Morganti JM. Effects of advanced age upon astrocyte-specific responses to acute traumatic brain injury in mice. *Journal of Neuroinflammation*. 2020;17:115. doi:10.1186/s12974-020-01800-w

9. Ghodrati Siahmazgi M, Nasiri Khalili MA, Zeinoddini M, Ahmadpour F, Khodadadi S. Purification and characterization of DT 389 GCSF fusion protein: A unique immunotoxin against the human granulocyte-colony stimulating factor receptor. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2020;26:767-74. doi:10.1007/s10989-019-09884-6
10. Rasouli HR, Talebi S, Ahmadpour F. Evaluation of Associated Genes with Traumatic Pain: A Systematic Review. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*. 2022;21(9):830-40. doi:10.2174/1871527320666211206121645
11. Dong W, Yang B, Wang L, Li B, Guo X, Zhang M, et al. Curcumin plays neuroprotective roles against traumatic brain injury partly via Nrf2 signaling. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2018;346:28-36. doi:10.1016/j.taap.2018.03.020
12. Tucker LB, Velosky AG, McCabe JT. Applications of the Morris water maze in translational traumatic brain injury research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2018;88:187-200. doi:10.1016/j.neubiorev.2018.03.010
13. Andersen CR, Wolf J, Jennings K, Prough DS, Hawkins BE. Accelerated failure time survival model to analyze Morris water maze latency data. *Journal of Neurotrauma*. 2021;38(4):435-45. doi:10.1089/neu.2020.7089
14. Graziano A, Petrosini L, Bartoletti A. Automatic recognition of explorative strategies in the Morris water maze. *Journal of Neuroscience Methods*. 2003;130(1):33-44. doi:10.1016/S0165-0270(03)00187-0
15. Evanson NK, Guillaume-Correa F, Herman JP, Goodman MD. Optic tract injury after closed head traumatic brain injury in mice: A model of indirect traumatic optic neuropathy. *PLoS One*. 2018;13(5):e0197346. doi:10.1371/journal.pone.0197346
16. Baier W, Mangham C, Warnett JM, Payne M, Painter M, Williams MA. Using histology to evaluate micro-CT findings of trauma in three post-mortem samples—first steps towards method validation. *Forensic Science International*. 2019;297:27-34. doi:10.1016/j.forsciint.2019.01.027
17. Anderson LM, Samineni S, Wilder DM, Lara M, Eken O, Urioste R, et al. The neurobehavioral effects of buprenorphine and meloxicam on a blast-induced traumatic brain injury model in the rat. *Frontiers in Neurology*. 2021;1815. doi:10.3389/fneur.2021.746370
18. Benzinger TL, Brody D, Cardin S, Curley KC, Mintun MA, Mun SK, et al. Blast-related brain injury: imaging for clinical and research applications: report of the 2008 St. Louis workshop. *Journal of Neurotrauma*. 2009;26(12):2127-44. doi:10.1089/neu.2009.0885
19. Wang Y, Wei Y, Oguntayo S, Wilkins W, Arun P, Valiyaveetil M, et al. Tightly coupled repetitive blast-induced traumatic brain injury: development and characterization in mice. *Journal of Neurotrauma*. 2011;28(10):2171-83. doi:10.1089/neu.2011.1990
20. Bauman RA, Ling G, Tong L, Januszkiewicz A, Agoston D, Delanerolle N, et al. An introductory characterization of a combat-casualty-care relevant swine model of closed head injury resulting from exposure to explosive blast. *Journal of Neurotrauma*. 2009;26(6):841-60. doi:10.1089/neu.2008.0898
21. Long JB, Bentley TL, Wessner KA, Cerone C, Sweeney S, Bauman RA. Blast overpressure in rats: recreating a battlefield injury in the laboratory. *Journal of Neurotrauma*. 2009;26(6):827-40. doi:10.1089/neu.2008.0748
22. DeWitt DS, Prough DS. Blast-induced brain injury and posttraumatic hypotension and hypoxemia. *Journal of Neurotrauma*. 2009;26(6):877-87. doi:10.1089/neu.2007.0439
23. Reneer DV, Hisel RD, Hoffman JM, Kryscio RJ, Lusk BT, Geddes JW. A multi-mode shock tube for investigation of blast-induced traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma*. 2011;28(1):95-104. doi:10.1089/neu.2010.1513
24. Cernak I, Noble-Haesslein LJ. Traumatic brain injury: an overview of pathobiology with emphasis on military populations. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2010;30(2):255-66.
25. Garman RH, Jenkins LW, Switzer III RC, Bauman RA, Tong LC, Swauger PV, Parks SA, Ritzel DV, Dixon CE, Clark RS, Bayır H. Blast exposure in rats with body shielding is characterized primarily by diffuse axonal injury. *Journal of Neurotrauma*. 2011;28(6):947-59. doi:10.1089/neu.2010.1540