

放射性视神经损伤模型的制作

程先华 古学军 李志英 冀建平

330006 南昌大学附属眼科医院神经眼科(程先华、古学军);510405 广州中医药大学第一附属医院眼科(李志英、冀建平)

通信作者:冀建平,Email:jjpi1974@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.12.009

【摘要】 **背景** 放射性视神经病变(RION)是头颈部肿瘤接受放射治疗后严重的并发症,严重威胁患者的视力及生活质量,目前尚无公认的有效治疗方法。建立理想的放射性视神经损伤动物模型对于研究 RION 的自然病程、预防和治疗具有重要意义。**目的** 建立一种较理想的放射性视神经损伤模型的制作方法。**方法** 8 周龄 SPF 级健康无眼疾 SD 大鼠 12 只,按照随机数字表法分为空白组和模型组,每组 6 只。总剂量 30 Gy 的放射线分 3 次照射大鼠头部;采用 ELISA 法测定照射后 1 d、2、4 和 8 周大鼠血液中内皮素-1(ET-1)和血管性血友病因子(vWF)的质量浓度,并观察视神经显微结构和超微结构的改变。**结果** 空白组与模型组照射前后各时间点 ET-1 和 vWF 质量浓度总体比较差异均有统计学意义(ET-1: $F_{\text{分组}} = 32.160, P = 0.012$; $F_{\text{时间}} = 21.180, P = 0.023$. vWF: $F_{\text{分组}} = 73.110, P = 0.001$; $F_{\text{时间}} = 46.180, P = 0.002$);其中空白组大鼠各时间点血液中 ET-1 和 vWF 的质量浓度无明显变化,模型组大鼠血液中 ET-1 和 vWF 的质量浓度随照射后时间的延长逐渐升高,并于照射后 4 周达高峰。照射后 8 周模型组大鼠神经纤维束肿胀,排列紊乱,神经纤维间明显空泡化;轴突肿胀,髓鞘板层分离轴突增加,轴索萎缩。空白组和模型组轴索的脱髓鞘率分别为(1.35±0.79)%和(14.44±2.32)%,2 个组比较差异有统计学意义($t = 14.07, P < 0.01$)。**结论** 总剂量 30 Gy 的放射线照射大鼠头部能制作稳定的放射性视神经损伤模型,该方法操作简单,廉价实用,值得进一步研究。

【关键词】 视神经病变/病因学;内皮素-1;血管性血友病因子;脱髓鞘

基金项目: 广东省科技计划项目(2009B060700071)

Model making of radioactive optic nerve injury Cheng Xianhua, Gu Xuejun, Li Zhiying, Ji Jianping

Affiliated Eye Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China (Cheng XH, Gu XJ); Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China (Li ZY, Ji JP)

Corresponding author: Ji Jianping, Email:jjpi1974@126.com

【Abstract】 **Background** Radiation-induced optic neuropathy (RION) is a severe complication after radiotherapy for head and neck cancer, which threatens the visual acuity and quality of life of patients. Till now, there is no recognized treatment for RION. It is of great significance to study the natural progression of the RION, and to prevent and treat RION. **Objective** This study was to establish an ideal radioactive optic nerve injury animal model. **Methods** Healthy 8-week SD rats with hygiene grade were randomly divided into normal control group and model group, with 6 rats in each group. The total 30 Gy dose of radiation with 3 portions was used to irradiate the head model group rats; ELISA was performed to analysis the changes of endothelin-1 (ET-1) and Von Willebrand factor (vWF) concentrations in blood 2, 4 and 8 weeks after irradiation. Hematoxylin-eosin staining and transmission electron microscope were performed to observe the changes of optic structure. The use and care of the experimental animals complied with the ARVO statement. **Results** The concentrations of ET-1 in the model group were (23.18±0.11), (27.98±0.22), (33.90±0.11), (65.25±0.38) and (43.82±0.09) pg/ml before irradiation, 1 day, 2, 4, 6 weeks after irradiation, those in the normal control group were (22.65±0.14), (23.18±0.19), (23.68±0.15), (24.23±0.12) and (23.58±0.16) pg/ml. The concentrations of vWF in the model group were (63.16±2.21), (88.32±2.06), (123.38±1.36), (191.40±0.61) and (141.69±0.82) pg/ml before irradiation, 1 day, 2, 4, 6

weeks after irradiation, those in the normal control group were (62.82 ± 1.56) , (63.35 ± 2.06) , (64.12 ± 1.76) , (63.52 ± 2.02) and (63.48 ± 1.55) pg/ml. There were significant differences of ET-1 and vWF concentrations among different groups and time points (ET-1: $F_{\text{group}} = 32.160$, $P = 0.012$; $F_{\text{time}} = 21.180$, $P = 0.023$. vWF: $F_{\text{group}} = 73.110$, $P = 0.001$; $F_{\text{time}} = 46.180$, $P = 0.002$). The nerve fiber bundles was swelled with disordered arrangement and vacuolization 8 weeks after irradiation. Axon swell and atrophy, axons with myelin sheath layer plate separation were obtained. The rates of axon demyelination in the normal control group and model group were $(1.35 \pm 0.79)\%$ and $(14.44 \pm 2.32)\%$, respectively. There was a statistically significant difference between the two groups ($t = 14.07$, $P < 0.01$). **Conclusions** The total 30 Gy dose of radiation on the head of rats can make stable radioactive optic nerve injury model. This model making method is simple, cheap and practical, which is worth further study.

[Key words] Optic nerve diseases/etiology; Endothelin-1; Von Willebrand factor; Demyelinating

Fund program: Science and Technology Project of Guangdong Province (2009B060700071)

放射性视神经病变 (radiation-induced optic neuropathy, RION) 是因头颈部肿瘤接受放射线照射治疗后引起的进行性视神经病变, 严重损害患者的视力, 影响患者的生活质量^[1-2]。在探讨 RION 发病机制和评价其治疗方法的实验研究中, 合适的动物模型是保证研究工作可靠性的前提。Ryu 等^[3]用放射线照射大鼠视交叉成功建立了 RION 动物模型, 但由于造模方法复杂、实验条件受限等原因, 其成功率受到限制, 故建立实用、稳定、可靠的 RION 动物模型至关重要。本研究采用简易的方法创建 RION 动物模型, 并对其血管功能改变、视神经显微结构及超微结构进行观察和评价。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 8 周龄 SPF 级健康无眼疾 SD 大鼠 12 只, 雌雄各半, 体质量 $0.23 \sim 0.28$ kg, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 实验动物合格证书编号: SCXK(粤)2008-0020。应用随机数字表法将大鼠随机分为空白组和模型组, 每组 6 只。实验动物的使用遵循 ARVO 有关眼科与视觉科学研究中动物使用的相关规定。

1.1.2 主要试剂及仪器 大鼠内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) ELISA 试剂盒 (瑞士 Enzo 公司); 大鼠血管性血友病因子 (Von Willebrand factor, vWF) ELISA 试剂盒 (美国 Fitzgerald 公司)。Varian 600 C 型放射线治疗仪 (美国 Varian 公司); H-7650 型透射电子显微镜 (日本 Hitachi 公司); Zeiss 显微拍照系统 (德国 Zeiss 公司); 超薄切片机 (美国 AO 公司)。

1.2 方法

1.2.1 RION 动物模型制备 取模型组大鼠腹腔内注射质量分数 10% 水合氯醛溶液 3 ml/kg 麻醉大鼠, 大鼠四肢及头部固定于简易固定板上, 大鼠双耳连线置

于照射野边缘, 采用 Varian 600 C 型放射线治疗仪对双耳前部头颅区域进行照射, 每周 1 次, 共 3 次, 总剂量为 30 Gy。照射参数: 放射线模式为 SSD, 放射线距离为 100 cm, 照射野为 $9.0 \text{ cm} \times 25.0 \text{ cm}$, 照射深度为 1.7 cm, 等效深度为 1.7 cm, 跳数为 496 跳 $\times 2$, 总剂量为 1 000 cGy。

1.2.2 ELISA 法测定 2 个组不同时间点大鼠血液中 ET-1 和 vWF 的质量浓度 分别于放射线照射前及放射线照射后 1 d, 2, 4, 6 周抽取大鼠尾静脉血 $0.5 \sim 0.8 \text{ ml}$, 取待测血清样品 $100 \mu\text{l}$ 加入样品孔中, 参照 ELISA 试剂盒说明书加入相应试剂, 然后室温下孵育 1 h。常规洗板, 滤纸上扣干, 每孔加入稀释的抗体 $100 \mu\text{l}$, 密封, 然后在室温下孵育 30 min。用洗涤液将反应板充分洗涤 4~6 次, 滤纸上扣干。各孔加入显色剂 $100 \mu\text{l}$, 显色过程中注意观察, 以防反应时间过长。各孔分别加终止液 $100 \mu\text{l}$, 混匀, 15 min 以内, 在全自动酶标仪上检测 450 nm 波长处各孔的吸光度 (A) 值。根据标准品绘制标准曲线, 计算待测样本中 ET-1 的质量浓度。

1.2.3 苏木精-伊红染色观察大鼠视神经的显微结构变化 照射后 8 周, 各组中任意选取大鼠 1 只, 过量麻醉法处死后摘取大鼠左眼眼球; 沿角膜缘剪开球结膜, 剪除眼外肌及筋膜, 向后分离, 于球后 $6 \sim 7 \text{ mm}$ 处剪断视神经, 用生理盐水洗净血迹, 再自球后约 2 mm 处剪断视神经, 注意避免用镊子直接夹持视神经, 立即投入质量分数 10% 多聚甲醛中固定, 行常规苏木精-伊红染色。

1.2.4 透射电子显微镜下观察视神经超微结构的变化及轴索脱髓鞘率的测定 各组任意选取 1 只大鼠, 按照 1.2.3 方法摘取左眼眼球, 立即投入改良的 Karnovsky 固定液中固定, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存, 取眼球标本于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 体积分数 2.5% 戊二醛中固定 $2 \sim 4 \text{ h}$; PBS 漂洗 2 次。质量分数 1% 锇酸固定 $1.5 \sim 2 \text{ h}$; PBS 漂洗 2 次, 体积分数 50%、70% 乙醇逐级脱水; 丙酮与环氧树脂

Epon 812 包埋剂等体积混合,置换 40 min;环氧树脂 Epon 812 包埋剂 37 °C 浸透过夜;将组织置包埋模内 Epon 812 包埋剂包埋,60 °C 聚合 48 h;在解剖显微镜下将组织块表面修平整,暴露视神经并修成长方形,垂直于视神经长轴方向切成厚片。超薄切片机将厚片切成 1~3 μm 的半薄切片,并置水上展平;光学显微镜下定位,在超薄切片机下切 40~60 nm 的超薄切片,用铜网捞片;在 70% 乙醇配制的饱和醋酸铀染色 3 min,双蒸水漂洗,铅染液染色 3 min,双蒸水漂洗。干燥后行透射电子显微镜检查,观察视神经超微结构的变化。在 8 000~10 000 倍下每个标本任取 10 个视野,计算其轴索的脱髓鞘率。轴索的脱髓鞘率=脱髓鞘轴突数目/轴突总数×100%,取其平均值作为该标本的脱髓鞘率。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经正态性检验证实呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。ET-1、vWF 质量浓度经检验证实方差齐,2 个组间不同时间点尾静脉血中 ET-1、vWF 质量浓度的比较采用重复测量的两因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-*t* 检验;两组间轴索的脱髓鞘率比较采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验大鼠一般情况

第 1 次放射线照射后大鼠无明显异常,皮毛光滑柔顺,饮食和饮水无明显改变,活动正常;第 2 次照射后部分大鼠精神状态稍差,饮食和饮水减少,活动减少,毛色失去光泽,照射后 1~3 d,精神状态逐渐恢复,饮食和饮水逐渐恢复正常,活动逐渐增多;第 3 次照射后部分大鼠精神状态较差,饮食和饮水明显减少,活动也明显减少,体质量减轻,少量有腹部胀气表现,照射后 5~7 d,饮食和饮水明显好转,皮毛逐渐光滑柔顺,活动明显增加,体质量逐渐增加。

2.2 各组大鼠照射前后不同时间点尾静脉血中 ET-1 和 vWF 的质量浓度比较

空白组与模型组在照射前后不同时间点尾静脉血中 ET-1 和 vWF 质量浓度比较差异均有统计学意义(ET-1: $F_{\text{分组}} = 32.160, P = 0.012; F_{\text{时间}} = 21.180, P = 0.023$ 。vWF: $F_{\text{分组}} = 73.110, P = 0.001; F_{\text{时间}} = 46.180, P = 0.002$)。模型组放射线照射后静脉血中 ET-1 和 vWF 质量浓度随照射后时间延长逐渐升高,并于照射后 4 周达高峰(表 1,2)。

表 1 空白组与模型组照射前后不同时间点尾静脉血中 ET-1 质量浓度比较($\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$)

组别	样本量	照射前	照射后 1 d	照射后 2 周	照射后 4 周	照射后 6 周
空白组	6	22.65±0.14	23.18±0.19	23.68±0.15	24.23±0.12	23.58±0.16
模型组	6	23.18±0.11	27.98±0.22	33.90±0.11	65.25±0.38	43.82±0.09

注: $F_{\text{分组}} = 32.160, P = 0.012; F_{\text{时间}} = 21.180, P = 0.023$ (重复测量的两因素方差分析) ET:内皮素

表 2 空白组与模型组在照射前后不同时间点尾静脉血中 vWF 质量浓度比较($\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$)

组别	样本量	照射前	照射后 1 d	照射后 2 周	照射后 4 周	照射后 6 周
空白组	6	62.82±1.56	63.35±2.06	64.12±1.76	63.52±2.02	63.48±1.55
模型组	6	63.16±2.21	88.32±2.06	123.38±1.36	191.40±0.61	141.69±0.82

注: $F_{\text{分组}} = 73.110, P = 0.001; F_{\text{时间}} = 46.180, P = 0.002$ (重复测量的两因素方差分析) vWF:血管性血友病因子

2.3 照射后 8 周各组大鼠视神经显微结构的改变

空白组神经纤维束呈柱形均匀排列,染色均匀,胶质细胞散在分布,无组织和细胞水肿及细胞核固缩(图 1A)。模型组神经纤维束肿胀,排列紊乱,神经纤维间明显空泡化,神经胶质细胞散在分布,细胞水肿,部分细胞核固缩(图 1B)。

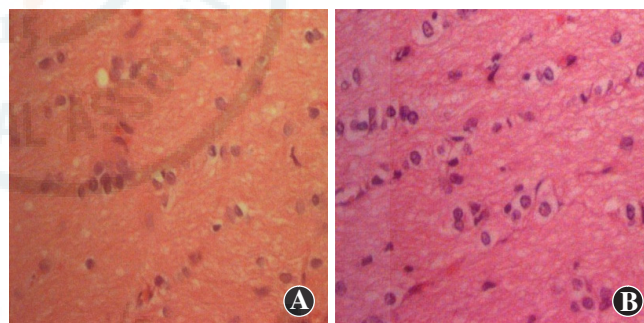


图 1 照射后 8 周光学显微镜下观察空白组和模型组大鼠视神经显微结构的变化(HE ×400) A:空白组神经纤维束呈柱形均匀排列,染色均匀,少量神经纤维出现空泡变性 B:模型组神经纤维束肿胀,排列紊乱,神经纤维出现空泡变性

2.4 照射后 8 周各组大鼠视神经超微结构的变化及视神经脱髓鞘率的比较

照射后 8 周,空白组视神经的轴突轴索膜与髓鞘板层间间隙均匀,髓鞘完整,呈致密板层排列,层与层之间排列整齐,轴突内可见神经微管、微丝,轴浆均匀,并可见少量线粒体(图 2A);模型组可见部分轴突肿胀,较大轴突及部分中等大小轴突轴索膜与髓鞘板层间间隙加大,髓鞘板层分离轴突增加,部分轴突中神经微丝、微管减少,线粒体肿胀,部分轴突轴浆内空泡化,轴索萎缩(图 2B)。空白组轴索的脱髓鞘率为(1.35±0.79)%,模型组轴索的脱髓鞘率为(14.44±2.32)%。

2 个组比较差异有统计学意义($t=14.07, P<0.01$)。

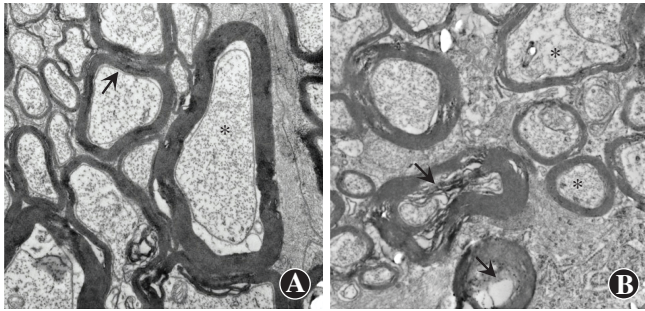


图2 照射后8周透射电子显微镜下观察空白组和模型组大鼠视神经超微结构的变化($\times 30\,000$) A:空白组视神经空白组和模型组的轴突轴索膜与髓鞘板层间间隙均匀(黑箭头),髓鞘完整,可见神经微管、微丝(*),轴浆均匀 B:模型组脱髓鞘轴突见轴索膜与髓鞘板层间间隙增多、加大(箭头),轴突中神经微丝、微管明显减少(*),部分髓鞘空泡化(箭头)

3 讨论

RION 的发生主要与靶器官的部位、放射野的设置、总放射剂量、分割照射剂量、放射治疗时间间隔的长短及存活时间等因素有关^[4-6]。多程放射治疗、放射总剂量和单次照射剂量越大,两次照射时间间隔越短,其发病率越高^[7-8];靶器官离视路越近,则视路接受的照射剂量越大,RION 的发病率越高;接受放射治疗的患者若同时伴有糖尿病、其他基础疾病(特别是血管异常性疾病),或同时进行化学疗法均明显增加 RION 的发病率;另外,个体对放射线的敏感性也会增加 RION 的发病率^[9-10]。既往研究结果显示,放射线总剂量在 RION 的形成过程中起着关键性作用。根据本课题组既往研究结果以及文献报道,30 Gy 可以较好地制作 RION 模型^[3]。充分考虑研究周期等条件下,本研究中选用总剂量 30 Gy 分 3 次照射的方法。

RION 的病理改变表现为视神经内血管内皮细胞增生、管壁变厚伴纤维蛋白样变性坏死、血管腔变窄或闭塞,反应性星形细胞增多、脱髓鞘、神经组织梗死,反应性神经胶质增生和轻微的慢性炎性细胞浸润等^[11-12]。RION 最先损伤部位究竟是血管还是神经一直存在争议,其发病机制有 3 种假说:(1)神经组织的直接损伤;(2)血管损害先于神经组织损伤;(3)神经组织抗原性的改变导致自身免疫性血管炎。

3.1 放射线对血管内皮的影响

研究认为,血管损伤在放射线照射诱发的神经损伤中起着非常重要的作用^[13]。放射线照射导致血管内皮细胞肿胀、变性、脱落,血管管腔狭窄,严重可导致血管闭塞^[14]。Fajardo^[15]通过病理检查发现,放射性血管损伤主要表现为血管内皮细胞损伤。鄂明艳

等^[16]通过动物实验显示,放射线照射可导致血管内皮细胞损伤,ET-1 表达明显升高。Kamiryo 等^[17]研究发现,经 γ 射线照射大鼠脑组织后主要表现为中、小血管内皮细胞损伤,晚期血管壁增厚,血管管腔狭窄、管壁变性坏死,最终导致血栓形成,引起脑组织的缺血性坏死改变。Rauch 等^[18]研究发现,切除的脑瘤组织在放射线照射后出现血管内皮细胞丢失,血管管壁溶解、玻璃样变和硬化、管腔闭塞,血管内血栓形成以及中、小血管 T 细胞浸润的活动性血管炎。因而认为血管内皮细胞损伤在放射引起的损伤机制中起着重要作用^[19]。

目前认为,ET-1 和 vWF 主要由血管内皮细胞产生^[20],放射线照射可引起血管内皮细胞结构和功能的改变,且随着照射剂量的增加其损害程度加重,其分泌 ET-1 和 vWF 的功能随之增强,故测定血液中二者的质量浓度可间接反映血管内皮细胞的损伤情况^[21]。本研究中结果显示,模型组大鼠血液中 ET-1 和 vWF 质量浓度较空白组明显增加,且随着照射后时间的延长其质量浓度逐渐增加,推测放射线照射会损伤血管内皮细胞,导致其分泌 ET-1 和 vWF 增加。照射后 6 周 ET-1 和 vWF 质量浓度下降,可能是血管内皮细胞的损伤和自身修复的动态平衡逐渐向以修复为主的方向偏移。这与阮林等^[22]研究认为的大剂量照射造成的损伤持续存在,而小剂量造成的血-脑屏障损伤可自行恢复相一致。

3.2 放射线照射对神经组织的直接损伤

经典的放射生物学观点认为,放射线造成早期脑损伤主要在照射后数周至 3 个月内发生,病理改变以脱髓鞘为主,多数症状为暂时性;而晚期脑损伤(慢性放射性脑病)一般发生在照射后 10 个月或数年,病理改变主要为脱髓鞘,血管闭塞,血栓形成,最终导致脑组织局灶性或弥漫性坏死^[23]。

放射线照射后短期内会引起神经短暂的电生理及生化改变、血管损伤、神经周围的过度纤维化以及代偿性新生血管形成,从而引起轴突的损伤和脱髓鞘改变^[24]。有研究认为放射线除直接损伤轴索和髓鞘外,还可损伤少突胶质细胞^[25-28]。另外,神经干细胞和祖细胞对放射线也非常敏感,并且放射线会持续影响神经的修复功能^[29]。Rauch 等^[18]对切除的人脑组织进行病理学检查发现,放射线照射诱导脑白质脱髓鞘和凝固性坏死改变。本研究结果显示,放射线照射后 8 周模型组神经纤维束肿胀,排列紊乱,神经纤维间空泡化明显,神经胶质细胞散在分布,细胞水肿,部分细胞核固缩;而空白组神经纤维束呈柱形均匀排列,染色均

匀,胶质细胞散在分布,无组织、细胞水肿及细胞核固缩。放射线照射后视神经发生明显的脱髓鞘改变,脱髓鞘率明显增加,故可以认为放射线照射对视神经造成持续损害。

综上所述,本研究中采用 SD 大鼠制作放射性视神经损伤的动物模型,方法简单易行,实验动物价格低廉,模型成型率较高,适合于符合统计学要求的大样本定量 RION 相关基础研究工作地开展。但本研究中仍有不足且亟待改进之处:(1)本研究中仅观察了放射线照射后短期的改变情况,未观察长期的损害情况,有待后续研究解决;(2)未进行神经电生理检测以评估放射线照射对神经传导的影响;(3)未进行组织原位染色以评估血管内皮的形态学改变情况。

参考文献

- Mihalcea O, Arnold AC. Side effect of head and neck radiotherapy: optic neuropathy [J]. *Ophthalmologia*, 2008, 52(1): 36-40.
- van den Bergh AC, Dullaart RP, Hoving MA, et al. Radiation optic neuropathy after external beam radiation therapy for acromegaly [J]. *Radiother Oncol*, 2003, 68(2): 95-100.
- Ryu S, Kolozsvary A, Jenrow KA, et al. Mitigation of radiation-induced optic neuropathy in rats by ACE inhibitor ramipril; importance of ramipril dose and treatment time [J]. *J Neurooncol*, 2007, 82(2): 119-124. DOI: 10.1007/s11060-006-9256-4.
- Demizu Y, Murakami M, Miyawaki D, et al. Analysis of vision loss caused by radiation-induced optic neuropathy after particle therapy for head-and-neck and skull-base tumors adjacent to optic nerves [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 75(5): 1487-1492. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.12.068.
- 杨晖,王伟,胡慧玲,等.放射性视神经病变临床分析[J].*中华眼科杂志*, 2011, 47(12): 1071-1075. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2011.12.005.
Yang H, Wang W, Hu HL, et al. Clinical analysis of radiation optic neuropathy [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2011, 47(12): 1071-1075. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2011.12.005.
- Mayo C, Martel MK, Marks LB, et al. Radiation dose-volume effects of optic nerves and chiasm [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010, 76(3 Suppl): S28-35. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.07.1753.
- 邵之江,张德秀,史传衣.放射性视神经病变的临床分析[J].*临床眼科杂志*, 2010, 18(4): 361-364.
Shao ZJ, Zhang DX, Shi CY. Clinical study of radiation optic neuropathy [J]. *J Clin Ophthalmol*, 2010, 18(4): 361-364.
- Zhao Z, Lan Y, Bai S, et al. Late-onset radiation-induced optic neuropathy after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Clin Neurosci*, 2013, 20(5): 702-706. DOI: 10.1016/j.jocn.2012.05.034.
- Danesh-Meyer HV. Radiation-induced optic neuropathy [J]. *J Clin Neurosci*, 2008, 15(2): 95-100. DOI: 10.1016/j.jocn.2007.09.004.
- Lee MS, Borruat FX. Should patients with radiation-induced optic neuropathy receive any treatment? [J]. *J Neuroophthalmol*, 2011, 31(1): 83-88. DOI: 10.1097/WNO.0b013e31820d5361.
- 李为,王力威,魏世辉.放射性视神经损伤[J].*中国误诊学杂志*, 2004, 4(6): 847-849.
- 黄静,周平.放射性视神经病变研究进展[J].*医学综述*, 2006, 12(5): 291-293.
Huang J, Zhou P. Research progress of radiative optic neuropathy [J]. *Med Recapitul*, 2006, 12(5): 291-293.
- 潘绵顺,王鹏,蒋华平,等.放射性脑损伤及相关问题[J].*立体定向和功能神经外科杂志*, 2007, 20(3): 187-192.
- 李卉,耿志君,刘学文,等.兔早期放射性脑损伤:¹H-MRS 与病理对照研究[J].*中国医学影像技术*, 2012, 28(12): 2117-2121.
- Li H, Geng ZJ, Liu XW, et al. Acute brain radiation injury of rabbits: a control study on proton MRS findings and histopathological changes [J]. *Chin J Med Imaging Technol*, 2012, 28(12): 2117-2121.
- Fajardo LF. The pathology of ionizing radiation as defined by morphologic patterns [J]. *Acta Oncol*, 2005, 44(1): 13-22. DOI: 10.1080/02841860510007440.
- 鄂明艳,刘珊珊,李秀兰,等.放射治疗引起大鼠血管内皮细胞损伤的观察[J].*中国地方病学杂志*, 2004, 23(3): 265.
- Kamiryo T, Lopes MB, Kassell NF, et al. Radiosurgery-induced microvascular alterations precede necrosis of the brain neuropil [J]. *Neurosurgery*, 2001, 49(2): 409-415.
- Rauch PJ, Park HS, Knisely JP, et al. Delayed radiation-induced vasculitic leukoencephalopathy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, 83(1): 369-375. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2011.06.1982.
- 邱俊.血管内皮细胞在正常组织放射性损伤中的作用[J].*肿瘤防治研究*, 2011, 38(10): 1211-1213. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2011.10.031.
- Sen U, Tyagi N, Patibandla PK, et al. Fibrinogen-induced endothelin-1 production from endothelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(4): C840-847. DOI: 10.1152/ajpcell.00515.2008.
- Oggianu L, Lancellotti S, Pitocco D, et al. The oxidative modification of von Willebrand factor is associated with thrombotic angiopathies in diabetes mellitus [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e55396 [2016-01-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3561310>. DOI: 10.1371/journal.pone.0055396.
- 阮林,韦力,廉春蓉,等.全脑照射后血脑屏障改变对放射性脑损伤的影响[J].*中国神经精神疾病杂志*, 2011, 37(10): 591-595.
Ruan L, Wei L, Lian CR, et al. The study on the relationship between permeability alteration of blood brain barrier and radiation brain injury after whole brain irradiation in rats [J]. *Chin J Nerv Ment Dis*, 2011, 37(10): 591-595.
- 王奋,孔繁忠,林少民.三维适型放疗对中外晚期鼻咽癌放射性脑损伤影响研究[J].*现代预防医学*, 2012, 39(1): 188-189, 191.
Wang F, Kong FZ, Lin SM. Study on impact of three-dimensional conformal radiotherapy on brain radiation injury of advanced nasopharyngeal type patients [J]. *Modern Prevent Med*, 2012, 39(1): 188-189, 191.
- Delanian S, Lefaix JL, Pradat PF. Radiation-induced neuropathy in cancer survivors [J]. *Radiother Oncol*, 2012, 105(3): 273-282. DOI: 10.1016/j.radonc.2012.10.012.
- 李伟,洪籍,许阳婷,等.2010年至2012年江苏省乙型流行性感病毒血凝素分子进化特征[J].*中华传染病杂志*, 2016, 34(4): 237-241. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6680.2016.04.007.
Li W, Hong L, Xu YT, et al. Molecular evolutionary characteristics analysis of influenza B virus hemagglutinin in Jiangsu Province, 2010 to 2012 [J]. *Chin J Infect Dis*, 2016, 34(4): 237-241. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6680.2016.04.007.
- 黄光磊,罗洪,赵科,等.放射性¹²⁵I 粒子近距离照射家兔面神经的组织病理学及超微结构观察[J].*实用口腔医学杂志*, 2012, 28(2): 141-145. DOI: 10.3969/j.issn.1001-3733.2012.02.02.
Huang GL, Luo H, Zhao K, et al. The histopathological and ultrastructural observation of rabbit facial nerve following ¹²⁵I seed brachytherapy [J]. *J Pract Stomatol*, 2012, 28(2): 141-145. DOI: 10.3969/j.issn.1001-3733.2012.02.02.
- Tian Y, Shi Z, Yang S, et al. Changes in myelin basic protein and demyelination in the rat brain within 3 months of single 2-, 10-, or 30-Gy whole-brain radiation treatments [J]. *J Neurosurg*, 2008, 109(5): 881-888. DOI: 10.3171/JNS/2008/109/11/0881.
- Jo YS, Han SD, Na SJ. Central pontine myelinolysis presented after prophylactic cranial irradiation in small cell lung cancer [J]. *Neurol Sci*, 2011, 32(6): 1161-1163. DOI: 10.1007/s10072-011-0601-9.
- Malaterre J, McPherson CS, Denoyer D, et al. Enhanced lithium-induced brain recovery following cranial irradiation is not impeded by inflammation [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1(6): 469-479. DOI: 10.5966/sctm.2011-0046.

(收稿日期:2016-05-11)

(本文编辑:刘艳 张宇)