

# 基于小动物精准放疗辐照仪(SARRP)的放射性脑损伤模型建立

陶娟娟<sup>1</sup>, 周凌<sup>2</sup>, 张鹏<sup>1</sup>, 陈明<sup>1</sup>, 陈媛媛<sup>1</sup>

(1. 中国科学院大学附属肿瘤医院(浙江省肿瘤医院), 中国科学院基础医学与肿瘤研究所, 浙江杭州 310022; 2. 广东医科大学研究生院, 广东湛江 524000)

**摘要:** [目的] 拟基于小动物精准放疗辐照仪 (small animal radiation research platform, SARRP) 建立大鼠的放射性脑损伤模型。[方法] 选取 6~8 周雄性 SD 大鼠 36 只, 随机分为 0Gy、30Gy 和 40Gy 剂量组, 每组 12 只。基于 SARRP, 给予大鼠单次全脑照射, 良好保护大鼠的食道、口腔和脊髓, 观察各剂量组大鼠照射后的一般情况。照射后 1 个月, 采用新物体识别和 Morris 水迷宫实验检测大鼠的认知功能变化, 并解剖大鼠的海马组织, 通过 HE、DNA 缺口末端标记 (TUNEL) 凋亡检测和 Western blot 实验检测海马组织的凋亡状态。[结果] 照射后 1 个月, 新物体识别实验显示 0Gy、30Gy 和 40Gy 剂量组大鼠的识别系数分别为 0.62、0.33 和 0.23, 40Gy 剂量组和 0Gy 剂量组差异显著 ( $P=0.05$ )。Morris 水迷宫实验显示前 3 天照射组大鼠的潜伏期较 0Gy 组明显延长, 40Gy 和 0Gy 剂量组差异明显 (前 3 天  $P$  值分别为 0.003、0.036 和 0.040)。HE 染色显示照射组大鼠海马齿状回颗粒细胞层细胞带整体厚度变薄, 细胞排列散乱, 细胞明显缩小、深染、核固缩, 细胞间隙扩大。TUNEL 凋亡染色显示照射组大鼠海马齿状回颗粒细胞层凋亡细胞数明显增多。Western blot 实验结果显示照射后大鼠的海马区 Bax 蛋白表达呈现增高趋势, Bcl-2 蛋白表达呈现下降趋势, 40Gy 与 0Gy 组相比差异有统计学意义 ( $P=0.035, 0.048$ )。[结论] 本实验首次基于小动物精准辐照仪成功建立了大鼠的放射性脑损伤模型, 40Gy 单次全脑放疗可以作为 SARRP 的建模剂量候选。

**关键词:** 放射性脑损伤; 动物模型; 精准放疗

**中图分类号:** R730.55 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2021)06-0459-07

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.06.B009

## Establishment of Radiation-induced Brain Injury Model Based on Small Animal Radiation Research Platform (SARRP)

TAO Chang-juan<sup>1</sup>, ZHOU Ling<sup>2</sup>, ZHANG Peng<sup>1</sup>, CHEN Ming<sup>1</sup>, CHEN Yuan-yuan<sup>1</sup>

(1. Cancer Hospital of University of Chinese Academy of Sciences (Zhejiang Cancer Hospital), Institute of Cancer Research and Basic Medical (IBMC) Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310022, China; 2. Graduate School, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, China)

**Abstract:** [Objective] To establish a rat model of radiation-induced brain injury based on Small Animal Radiation Research Platform (SARRP). [Methods] Thirty-six male SD rats at 6~8 weeks were randomly divided into 0Gy, 30Gy, and 40Gy dose groups with 12 rats in each group. Based on SARRP, the whole brain of each rat received single-dose irradiation and esophagus, oral cavity and spinal cord of rats were well protected. The general conditions of rats in each dose group after irradiation was observed. One month after irradiation, the cognitive functions were detected by new object recognition and Morris water maze test, and the hippocampal tissue of rats was dissected. HE staining, TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling (TUNEL) staining and Western blot test was applied to detect the apoptosis of hippocampal tissue. [Results] One month after irradiation, new object recognition test showed that the recognition coefficients of 0Gy, 30Gy, and 40Gy groups were 0.62, 0.33, and 0.23, respectively. There was a significant difference between the 40Gy dose group and the 0Gy dose group ( $P=0.05$ ). Morris water maze test showed that the escape latency in the first three days of the irradiation group was significantly longer than that of the 0Gy group, and the difference between 40Gy and 0Gy dose group was statistically significant ( $P$  values in the first three days were 0.003, 0.036 and 0.040, respectively). HE staining showed that the thickness of granulos cell layer in dentate gyrus of hippocampus in the irradiation group became thinner. The arrangement of cells was scattered and the gap between cells was enlarged. The cells were also obviously reduced, deeply stained, and nuclear pyknosis. TUNEL staining showed apoptotic cells significantly increased in the hippocampal dentate gyrus in the irradiation group. Western blot test showed that the expression of Bax protein in hippocampus increased and Bcl-2 protein decreased after irradiation. The protein expression was significantly different between the 40Gy group and the 0Gy group ( $P=0.035, 0.048$ ). [Conclusions] In this study, the rat model of radiation-induced brain injury was successfully established based on SARRP for the first time. The whole-brain of 40Gy single-dose irradiation can be applied as a dose candidate for SARRP.

**Subjective words:** radiation-induced brain injury; animal model; precision radiotherapy

**基金项目:** 浙江省卫生医药卫生科技项目 (2020RC044)

**通信作者:** 陈媛媛, 主任医师, 博士; 中国科学院大学附属肿瘤医院头颈放疗科, 浙江省杭州市拱墅区半山山东路 1 号 (310022);

E-mail: chenyy@zjcc.org.cn (现工作单位: 中山大学肿瘤防治中心/中山大学附属肿瘤医院放疗科)

**收稿日期:** 2020-12-23; **修回日期:** 2021-03-10

放射治疗是颅脑肿瘤和头颈部肿瘤重要的治疗方法之一,而放射性脑损伤是脑部放疗后的常见并发症。随着放疗技术的不断进步,典型的放射性脑坏死发生率较低,但是放疗后早期出现的认知损伤却很常见<sup>[1]</sup>。

前期的动物实验研究表明放射性认知损伤与海马的神经发生、炎症反应和血管损伤等因素有关<sup>[2]</sup>,然而目前关于放射性脑损伤的发生机制研究是不完全的,且缺乏有效的预防和治疗措施。因此,基于合理的动物模型来阐明放射性脑损伤的发生发展机制及药物的探索性研究显得尤为重要。目前放射性脑损伤的动物模型基本采用二维照射方式,对照射剂量学的精准性和正常组织的保护不足。本研究将基于美国小动物精准放疗辐照仪(small animal radiation research platform, SARRP)建立大鼠的放射性脑损伤模型,探讨大鼠放射性脑损伤最佳的放射剂量,并从大鼠的行为学实验和海马组织的分子生物学实验来验证该模型的有效性。

## 1 资料与方法

### 1.1 实验动物

选取健康 6~8 周龄雄性 SD 大鼠,体重 200~250g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2017-0005。所有大鼠均在控制温度和湿度的环境下饲养,4 只每笼,在 12 小时的光暗周期内自由饮水饮食。所有大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为对照组 0Gy(n=12)和 30Gy(n=12)和 40Gy(n=12)放疗剂量组。本实验在浙江省肿瘤医院放射肿瘤学重点实验室进行,研究方案得到了浙江肿瘤医院实验动物伦理委员会的批准(批件号:2019-01-001 号)。所有实验方案均按照美国国家卫生研究院实验动物的照护和使用指南进行。

### 1.2 放射性脑损伤模型建立

照射组大鼠经 3%戊巴比妥(0.15ml/100g)腹腔麻醉后,将大鼠俯卧于治疗床上,头部下面垫一小针筒,形成脊柱弯曲的体位,以更好的保护靶区下方的咽部和食管,激光线于鼠耳廓下缘。成像参数:50KV,0.8MA(Figure 1)。载物床自转一周,形成三维影像,导入放疗计划系统软件,组织密度转换为电子密度,照射靶区为全脑,避开大鼠食管、口咽部和脊

髓。以颞下颌关节横断面两个关节窝连线的中点为照射野中心。采用 Muriplan 治疗计划系统,用剂量体积直方图(dose-volume histogram, DVH)和横断面等剂量分布确定治疗计划。采用 SARRP 小动物辐照仪照射,机架(gantry)角度 65 度,载物台(couch)角度 90 度,限光筒 10×10mm,电压 220kV,电流 13mA,权重因子 100,剂量率 4Gy/min,采用源皮距(SSD)照射技术(Figure 2)。放疗组每个剂量组的大鼠均接受单次照射,空白对照组大鼠经腹腔麻醉后置于相同的环境下,给予 0Gy 照射。

### 1.3 认知测试

所有大鼠放疗结束后 1 个半月,采用新物体识别实验和 Morris 水迷宫实验来进行认知功能测试。本实验采用上海欣软信息科技有限公司 SuperMaze 动物行为学视频分析系统。先进行新物体识别实验,将大鼠背朝箱子中的 A、B 两物体放入场地内,鼻尖距两物体距离相同,记录大鼠与 A、B 两物体的接触情况,包括鼻子或嘴巴接触物体的次数和时间,10min 后将大鼠放入原来的饲养箱内,待所有大鼠完成一轮试验后,将场地内的 B 物体换成新的 C 物体,仍将大鼠背朝两物体放入场地,鼻尖距离两物体距离相同,观察大鼠对新物体 C 的探究情况。计算大鼠探索新物体时间与总探索时间的比值为识别指数。

新物体识别实验完成后第 2 天开始水迷宫实验。水迷宫由直径 160cm,高度为 50cm 的圆形水池组成,分为 4 个象限,目标象限水下放置平台,平台的高度为水下 1.5cm,水温控制在 22℃左右。实验在

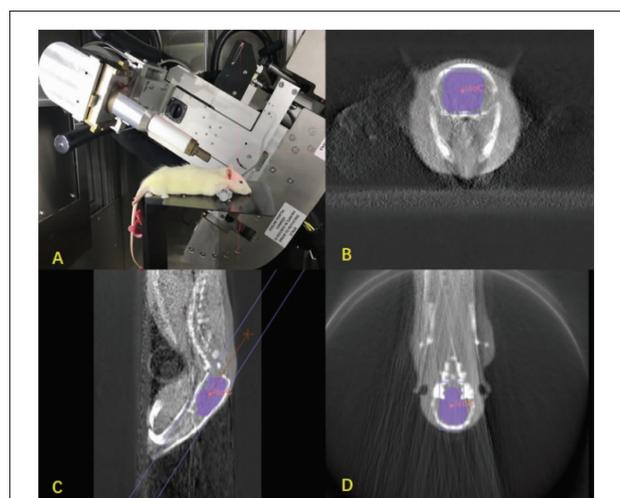
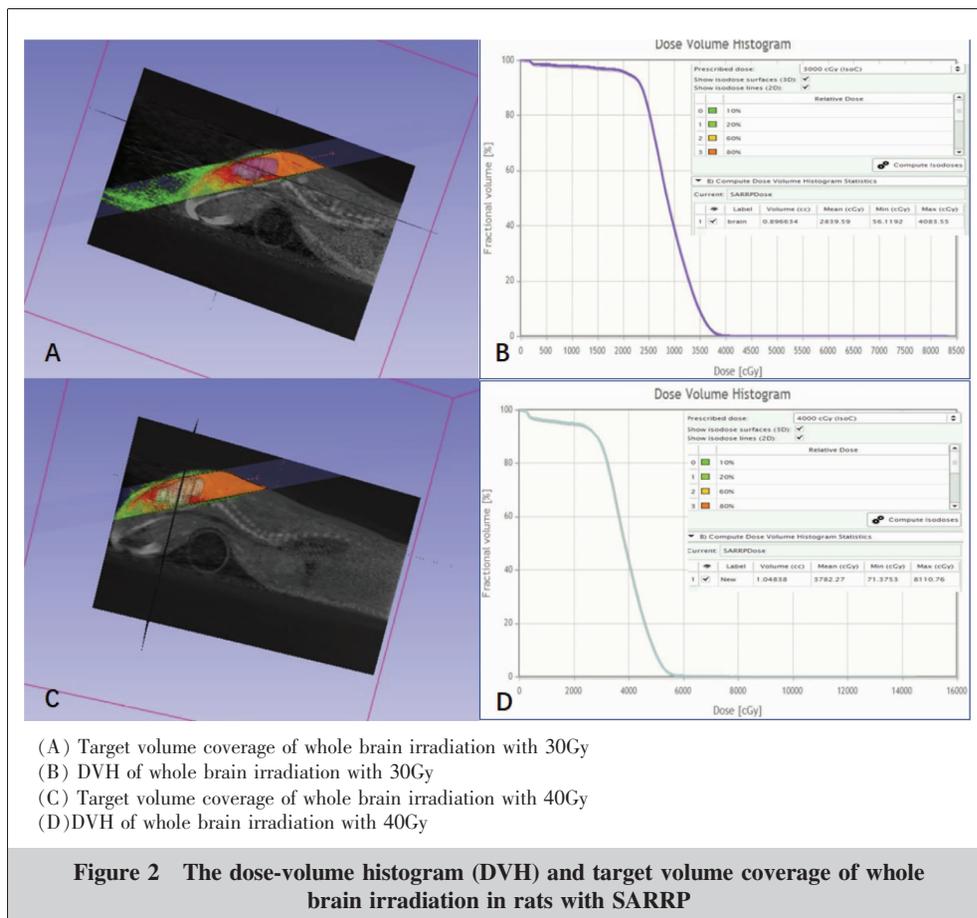


Figure 1 SARRP irradiates the whole brain of rats and protects the esophagus, oropharynx and spinal cord



5天内完成,前4天为定向航行实验,将大鼠面向池壁,分别从4个象限标记的入水点将大鼠面向池壁轻轻滑入水中,记录大鼠从入水到找到平台的时间,记录为潜伏期,若超过120s大鼠还未找到平台,则潜伏期记录为120s,并引导其至平台上并停留10s,此为训练过程。第5天为空间探索实验,首先将隐匿于目标象限的平台移除,固定从距离目标象限最远的象限的入水点开始放入大鼠,记录大鼠在目标象限、平台的时间及所占百分比。

#### 1.4 组织学切片和DNA缺口末端标记(TUNEL)检测

实验组的一半大鼠经3%戊巴比妥(0.15ml/100g)腹腔麻醉后,用4%多聚甲醛经左心室常规灌注固定后断头取海马组织,10%甲醛固定,常规脱水、石蜡包埋切片后,进行苏木精-伊红染色,光镜下观察每张切片5个视野内海马组织病理变化。

其余的脑切片依次放入二甲苯I 15min→二甲苯II 15min→无水乙醇I 5min→无水乙醇II 5min→85%酒精 5min→75%酒精 5min→蒸馏水洗脱蜡至水,随后进行抗原修复,切片稍甩干后在圈内

滴加破膜工作液覆盖组织,常温下孵育20min,将玻片置于PBS(pH7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤3次,每次5min。参照TUNEL凋亡检测试剂盒(11684817910,Roche)进行检测。切片稍甩干后在圈内滴加新鲜配制的DAB显色液,显微镜下控制显色时间,阳性为细胞核呈棕黄色,自来水冲洗切片终止显色。Harris苏木素复染3min左右,自来水洗,1%的盐酸酒精分化数秒,自来水冲洗,氨水返蓝,流水冲洗,最后脱水封片。

#### 1.5 Western blot 检测

各实验组的另一半大鼠经3%戊巴比妥腹腔麻醉后断头,钝性剥离海马组织,从脑组织中提取裂解物,用BCA蛋白检测试剂盒(Pierce,Rockford,USA)定量测定蛋白浓度。然后,将等量的蛋白装载到SDS-PAGE上,随后转移到PVDF膜上(Millipore,Billerica,MA,USA)。将转好的膜置入5%脱脂奶粉,加入Bcl-2和Bax的一抗在4℃孵育过夜。TBST洗脱一抗后加入HRP标志的二抗孵育1h,最终使用ECL试剂(Millipore,USA)显影,并使用NIH Image J软件进行定量分析。 $\beta$ -actin作为内参蛋白(1:5 000;Sigma,USA)。抗体的购买和稀释比如下:兔抗Bcl-2(1:1 000;Affinity Biosciences,USA),兔抗Bax(1:1 000;Proteintech,USA),山羊兔二抗(1:5 000;Thermo,USA)。

#### 1.6 统计学处理

采用SPSS 22.0 (SPSS,Chicago,IL,USA)进行数据分析。所有计量资料以均数±标准差(mean±SD)表示,使用配对t检验或方差分析比较各剂量组的差异。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠一般状态

共有 24 只大鼠接受照射(对照组进行摆位假照射),其中对照组有 1 只大鼠死于麻醉意外,其余大鼠均存活良好。照射后 2 周实验组大鼠均出现照射部位轻度脱毛、皮肤轻度充血、水肿。各剂量组大鼠放疗后体重均呈现增长趋势,组间分组效应 ( $F=58.02, P<0.001$ )、分组和时间交互效应 ( $F=25.41, P<0.001$ ) 差异均有统计学意义。对照组(0Gy)与 30Gy、40Gy 剂量组间体重均有差异(0Gy vs 30Gy,  $P<0.001$ ; 0Gy vs 40Gy,  $P<0.001$ ; 30Gy vs 40Gy,  $P=0.027$ ; Figure 3)。各组均无瘫痪、抽搐及异常神经反射出现。

### 2.2 行为学实验结果

#### 2.2.1 新物体识别实验

本实验采用大鼠探索新物体的时间与探索两物体的总时间的比值作为识别系数来评价大鼠的学习记忆功能。照射后 1 个月,随着剂量增高,0Gy、30Gy 和 40Gy 剂量组大鼠的识别系数分别为 0.62、0.33 和 0.23,差异无统计学意义( $F=2.972, P=0.069$ )。亚组分析显示 40Gy 剂量组大鼠的识别系数与 0Gy 组差异明显( $P=0.05$ ) (Figure 4)。

#### 2.2.2 水迷宫实验结果

在全脑放疗后 1 个月,各组大鼠平均潜伏期存在显著性差异,分析显示分组效应 ( $F=2.66, P<0.005$ )、分组和时间交互效应差异均有统计学意义 ( $F=121.5, P<0.001$ , Figure 5A)。亚组分析显示第 1 天 30Gy、40Gy 剂量组和 0Gy 剂量组差异均有统计学意义 ( $P=0.001, 0.003$ ),第 2、3 天仅 40Gy 和 0Gy 剂量组差异明显 ( $P=0.036, 0.040$ ),第 4 和第 5 天各组潜伏期差异均无统计学意义。定向巡航实验显示第 5 天各剂量组大鼠在目标象限所占时间比呈现逐渐减少的趋势,但差异无统计学意义 ( $F=0.623, P=0.546$ , Figure 5B)。典型的大鼠的轨迹热图显示,0Gy 剂量组大鼠在平台区活动时间较长,30Gy 剂量组大鼠在目标象限活动时间居中,40Gy 剂量组大鼠的活动轨迹多沿着池壁为典型表现 (Figure 5C)。

### 2.3 免疫组化和 TUNEL 凋亡结果

HE 结果显示 0Gy 剂量组海马齿状回颗粒细胞层厚薄均匀,细致密,细胞饱满,胞浆透亮。30Gy 剂量组 HE 显示齿状回颗粒细胞层整体厚度不均匀,细胞排列欠致密,部分细胞深染,形态不饱满,胞浆

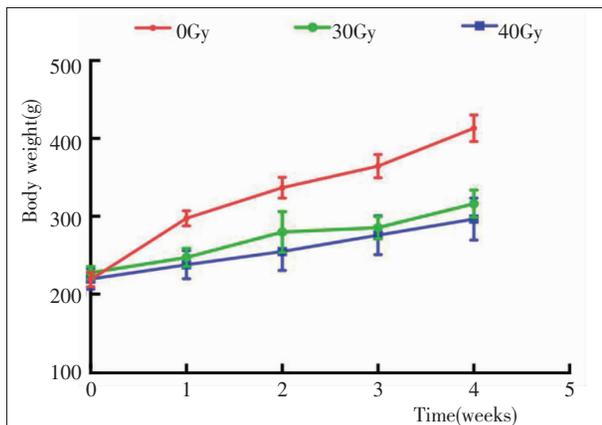


Figure 3 The body weights in each dose group after whole brain radiotherapy

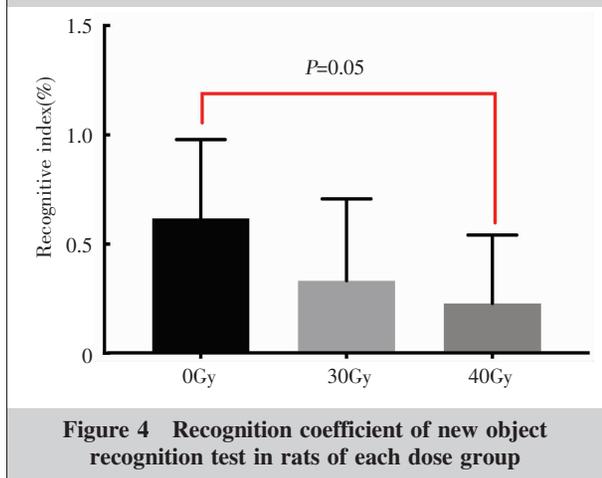


Figure 4 Recognition coefficient of new object recognition test in rats of each dose group

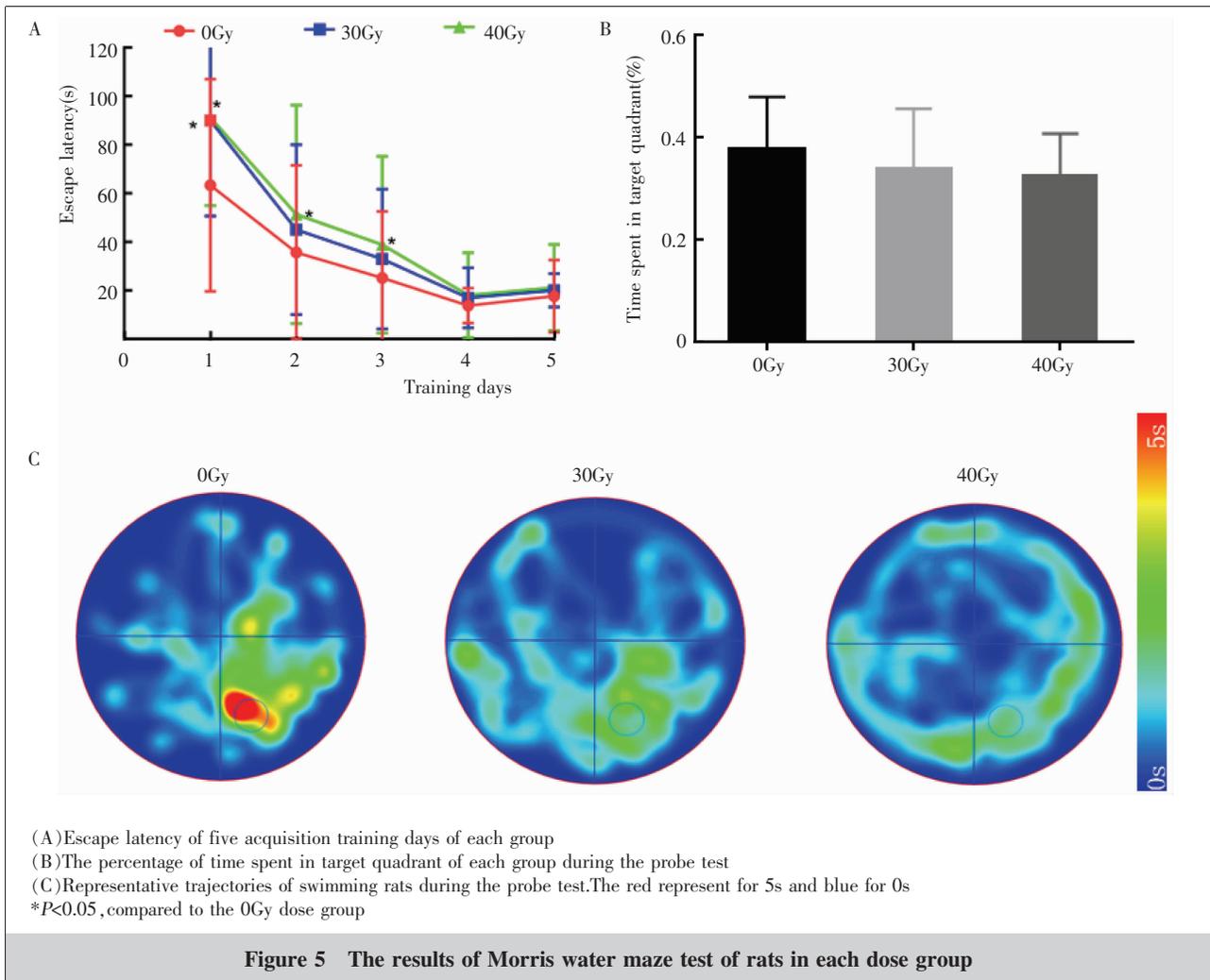
显示欠清楚。40Gy 剂量组 HE 显示齿状回颗粒细胞层细胞带整体厚度变薄,细胞排列散乱,细胞明显缩小、深染、核固缩,细胞间隙扩大 (Figure 6)。TUNEL 凋亡检测显示照射组大鼠海马齿状回凋亡细胞数较正常组大鼠明显增多,40Gy 剂量组最明显 (Figure 7)。

### 2.4 Bcl-2 和 Bax 凋亡蛋白检测结果

Western blot 检测结果显示,全脑放疗后,Bax 蛋白表达呈增高趋势,组间效应差异无统计学意义 ( $F=1.257, P=0.35$ ),亚组分析显示 40Gy 与 0Gy 组蛋白表达量差异有统计学意义 ( $P=0.035$ ); Bcl-2 蛋白表达呈现下降趋势,组间效应差异无统计学意义 ( $F=3.815, P=0.085$ ),但 30Gy 组趋势不明显,40Gy 与 0Gy 组相比差异有统计学意义 ( $P=0.048$ , Figure 8)。

## 3 讨论

放射性脑损伤是头颈部肿瘤放疗后常见的并发症之一,但是对于其发生机制尚没有明确的认识,也

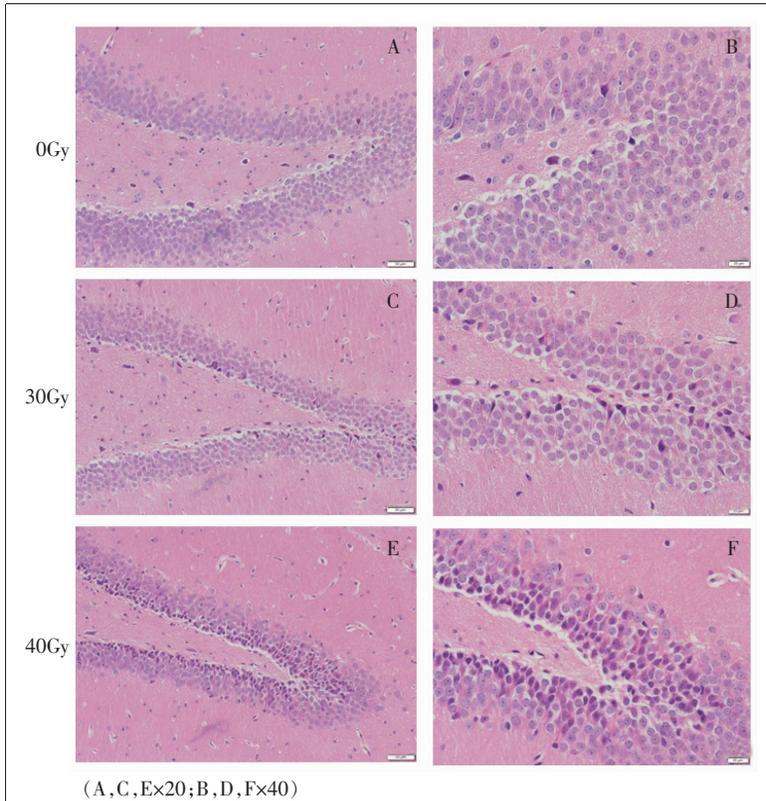


缺乏有效措施来预防。研究者常通过动物模型来探索放射性脑损伤的分子机制，然而早期的建模多基于常规二维的照射方式，对靶区的照射适形性和正常组织的保护不足。随着放疗进入精准治疗的年代，动物的建模也要求更高。美国小动物精准放疗辐照仪(SARRP)整合了高分辨率CT影像引导和精准出束，可以实现靶区和剂量分布的适形<sup>[3]</sup>。本研究首次基于SARRP成功建立了放射性脑损伤的大鼠模型，提出40Gy单次全脑放疗可以作为SARRP的建模剂量候选。

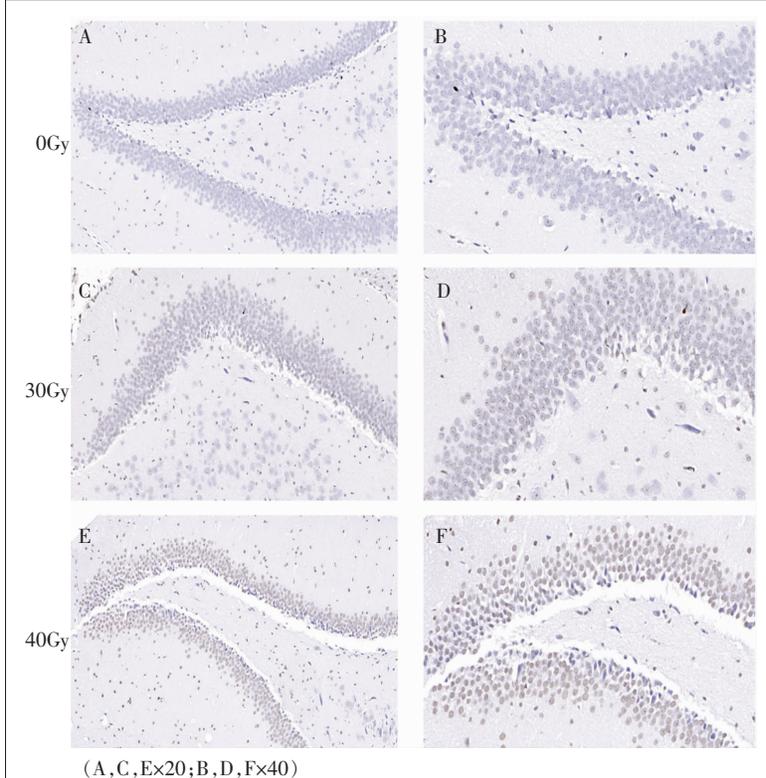
既往有多项研究采用不同的剂量和分割方式来建立放射性脑损伤模型。Tada等<sup>[4]</sup>研究显示单次全脑5Gy照射后6小时内即可发生细胞凋亡。随着放疗剂量增加，大鼠会出现明显的认知损伤。Ji等<sup>[5]</sup>的研究显示20Gy的全脑放疗后4周，海马的神经发生、细胞增殖和脑源性神经营养因子的表达均减少。

30Gy和40Gy的单次全脑大剂量放疗后1个月会出现新生神经元数量明显的减少和活性的降低，大鼠出现明显的认知损伤、脑含水量增加、血脑屏障渗透性增加、脑源性神经营养因子表达明显降低<sup>[6-7]</sup>。

不同的剂量分割方式也与放射性脑损伤有关。Hornsey等<sup>[8]</sup>分析了不同的分割次数的剂量效应曲线，结果显示随着分割次数的增加，脑损伤会不同程度的得到修复。同样的，Lamproglou等<sup>[9]</sup>采用30Gy/10次的照射方式，照射后7个月，大鼠有认知损伤的表现，但是光镜下未见明显的病理异常。周海红等<sup>[10]</sup>比较了直线加速器单次或分次照射对大鼠学习记忆的影响，研究采用20、30Gy，分为单次、多次照射4个组别，结果显示30Gy分次照射组放疗后8周可以观察海马和皮层神经元变性，胞核染色质浓集，胞体萎缩，胞浆红染等改变。不同的研究得出的最佳建模剂量不尽相同。我们前期预实验也尝试了分割照



**Figure 6 HE staining of hippocampal dentate gyrus of rats in each dose group**

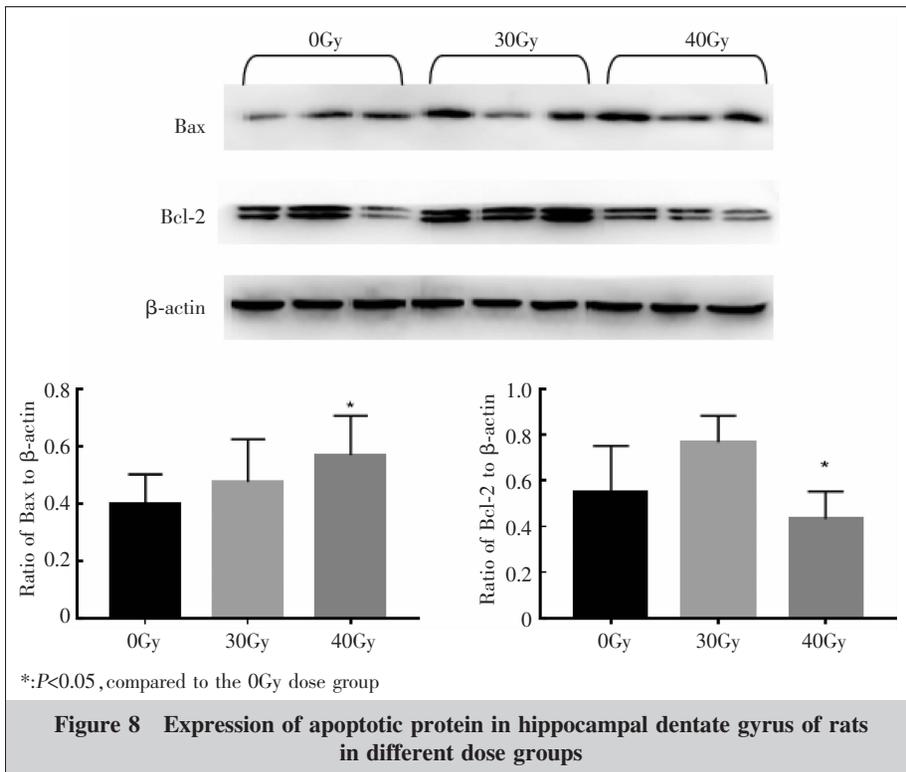


**Figure 7 TUNEL apoptotic staining of hippocampal dentate gyrus of rats in each dose group**

射 40Gy/5f,然而放疗后 1 个月大鼠的脑损伤并不明显,有两方面原因:(1)小动物辐照仪 SARRP 这个放疗剂量不合适,没有成功的造成脑损伤;(2)放疗后 1 个月的时间点,没有观察到脑损伤,可能与脑损伤的修复或延迟有关,需要多几个时间点来探索。总之,考虑造模的成功性及多次麻醉也会造成动物神经系统的损伤,我们选择了文献中多用的单次大剂量照射成功建模。本研究的放疗剂量可能对脑转移 SRS/SRT 大剂量放疗有一定参考意义。

本研究中单次大剂量照射引起了大鼠海马组织明显的凋亡相,坏死成分少数。回顾既往文献,Liu 等<sup>[7]</sup>的研究中也采用单次 0、10Gy、20Gy、40Gy 照射,结果显示 40Gy 照射后大鼠出现明显的认知损伤,在放疗后 7 天达到高峰,一直持续 2 个月,同时伴有脑水肿和血脑屏障通透性变化,但是在海马区没有发现病理学改变,只在大脑皮层附近的白质发现有部分松散、不规则排列的神经元和血管退化。Lamproglou 等<sup>[9]</sup>认为放射性脑损伤在幼鼠比成年鼠更早表现出学习和记忆能力的下降(在病理改变还不明显的时候)。本研究选取 6~8 周雄性 SD 大鼠,相对成年鼠年轻,可能在早期出现明显脑坏死之前已经表现出认知功能下降。此外,本研究考虑到样本量没有分很多时间点来探索放射性脑损伤随着时间的变化特征。刑诒刚等<sup>[11]</sup>的研究采用常规照射方法建立了大鼠脑损伤的模型,照射剂量为 42Gy/6f,照射结束后 3、7、14、30 天观察大鼠的脑组织病理改变。结果显示第 3、7 天,大鼠颞叶及海马部分神经元轻度变性,细胞核皱缩,照射结束后 14、30 天,出现部分坏死,周围出现增生的胶质细胞,提示照射后脑组织的损伤程度与放射后观察时间及放射累积剂量的增加有关。

既往的二维照射方式,多采用 6MeV



**Figure 8** Expression of apoptotic protein in hippocampal dentate gyrus of rats in different dose groups

电子线全脑照射,对正常组织保护欠佳,本研究中SARRP最大的优势是CT影像引导,可以实现靶区和正常组织的可视化(Figure 1)。此外,SARRP采用的是Muriplan计划系统,能够按照剂量函数运算出靶区的剂量、坐标定位和出束时间。本实验中,30Gy的计划设计80%靶体积接受了25Gy的照射,40Gy的计划设计可使80%靶体积接受了32Gy左右的照射。与临床计划设计标准相比,SARRP的靶区覆盖相对欠佳,可能与其采用220kV、电流13mA的光子线来进行照射有关。

本实验从以下几方面论证了模型的有效性:(1)模型组大鼠放疗后1个月内大鼠的体重均呈现增长趋势,表明大鼠放疗后的摄食受影响不大,说明放疗对大鼠的食管保护良好;(2)模型组大鼠放疗后1个月,新物体识别实验和Morris实验的结果均显示大鼠放疗后空间记忆发生损伤,从行为学角度论证了造模成功;(3)模型组大鼠脑辐射损伤后脑组织的凋亡蛋白(Bax)表达较对照组增高,抗凋亡蛋白(Bcl-2)较对照组表达降低,说明脑组织辐射后凋亡持续发生;(4)模型组大鼠脑组织的HE和TUNEL凋亡染色也提示随着放疗剂量增加,大鼠海马齿状回颗粒细胞层细胞呈现凋亡的形态。

综上,本研究采用了40Gy的单次全脑照射成功建立了SD大鼠放射性脑损伤模型,为以后SARRP在神经领域中的动物模型研究提供了参考。

## 参考文献:

- [1] Asai A, Kawamoto K. Radiation-induced brain injury [J]. *Brain Nerve*, 2008, 60(2):123-129.
- [2] Cayuela N, Simo M. Radiation-induced cognitive toxicity in adults [J]. *Rev Neurol*, 2019, 68(4):160-168.
- [3] Bazalova M, Nelson G, Noll JM, et al. Modality comparison for small animal radiotherapy: a simulation study [J]. *Med Phys*, 2014, 41(1):011710.
- [4] Tada E, Parent JM, Lowenstein DH, et al. X-irradiation causes a prolonged reduction in cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats [J]. *Neuroscience*, 2000, 99(1):33-41.
- [5] Ji Jf, Ji Sj, Sun R, et al. Forced running exercise attenuates hippocampal neurogenesis impairment and the neurocognitive deficits induced by whole-brain irradiation via the BDNF-mediated pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443(2):646-651.
- [6] Ji S, Tian Y, Lu Y, et al. Irradiation-induced hippocampal neurogenesis impairment is associated with epigenetic regulation of bdnf gene transcription [J]. *Brain Res*, 2014, 1577:77-88.
- [7] Liu Y, Xiao S, Liu J, et al. An experimental study of acute radiation-induced cognitive dysfunction in a young rat model [J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2010, 31(2):383-387.
- [8] Hornsey S, Morris CC, Myers R. The relationship between fractionation and total dose for X ray induced brain damage [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1981, 7(3):393-396.
- [9] Lamproglou I, Chen QM, Boisserie G, et al. Radiation-induced cognitive dysfunction: an experimental model in the old rat [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995, 31(1):65-70.
- [10] 周海红, 刘运林, 刘军, 等. 直线加速器不同剂量全脑单次与分割外照射对大鼠学习记忆能力的影响 [J]. *中国行为医学科学*, 2008, 17(1):10-12.
- [11] 邢诒刚, 唐亚梅, 孙颖, 等. 急性放射性脑损伤鼠模型的建立 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2003, 23(4):269-270.
- Xing ZG, Tang YM, Sun Y, et al. Establishment of a murine model of acute radiation encephalopathy [J]. *Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection*, 2003, 23(4):269-270.