

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.15.010

透明质酸钠预防微波消融术后局部粘连的实验研究*

曹昆昆 章建全[△] 赵佳琦 黄禾菁 吴震中

(第二军医大学附属长征医院超声诊疗科 上海 200433)

摘要 目的:通过实验探讨透明质酸钠预防微波消融术后局部组织粘连的效果。**方法:**120只健康SD大鼠随机分为三组,每组40只,分别为微波消融组(A组,对照组)、微波消融加透明质酸钠组(B组)、微波消融加生理盐水组(C组)。通过对大鼠背部肌肉进行微波消融建立术后局部粘连模型,并在该模型基础上应用透明质酸钠,术后3d、1w、2w、4w分别对背部组织进行粘连分级、HE染色及免疫组化观察和分析。**结果:**消融术后3d、1w、2w,B组在粘连分级方面A、B及C3组间水平差异具有统计学意义($P<0.05$);4w时A、B、C组间的差异无统计学意义($P=0.458$)。两两比较,A、C两组在四个时间点水平差异无统计学意义(P 均 >0.05),而B组在消融术后3d、1w和2w时,粘连分级明显优于A、C组, $P=0.029(3d)$ 、 $P=0.011(1w)$ 、 $P=0.004(2w)$,水平差异显著,有统计学意义;4w时, $P=0.391$,无统计学意义。消融术后A、C组HE染色及免疫组化染色光镜下观察,淋巴细胞、巨噬细胞等炎症浸润情况及成纤维细胞数目均较B组多,且A、C组胶原纤维沉积明显多于B组。**结论:**透明质酸钠能够有效减轻微波消融术后发生的局部组织粘连。

关键词:透明质酸钠;微波消融;粘连;预防

中图分类号:Q95-3;R619 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)15-2837-06

Experimental Study of Sodium Hyaluronate in Preventing Adhesion after Microwave Ablation*

CAO Kun-kun, ZHANG Jian-quan[△], ZHAO Jia-qi, HUANG He-jing, WU Zhen-zhong

(Department of Ultrasound, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China)

ABSTRACT Objective: To determine the effectiveness of sodium hyaluronate in preventing local tissue adhesion after microwave ablation. **Methods:** 120 rats were randomly divided into three groups (40 rats in each group): microwave ablation group (group A), microwave ablation and sodium hyaluronate group (group B), microwave ablation and sodium hyaluronate saline group (group C). The local adhesion model was established in muscle of rat back by microwave ablation, and sodium hyaluronate was applied in this model during operation. Biopsy was taken on the 3th, 7th, 14th and 28th postoperative day. The adhesion scores gradation judging, hematoxylin and Immunohistochemistry were observed and analyzed. **Results:** There were statistically significantly differences in the extent of adhesion between group B and group A, C on the 3th, 7th and 14th postoperative($P<0.05$), after ablation 4W, there was not statistically significantly differences among A, B, C three groups ($P=0.458$). Comparison between the two group, there was no statistical significance between the group A and C in the four time points ($P>0.05$), however, on the 3th, 7th and 14th postoperative day, group B were significantly less than group A, C in the extent of adhesion, and there was statistical significance, $P=0.029(3d)$, $P=0.011(1w)$, $P=0.004(2w)$. After ablation 4w, $P=0.391$, there was no statistical significance between group B and group A, C. Group A and C were more than group B in the aspect of hematoxylin and immunohistochemical staining, the number of inflammatory cells infiltrated by lymphocytes, fibroblasts and macrophages, and the amount of collagen fiber deposition in A and C group were significantly harder than group B. **Conclusion:** Sodium hyaluronate appears to effectively reduce the local tissue adhesion after microwave ablation.

Key words: Sodium hyaluronate; Microwave ablation; Adhesion; Preventing

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R619 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)15-2837-06

前言

消融治疗是当今超声引导下治疗各脏器占位性病变的研究热点,在2000年,Pacella^[1]等及2001年Dupuy^[2]等分别首次

应用激光消融和射频消融治疗术后复发的甲状腺癌,国内对此技术的应用始于2005年^[3],近年来,超声引导下的甲状腺结节微波消融术凭借其操作方便、并发症少、保留甲状腺功能等优点迅速被广泛应用于临床。超声引导下甲状腺结节微波消融虽

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81171436)

作者简介:曹昆昆(1989-),硕士,研究方向:超声介入,E-mail:18516349818@163.com

[△] 通讯作者:章建全,E-mail:ultramez@ina.com

(收稿日期:2016-11-28 接受日期:2016-12-30)

是微创手术,但由于甲状腺部位解剖结构复杂,邻近气管、食管,周边神经、血管、淋巴管丰富,极易出现各种并发症,其中术后颈部局部粘连是常见的并发症之一^[4],表现为颈部异物感、梗咽感、迟发性声音嘶哑、吞咽时疼痛或困难等,不利于预后,严重时影响患者生活质量。同时,粘连的存在也使行二期微波消融术或部分甲状腺瘤消融术后复发需转开放性外科手术切除时手术难度增大、并发症发生率增加。国内董文武^[5]等报道了5例消融术后再次行手术切除的患者,由于消融后局部渗出反应,造成甲状腺与周围组织粘连严重,为二期手术增加难度。因此,预防甲状腺结节消融术后局部组织粘连意义重大。

有研究表明,透明质酸钠能够减轻外科术后粘连的发生率^[6,7],但其能否减轻微波消融术后引起的粘连,目前还未见有相关文献报道。本实验通过建立大鼠背部肌肉微波消融后局部粘连模型,并在术后对消融部位应用透明质酸钠,旨在探讨其预防消融术后粘连的效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

清洁级健康雄性 SD (Sprague Dawley) 大鼠,120 只,320-350 g,购于上海杰斯捷实验动物有限公司。所有 SD 大鼠饲养环境条件均一,温度 24 度,湿度 50%,昼夜 12/12,在 SPF (Specific pathogen Free) 动物房中饲养观察所有动物。动物随机分为 A、B、C 三组,每组各 40 只。

1.2 实验设备与制剂

超声诊断仪:Sequoia 512 CPS-Cadence, Siemens, 美国,探头频率为 14 MHz;微波消融仪:KY-2100 型,频率 2450 MHz,微波发射端长 3 mm,循环水冷却,微波天线杆温稳定在 28-32。医用透明质酸钠凝胶 6 mg/mL 由上海昊海生物制剂公司提供。

1.3 动物模型的建立^[22]

A 组(对照组):微波消融组 40 只,用 2%戊巴比妥钠按 0.2 mL/100 g 剂量经腹腔注射,分别对 A 组 40 只大鼠进行全身麻

醉,麻醉生效后(以全身肌肉松弛、呼吸平稳且深而慢为标准),剪除、剃净大鼠腰背部中央毛发,将其俯卧位固定于干净的手术操作平台上。首先用超声浅表探头,对大鼠腰背部皮肤进行检查,选取合适的消融区域及预设进针路径,然后术者戴无菌手套,对大鼠施行消毒、铺巾,充分暴露其背部中央皮肤,然后在股骨头上方 1 cm 处切开皮肤,然后使用 18G KY-2100 微波针(2450 MHz)在超声引导下沿预定进针路径穿刺入大鼠腰大肌内,消融功率为 40 W,消融时长 90 s,进行多点多平面消融,消融范围为 20×10×5 mm(上下×左右×前后),消融彻底,完毕后退出消融针,对其进行简单包扎。术后待大鼠自然苏醒回笼,任自由活动,A 组所有大鼠喂养条件同术前。所有手术均由同一热消融术熟练操作者实施。

B 组(微波消融+6 mg/mL 透明质酸钠凝胶组,40 只):按照 A 组方法建立动物模型,在退出消融针后,在超声引导下将浓度为 6 mg/mL,剂量为 2 mL 的透明质酸钠凝胶均匀注射入大鼠背部皮下与肌层之间,确保注射范围能够完全覆盖消融区。然后对其进行简单包扎,喂养同 A 组。

C 组(微波消融+生理盐水组,40 只):按照 A 组方法建立动物模型,在退出消融针后,在超声引导下将 2 mL 生理盐水均匀注射入大鼠背部皮下与肌层之间,确保注射范围能够完全覆盖消融区。然后对其进行简单包扎,喂养同 A 组。

1.4 观察指标

术后 3 d、1 w、2 w、4 w,每组每次各取 10 只大鼠,脊椎脱臼法处死大鼠,进行各项指标观察、留取样本并记录。

1.4.1 大体观察 从消融区一侧切开后大鼠背部皮肤,肉眼观察消融区边缘的粘连情况及透明质酸钠凝胶的残留情况,并作记录。同时,对消融区与周围组织的粘连程度进行分级评分。粘连分级标准为:Ⅰ、0 级:完全无粘连,记为 0 分;Ⅱ、I 级:轻度粘连,单个或两个纤维细粘,记为 1 分;Ⅲ、II 级:中度粘连,两个以上纤维细粘连,粘连宽度小于 5 mm,记为 2 分;Ⅳ、III 级:重度粘连,粘连宽度大于 5 mm,或广泛粘连,记为 3 分(如图 1 所示)。

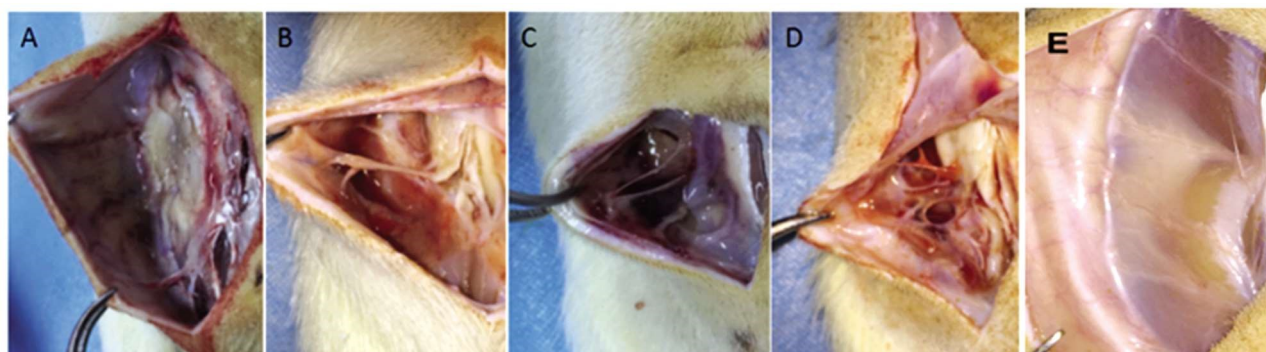


图 1 大鼠背部皮肤粘连程度分级

Fig.1 The degree of cutaneous adhesions in rats.

A: Adhesion level 0; B: Adhesion level I; C: Adhesion level II; D: Adhesion level III. E: Normal control

1.4.2 粘连组织 HE 染色 各组于真皮层与背部骨骼肌筋膜之间粘连处取材,将标本独立保存于装有 10%福尔马林的标本盒里,固定 24 h 后进行脱水,二甲苯透明,透明好后浸入石蜡中,进行包埋。将包埋好后的蜡块切片、贴片、烘片,烘干后脱蜡,随后进行 HE 染色,苏木素 5 min,蒸馏水冲洗,盐酸乙醇

分色,伊红 2 min,脱水,透明,烘干,封片,光学显微镜下观察,拍片。

1.4.3 粘连组织免疫组织化学染色 对粘连组织标本切片进行免疫组织化学染色并观察成纤维细胞及胶原纤维的变化情况。Masson 染色观察其胶原纤维的形成,Masson 染色阳性胶原

纤维呈蓝色,胞质、肌纤维和红细胞呈红色。用 S100A4(又名 FAP-1,成纤维细胞特异性蛋白-1)免疫组化染色试剂盒检测成纤维细胞数目变化情况,S100A4 免疫组化阳性表现为成纤维细胞呈棕黄色或黄色。

1.5 数据统计

应用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,粘连等级评分为等级资料,等级资料多组间比较采用多个独立样本秩和检验(Kruskal-Wallis 检验),两组间比较采用 Mann-WhitneyU 秩和检验。

2 结果

2.1 大体观察

A 组(对照组):消融术后 3 d 时,以 I-II 级粘连为主;1 周时主要为 II-III 级粘连;2 周时致密粘连形成最为明显,以为 III 级粘连为主,不易钝性分离。4 周时,消融区体积缩小,局限于

肌层内,与周边分界清楚,创面部分被正常组织及脂肪成分代替,无明显粘连。B 组(透明质酸钠组):3d 时,大部分无明显粘连,可有少量单个纤维粘连带形成;2 周、4 周时,粘连分级主要为 I-II 级;4 周时与 A 组情况相似。C 组(生理盐水组)结果基本与 A 组相近。

对三组采用 Kruskal-Wallis 检验进行统计学分析,结果显示 A、B、C 三组在 3 d、1 w、2 w 时,P 值分别为 0.036、0.015、0.013,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),4 w 时, $P = 0.458$,三组间差异无统计学意义($P > 0.05$)(如表 1 所示)。进一步对组间进行两两比较,采用 Mann-WhitneyU 秩和检验,结果显示 A、C 两组在四个时间段差异均不具有统计学意义(P 均 > 0.05)。而 B 组相较于 A 两组, $P = 0.029$ (3 d)、 $P = 0.011$ (1 W)、 $P = 0.004$ (2 W),水平差异显著,具有统计学意义($P < 0.05$);4 w 时, $P = 0.391$,无统计学意义。而 B、C 两组比较结果与 A、B 结果相似。

表 1 微波消融术后不同时间大鼠粘连程度分级情况

Table 1 The degree of adhesion of rats in different time after microwave ablation

Groups (time)	NO	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Average Rank	Rank Sum	Chi-square	P values
3 days after ablation of adhesions									6.662
GroupA	10	2	3	2	3	18.25	182.5	N/A	N/A
GroupB	10	6	3	1	0	9.85	98.5	N/A	N/A
GroupC	10	2	2	4	2	18.40	184	N/A	N/A
1 week after ablation of adhesions									8.361
GroupA	10	1	2	4	3	19.40	194	N/A	N/A
GroupB	10	6	3	0	1	9.20	92	N/A	N/A
GroupC	10	1	3	4	2	17.90	179	N/A	N/A
2 weeks after ablation of adhesions									8.664
GroupA	10	0	1	2	7	20.55	205.5	N/A	N/A
GroupB	10	4	2	3	1	9.65	96.5	N/A	N/A
GroupC	10	1	3	1	5	16.30	163	N/A	N/A
4 weeks after ablation of adhesions									1.560
GroupA	10	5	2	1	2	17.30	173	N/A	N/A
GroupB	10	7	1	1	1	13.10	131	N/A	N/A
GroupC	10	6	1	1	2	16.10	161	N/A	N/A

2.2 HE 染色及免疫组化观察

消融术后 HE 染色及 S100A4、Masson 免疫组织化学染色光镜下观察:3d 时,A、C 组细胞水肿明显,大量淋巴细胞、巨噬细胞等炎症细胞浸润,有条索状的胶原纤维形成,并可见成纤维细胞增多。B 组炎症细胞背景、成纤维细胞数目、小血管增生程度及胶原纤维合成数目较 A、C 两组轻。1w 时,A、C 组纤维组织增生活跃,肉芽组织增生明显,可见大量成纤维细胞及胶原纤维合成,并伴大量慢性炎细胞浸润,可见部分肌肉坏死细胞;B 组少量慢性炎症细胞及肉芽组织形成,胶原纤维疏松。2

w 时,A、C 组肉芽组织丰富而致密,成纤维细胞及胶原纤维排列成行,Masson 免疫组化下可见有大片的胶原纤维形成;并伴有新生小血管增生明显,较多炎症细胞浸润;B 组炎症细胞浸润较少,成纤维细胞排列成行,纤维结缔组织不明显,胶原纤维呈点状或小片状散在分布。4 w 时,A、C 组炎症背景消退,在肌层内胶原纤维排列致密,沿肌张力走行,肉芽组织及新生毛细血管减少,部分可见瘢痕组织。B 组病理与 A 组相似,但程度明显较轻,且瘢痕组织不明显。(如图 2、3、5、6 所示)

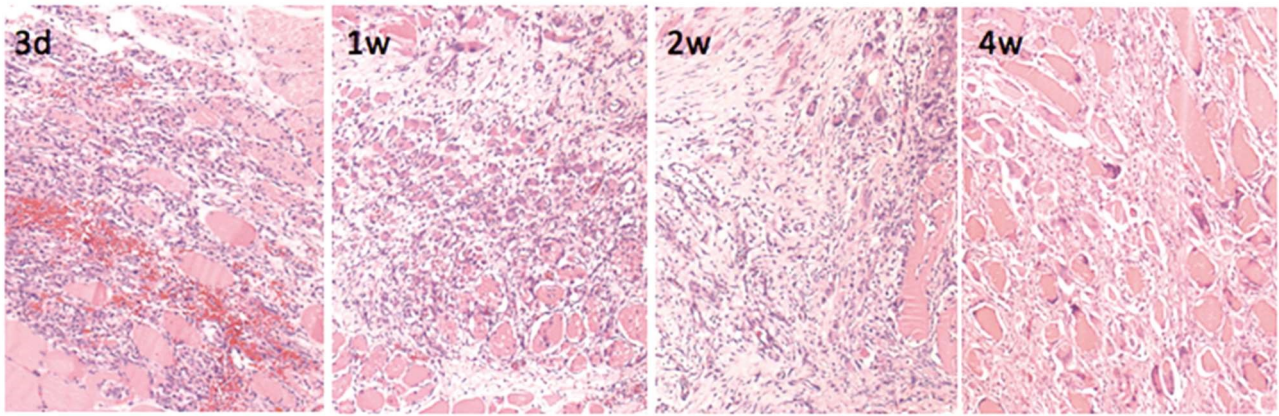


图2 消融术后不同时间粘连组织的 HE 染色情况(× 40)

Fig.2 HE staining of adhering tissue at different time after ablation(× 40)

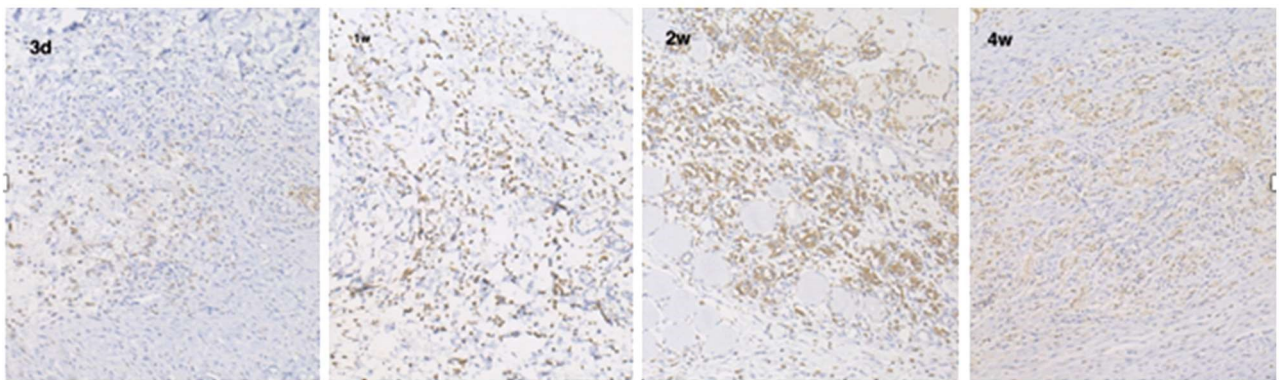


图3 消融术后不同时间点 S100A4 免疫组化染色情况(× 100)

Fig.3 S100A4 immunohistochemical staining at different time points after ablation(× 100)

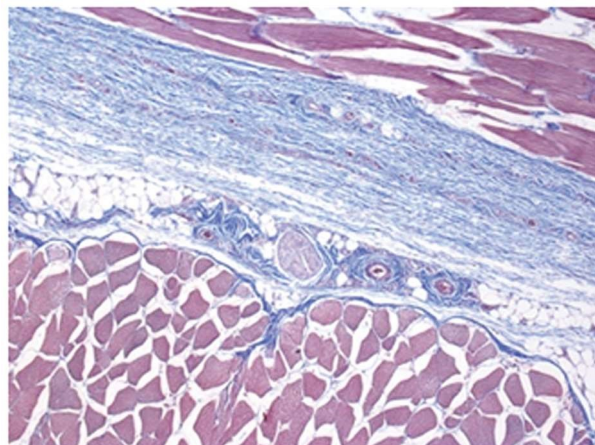


图4 正常组织 Masson 免疫组织化学染色(× 100)(对照)

Fig.4 Immunohistochemical staining of Masson in normal tissues
(Contrast)

3 讨论

粘连是机体对创伤、炎症、异物等损害在愈合修复过程所生的一种普遍反应,国内外研究表明,粘连的形成与组织损伤修复、炎症细胞增殖及趋化、纤维蛋白生成、胶原蛋白合成等因素密切相关,其中损伤及炎症学说是最重要的作用机制^[8]。在消融术后,随着消融区逐渐发生吸波凋亡、坏死,引起大量中性粒细胞、巨噬细胞、成纤维细胞增殖和炎症因子的趋化,导致局部组织水肿、大量纤维蛋白原和纤维蛋白分泌^[9]。当纤维蛋白分泌

的速度显著超过其被降解的速度,纤维蛋白即发生沉积,胶原纤维大量形成,进而导致粘连发生^[10]。

透明质酸(Hyaluronic Acid, HA)及其钠盐是一种大分子氨基黏多糖,广泛存在于人体及动物组织中,具有粘弹性、无毒、无抗原性、体内可降解以及广泛的生物相容性,1969年 Rydell 和 Balazs^[11]首次发现透明质酸钠能够减轻肌腱损伤后粘连,而直到 20 世纪 90 年代透明质酸钠才首次被应用于防止术后组织粘连^[12]。后续大量研究临床实践表明,透明质酸钠应用于人体具有高度安全性,并可显著降低粘连的发生率^[13,14]。近年来其已经受到甲状腺外科医生的重视,并被广泛应用,已有研究表明透明质酸钠可以降低甲状腺术后粘连程度及发生率^[15],此外也可降低甲状腺术后并发症的发生率^[16]。但对于其预防甲状腺微波消融术后的局部粘连目前尚未见报道,故本文针对其对术后局部粘连的作用进行探讨。

由于大鼠的甲状腺大小如同米粒,对其进行微波消融极为困难^[17]。而甲状腺与颈前肌群存在的间隙,与大鼠背部肌肉外层筋膜与皮下真皮层存在的间隙结构相似,且甲状腺消融术后主要是甲状腺被膜与颈前肌群发生粘连,因此本实验对大鼠背部肌肉进行消融,从而建立大鼠背部肌肉外层筋膜与皮下真皮层术后局部粘连模型。

本实验中大体观察大鼠背部消融区呈灰白色,分为中央区、过渡区、外周区, A 组与 C 组结果极为相似, A、C 组大鼠 3d 时外周区与正常组织分界不清楚,周围组织水肿明显,有大量淡黄色渗出液, HE 染色及免疫组化光镜下观察,可见有大量炎

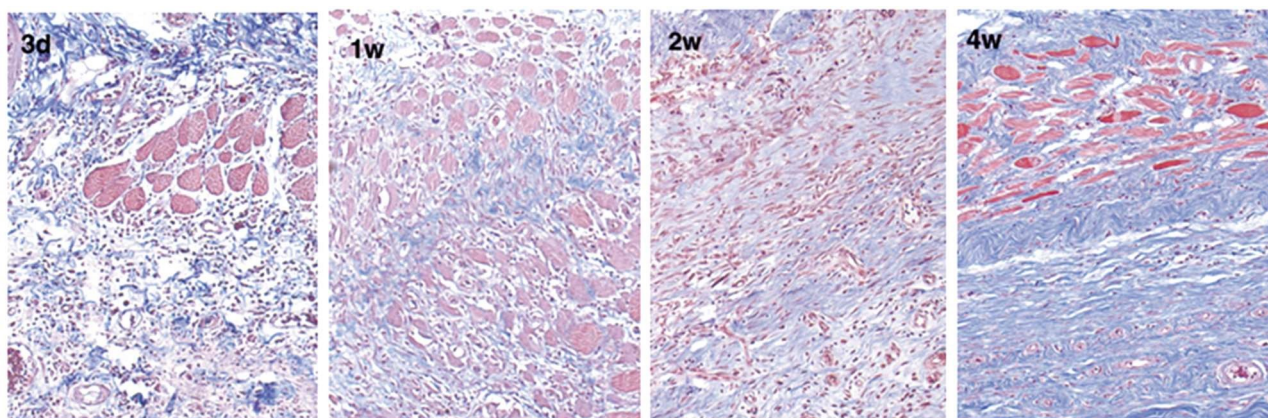


图5 透明质酸钠组(B组)消融术后不同时间点 Masson 免疫组化染色情况(× 100)

Fig.5 The sodium hyaluronate group (Group B) was stained immunohistochemical Masson at different time points after ablation(× 100)

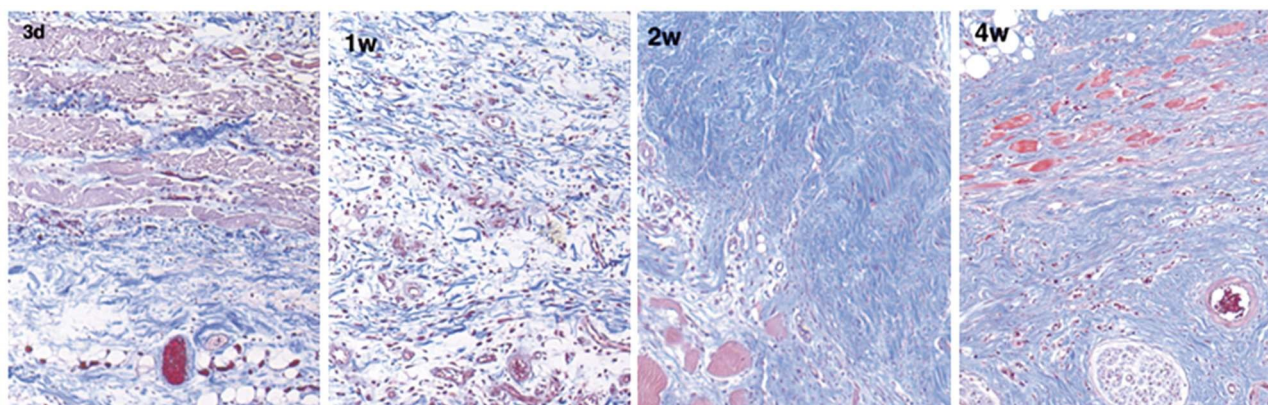


图6 生理盐水组(C组)消融术后不同时间点 Masson 免疫组化染色情况(× 100)

Fig.6 The saline group (Group C) was stained immunohistochemical Masson at different time points after ablation(× 100)

症细胞浸润背景、成纤维细胞数目增多、胶原纤维形成,之后随时间增加炎症细胞数量及胶原纤维形成进一步增加,肉芽组织开始出现,粘连程度呈进行性加重,2 w 时粘连程度最明显(如图6所示),4 w 时消融区表面被正常的皮肤及脂肪组织所替代,但 Masson 免疫组织化学染色后仍能够看到大量的胶原纤维沉积。B 组大鼠较 A 组大鼠消融术后 3 d、1 w、2 w 组织粘连情况明显减轻,组织水肿、渗出情况轻微,创面修复较快, S100A4、Masson 免疫组化染色后可见成纤维细胞数目及胶原纤维沉积较 A、C 组少(如图3、5所示)。此外,B 组消融区面积较 A、C 组减小速度更快。可见透明质酸钠明显改善了大鼠背部消融后产生的局部粘连,而生理盐水无此作用。

成纤维细胞及胶原纤维的数量是判断组织是否发生粘连的标准,在创伤修复中,成纤维细胞在损伤 3 d 后迅速增加,5-6 d 开始发生胶原沉积,并在其后一周内进入活跃期,15 d 左右胶原合成速度不再增加,逐渐进入愈合期^[18]。在本实验中,由于大鼠背部皮肤的修复能力较肌肉组织及甲状腺被膜强,可能大体表现上大鼠皮下粘连并不明显,但 HE 及免疫组化染色上可见大量的胶原纤维沉积,证明创伤修复后曾形成了粘连,而透明质酸钠明显改善了消融后的粘连。透明质酸钠降低甲状腺术后粘连的基本原理为通过在甲状腺组织创面形成物理屏障,制成纤维细胞增殖,减少胶原纤维的沉积,防止纤维组织的形成^[19];同时抑制血小板的沉积,减轻炎症反应,促进内源性愈合,防止粘连的发生^[20],其改善消融术后局部粘连的机制可能与此

相近,可能与透明质酸钠能够抑制炎症反应,维持创面空间,改善术后组织内源性修复能力有关^[21]。而其具体机制还需进一步研究探讨。

综上所述,透明质酸钠对预防微波消融术后局部组织粘连具有良好的预防效果,值得进一步向临床推广。但由于甲状腺解剖位置的特殊性及甲状腺微波消融术的操作特点,针对预防甲状腺微波消融术的透明质酸钠最适浓度,还需进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Pacella CM, Bizzarri G, Guglielmi R, et al. Thyroid tissue: US-guided percutaneous interstitial laser ablation-- a feasibility study[J]. Radiology, 2000, 217(3): 673-677
- [2] Dupuy DE, Monchik JM, Decrea C, et al. Radiofrequency ablation of regional recurrence from well-differentiated thyroid malignancy[J]. Surgery, 2001, 130(6): 971-977
- [3] 钱林学. 超声引导下射频及微波消融在甲状腺结节治疗中的应用[J]. 中华医学超声杂志:电子版, 2013(11): 1-4
Qian Lin-xue. Ultrasound guided radiofrequency ablation and microwave ablation in the treatment of thyroid nodules[J]. Chinese Journal of Medical Ultrasound (Electronic Edition), 2013, (11): 1-4
- [4] Wang yong. Study on application of sodium hyaluronate gel on preventing adhesion after thyroidectomy without drainage [J]. China Medical Herald, 2011, 08(28): 40-41
- [5] Dong Wen-wu, Zhang Hao, Zhang Ping, et al. Re-operation for papillary thyroid carcinoma after radiofrequency ablation therapy: A clinical

- cal analysis of 5 cases [J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2015,35(6): 653-655
- [6] He Zi-ping, Chen Qiong-ju, Ouyang Si-qi. Efficacy and Safety Analysis of Medical Sodium Hyaluronate Adhesion Prevention of Thyroid Incision[J]. Guide of China Medical, 2013(21): 68-68
- [7] Alkhamesi N A, Schlachta C M. The role of aerosolized intraperitoneal heparin and hyaluronic acid in the prevention of postoperative abdominal adhesions[J]. Surgical Endoscopy, 2013, 27(12): 4663-4669
- [8] Cheng Xue-yuan, The mechanism and research progress of postoperative intestinal adhesion [J]. Journal of North Pharmacy, 2014, (12): 101-102
- [9] Stanislaw P, Stawicki MD, FACSa, et al. Results of a prospective, randomized, controlled study of the use of carboxymethylcellulose sodium hyaluronate adhesion barrier in trauma open abdomens [J]. Surgery, 2014, (2): 419-430
- [10] Montalvo-Javé, Eduardo Esteban1 et al. Histological Analysis of Intra-Abdominal Adhesions Treated with Sodium Hyaluronate and Carboxymethylcellulose Gel [J]. Journal of Investigative Surgery, 2016, (29): 80-87
- [11] Rydell N, Balazs EA. Effect of intra-articular injection of hyaluronic acid on the clinical symptoms of osteoarthritis and on granulation tissue formation[J]. ClinOrthopRelat Res, 1971, 80: 25-32
- [12] Kim, DeokYeol, Namgoong, et al. Optimal Viscosity and Particle Shape of Hyaluronic Acid Filler as a Scaffold for Human Fibroblasts [J]. Journal of Craniofacial Surgery, 2015, 26(5): 1534-1538
- [13] Li L, Wang N, Jin X, et al. Biodegradable and injectable in situ cross-linking chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for postoperative adhesion prevention[J]. Biomaterials, 2014, 35(12): 3903-3917
- [14] Yang M, Rao Y Y, Jiang X H, et al. Efficacy and Safety of Hyaluronic Acid in Preventing Postoperative Abdominopelvic Adhesions Meta-Analysis [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2013, 48 (17): 1489-1492
- [15] FanHua, LiJian. In 90 cases of medical using sodium hyaluronate in the preventing the adhesion after thyroid surgery [J]. Public Medical Forum Magazine, 2015, (7): 871-872
- [16] 喻祖胜. 医用透明质酸钠在甲状腺手术中的应用 [J]. 浙江临床医学, 2014, (2): 222-223
- Yu Zu-sheng. Application of sodium hyaluronate in the operation of thyroid gland[J]. Zhejiang clinical medicine, 2014, (2): 222-223
- [17] Lu Wen-li, Pan Zhi-qiang, Fang Zhao-qin et al. Anatomy of the thyroid and parathyroid glands in mice[J]. Laboratory Animal and Comparative Medicine, 2009, 29(5): 310-312
- [18] Kunio Kawanishi, Masayuki Yamato. Peritoneal cell sheets composed of mesothelial cells and fibroblasts prevent intra-abdominal adhesion formation in a rat model[J]. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2016(10): 855-866
- [19] Yoo Seung Chung; Kyu Eun Lee; Hoon Yub Kim, et al. Anti-adhesive Effect and Safety of Sodium Hyaluronate and Sodium Carboxymethyl Cellulose Solution in Thyroid Surgery [J]. Asian Journal of Surgery, 2010, (01): 25-30
- [20] Ren Wei-hua. Effect of sodium hyaluronate on prevention of postoperative adhesion of thyroid gland [J]. Shanxi Medical Journal, 2013, (18): 1026-1027
- [21] Dong Sik Bae, Jung-Woo Woo1, Se Hyun Paek, et al. Antiadhesive effect and safety of sodium hyaluronate-carboxymethyl cellulose membrane in thyroid surgery [J]. Annals of Surgical Treatment and Research, 2013, (5): 199-204
- [22] 何金霞, 张俊德, 李虹义, 等. 新型微波天线热凝大鼠骨骼肌的变化[J]. 中国组织工程与临床康复, 2008,12(9): 1753-1756
- He Jin-xia, Zhang Jun-de, Li Hong-yi, et al. Rat skeletal muscle alterations after coagulation with novel microwave antenna[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research. 2008, 12 (9): 1753-1756

(上接第 2824 页)

- [13] 李超伦, 王敏晓, 程方平, 等. DNA 条形码及其在海洋浮游动物生态学中的应用[J]. 生物多样性, 2011, 19(6): 805-814
- Li Chao-lun, Wang Min-xiao, Cheng Fang-ping, et al. DNA barcoding and its application to marine zooplankton ecology[J]. Biodiversity Science, 2011, 19(6): 805-814
- [14] Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, et al. DNA barcoding Australia's fish species[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2005, 360(1462): 1847-1857
- [15] Lin X, Stur E, Ekrem T. Exploring Genetic Divergence in a Species-Rich Insect Genus Using 2790 DNA Barcodes[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0138993
- [16] Gonçalves PF, Oliveira-Marques AR, Matsumoto TE, et al. DNA Barcoding Identifies Illegal Parrot Trade[J]. J Hered, 2015, 106(Suppl 1): 560-564
- [17] Yang C, Xiao Z, Zou Y, et al. DNA barcoding revises a misidentification on musk deer[J]. Mitochondrial DNA, 2015, 26(4): 605-612
- [18] Bitanyi S, Bjørnstad G, Ernest EM, et al. Species identification of Tanzanian antelopes using DNA barcoding [J]. Mol Ecol Resour, 2011, 11(3): 442-449
- [19] 贾婷, 杨晓密, 李宗瀚, 等. 基于细胞色素 b 基因探讨昆明禄劝地区树鼩的分类意义[J]. 动物学杂志, 2008, 43(4): 26-33
- Jia Ting, Yang Xiao-mi, Li Zong-han, et al. Classified Significance of Tupaia belangeri from Luquan District, Kunming Based on Cyt b Gene Sequences[J]. Chinese Journal of Zoology, 2008, 43(4): 26-33
- [20] Meyer CP, Paulay G. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling[J]. PLoS Biol, 2005, 3(12): 2229-2238
- [21] Aliabadian M, Kaboli M, Nijman V, et al. Molecular identification of birds: performance of distance-based DNA barcoding in three genes to delimit parapatric species[J]. PLoS One, 2009, 4(1): 1-8