

The presence of *Helicobacter pylori* in gallbladder mucosa of patients with chronic cholecystitis

Kheirmand F*, Valadi F, Dolatshahi K

School of Medicine, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, I. R. Iran.

Received August 29, 2015; Accepted January 30, 2016

Abstract:

Background: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) has infected over half of the world's population. Among the long-term outcomes of *H. pylori* infection is gastric malignancies, particularly gastric cancer and gastric mucosa-associated tissue (MALT) lymphoma. In recent years, the attention has been drawn to the possible association of *H. pylori* infections not only with gastric and duodenal disorders but also with several gastrointestinal diseases (e.g. liver and biliary diseases). *H. pylori* have recently found to be associated with some diseases of the biliary tree. Earlier reports on the detection of *H. pylori* in the gallbladder mucosa of patients with biliary disease have shown contradictory results which requires further studies. The aim of this cross-sectional study was to determine the presence of *H. pylori* in gallbladder mucosa of patients with a diagnosis of chronic cholecystitis using histological study of surgical gallbladder specimens.

Materials and Methods: In the present study, gallbladder samples (total no=70) from patients with chronic cholecystitis were collected at Shariati hospital (Isfahan, Iran) from February to April 2015. Giemsa staining was used to detect *H. pylori* in gallbladder mucosa.

Results: Using Giemsa staining in 18 (25.7%) out of 70 patients gallbladder mucosa were positive for *H. pylori*. There was an association between the presence of *H. pylori* in the gallbladder mucosa and chronic cholecystitis. ($P<0.001$)

Conclusion: *H. pylori* can be detected in gallbladder mucosa of patients with chronic cholecystitis. Further studies are needed to support these findings.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Gallbladder tissue, Chronic cholecystitis

* Corresponding Author.

Email: farzadkheirmand@yahoo.com

Tel: 0098 913 315 7838

Fax: 0098 313 236 1591

Conflict of Interests: **No**

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2016; Vol. 20, No 5, Pages 454-460

Please cite this article as: Kheirmand F, Valadi F, Dolatshahi K. The presence of *Helicobacter pylori* in gallbladder mucosa of patients with chronic cholecystitis. *Feyz* 2016; 20(5): 454-60.

بررسی وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرا بیماران مبتلا به کوله سیستیت مزمن

فرزاد خیرمند^{۱*}، فهیمه ولدی^۱، کامران دولتشاهی^۲

خلاصه:

سابقه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری بیش از نیمی از مردم سراسر دنیا را آلوده کرده است. بدخیمی های معده به ویژه سرطان معده و سرطان بافت لنفاوی لایه مخاطی معده (MALT)، حاصل عفونت با هلیکوباکتر پیلوری است. در سال های اخیر توجه پژوهشگران به ارتباط احتمالی هلیکوباکتر پیلوری نه تنها با بیماری های معده و دوازدهه، بلکه با تعدادی از بیماری های دستگاه گوارش نظیر بیماری های کبدی و صفراوی جلب شده است. گزارشات اولیه مربوط به شناسایی این باکتری در مخاط کیسه صفرای بیماران مبتلا به بیماری های صفراوی نشان دهنده نتایج متناقض است. هدف این مطالعه مقطعی مشخص کردن وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرای بیماران مبتلا به کوله سیستیت مزمن از طریق بررسی هیستولوژیک نمونه های کیسه صفرای جراحی شده است.

مواد و روش ها: در مطالعه حاضر ۷۰ نمونه کیسه صفرای بیماران مبتلا به کوله سیستیت مزمن بستری در بیمارستان شریعتی اصفهان در بازه زمانی بهمن ۱۳۹۳ تا فروردین ۱۳۹۴ جمع آوری شد. برای شناسایی وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرا از روش رنگ-آمیزی گیمسا استفاده گردید.

نتایج: از مجموع ۷۰ نمونه مورد بررسی، مخاط کیسه صفرای ۱۸ بیمار که با روش گیمسا رنگ آمیزی شده بود، برای هلیکوباکتر پیلوری مثبت شد. ارتباط معنی داری بین وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرا و کوله سیستیت مزمن به دست آمد.

نتیجه گیری: هلیکوباکتر پیلوری می تواند در مخاط کیسه صفرای بیماران مبتلا به کوله سیستیت مزمن یافت شود. مطالعات بیشتری جهت تایید این داده ها نیاز است.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، مخاط کیسه صفرا، کوله سیستیت مزمن

دو ماه نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۵، صفحات ۴۶۰-۴۵۴

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری یک باسیل گرم منفی، مارپیچ یا خمیده، میکروآئروفیل و تاژک دار است که بیشتر در مخاط معده انسان یافت می شود. داشتن تاژک های فراوان و شکل مارپیچی به این باکتری اجازه حرکت آسان در لایه مخاطی معده و همچنین مهاجرت به قسمت های دیگر دستگاه گوارش را می دهد. عفونت هلیکوباکتر پیلوری یکی از عفونت های مزمن شایع در انسان است؛ به طوری که حدود ۵۰ درصد از جمعیت جهان به این باکتری آلوده می باشند و شیوع آن در کشورهای در حال توسعه نظیر ایران بیشتر از کشورهای توسعه یافته است [۱]. اگرچه ۸۰ درصد افرادی که به این باکتری آلوده هستند، بدون علامت اند [۲]، ولی رابطه آن با بیماری های دستگاه گوارش نظیر گاستریت مزمن، زخم پپتیک، سرطان بافت لنفاوی مخاط معده (MALT)، سرطان معده [۱] و فانکشنال دیس پپسی [۳]، ثابت شده است.

نتایج تحقیقات صورت گرفته نشان دهنده وجود هلیکوباکتر پیلوری در سیستم کبدی-صفراوی است [۴]. این باکتری در مایع صفراوی [۵،۲] و سنگ کیسه صفرا [۶] یافت شده است. عفونت هم زمان دستگاه گوارش و سیستم هپاتوبیلیاری با هلیکوباکتر پیلوری نیز مطرح شده است [۷]. هم چنین، بین هلیکوباکتر پیلوری و کوله-سیستیت مزمن علی الخصوص در نواحی با شیوع بالای این عفونت از قبیله آسیای جنوبی، آسیای شرقی و آمریکای لاتین رابطه مشاهده گردیده است [۸]. کوله سیستیت التهاب کیسه صفرا می-باشد که از شایع ترین بیماری های کیسه صفرا است و در جنس مونث شایع تر می باشد. کوله سیستیت می تواند به دو صورت حاد و مزمن بروز کند که نوع مزمن آن یک اختلال شایع سیستم گوارش می باشد و در اثر التهاب مزمن مخاط کیسه صفرا به علت سنگ یا عوامل دیگر بروز می کند، و ضمن تغییرات مخاطی، افزایش ضخامت جدار کیسه صفرا عارض می شود. حدود ۹۰ تا ۹۵ درصد از بیماران مبتلا به کوله سیستیت، دارای سنگ کیسه صفرا هستند و ۵ تا ۱۰ درصد آنها به علل دیگری از جمله تروما، سوختگی، عفونت، دیابت، بیماری قلبی و سندروم نقص ایمنی اکتسابی به کوله سیستیت مبتلا می شوند؛ با این حال هنوز علت کوله سیستیت مزمن ناشناخته باقی مانده است. به تازگی یافته هایی از مطالعات میکروسکوپیک پیشنهاد دهنده این مطلب می باشند که عفونت باکتریال در سیستم صفراوی می تواند ایفا کننده نقشی در این زمینه

^۱ دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

^۲ استادیار، دانشکده پزشکی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد

تلفن: ۰۹۱۳۳۱۵۷۸۳۸ | دورنویس: ۰۳۱۳۳۳۶۱۵۹۱

پست الکترونیک: farzadkheirmand@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۷ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۱۱/۱۰

باشد. همچنین، ۱۵ تا ۳۰ درصد بیمارانی که به علت کوله سیستیت تحت جراحی کوله سیستکتومی قرار گرفته اند، دارای کشت مثبت صفرا بوده اند که نشان دهنده این است که عامل التهاب کیسه صفرا می تواند چند عاملی باشد [۸-۱۰]. از آنجا که نقش کوله سیستیت مزمن به عنوان زمینه ساز آدنوکارسینوم کیسه صفرا به اثبات رسیده است [۱۱]، در تمام بیماران مبتلا به کوله سیستیت مزمن کوله سیستکتومی انجام می شود تا از ابتلا به آن جلوگیری شود. ژنوم باکتری های متفاوتی از بافت کارسینوم کیسه صفرا جدا شده اند. مطالعات اخیر نشان داده اند که در شرایط برون تنی هلیکوباکتر پیلوری می تواند به سلول های اپی تلیال کیسه صفرا آسیب برساند و به عنوان یک فاکتور کلیدی در ایجاد کوله سیستیت نقش داشته باشد. مطالعات اخیر وجود هلیکوباکتر پیلوری را در بافت کیسه صفرا و مایع صفراوی نشان داده اند و اینکه این باکتری می تواند یک ریسک فاکتور برای ایجاد سنگ صفراوی باشد. همچنین، این باکتری از کیسه صفراوی ملتهب و آدنوکارسینومای کیسه صفرا و کارسینوما مجرای صفراوی جدا شده است [۱۲]. نقش هلیکوباکتر پیلوری در پاتوژنز بیماری های کیسه صفرا در انسان و یا حتی وجود آن در بافت کیسه صفرا، هنوز نامشخص است، اما بسیاری از محققان وجود هلیکوباکتر پیلوری را در بیماران مبتلا به کوله سیستیت همراه سنگ صفراوی شرح داده اند [۵]. در برخی مطالعات رابطه ای بین بیماری های کیسه صفرا و گونه های مختلف هلیکوباکتر پیلوری یافت نشده است [۱۳، ۴]. و در برخی دیگر وجود هلیکوباکتر پیلوری در مایع صفراوی و کیسه صفرا در بیش از ۷۵ درصد بیمارانی که به علت التهاب مزمن کیسه صفرا تحت جراحی قرار گرفته بودند، نشان داده شده است [۵]. کلونیزاسیون باکتری ها در بافت نقش مهمی در سلامتی انسان ها و بیماری ها دارد که این نقش به طور واضح در تاثیر هلیکوباکتر پیلوری بر زخم پپتیک مشهود است. در یک مطالعه نشان داده شده است که ۵۸ درصد بیمارانی که به اختلالات کیسه صفرا دچار هستند، هم زمان به گاستریت مزمن نیز مبتلا می باشند [۱۴]. در اینجا این سوال مطرح می شود که کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری می تواند مشابه گاستریت مزمن در ایجاد کوله سیستیت مزمن نقش داشته باشد یا خیر؟ مطالعه حاضر با هدف پاسخ دادن به این سوال طراحی شده است.

مواد و روش ها

این مطالعه مقطعی در بازه زمانی بهمن ۱۳۹۳ تا فروردین ۱۳۹۴ در بیمارستان دکتر علی شریعتی اصفهان روی ۷۰ نمونه کیسه صفراوی بیماران مبتلا به تشخیص کوله سیستیت مزمن که

تحت عمل کوله سیستکتومی قرار گرفته بودند، انجام شد. بیماران دارای کوله سیستیت حاد، کلانژیت، تومور و بیمارانی که در گذشته با آنتی بیوتیک و مهار کننده پمپ پروتون تحت درمان قرار گرفته بودند، از مطالعه حذف شدند. ابتدا مشخصات بیماران از نظر سن، جنس و علائم بالینی ثبت می شد، سپس نمونه های کیسه صفرا که با تشخیص بالینی و پاراکلینیکی کوله سیستیت مزمن جراحی شده بودند، به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد قرار می گرفت تا کاملاً تثبیت شوند. در مرحله بعد کیسه صفرا باز شده و برش های کوچکی از گردن، تنه و فوندوس تهیه می گردید و بعد از انجام مراحل آماده سازی بافت با دستگاه میکروتوم برش های کوچکی با قطر ۵ میکرون تهیه می شد. و پس از قرار دادن لامل روی لام و ثابت کردن آنها با همتوکسیلین-اوتوزین و سپس رنگ آمیزی گیمسا، در زیر میکروسکوپ بررسی می گردید. رنگ آمیزی همتوکسیلین-اوتوزین جهت بررسی بافت شناسی و رنگ آمیزی گیمسا جهت بررسی هلیکوباکتر پیلوری انجام گرفت. در بررسی میکروسکوپی، لام های رنگ آمیزی شده با بزرگنمایی حداکثر ۴۰ و یا ۱۰۰ از نظر وجود یا عدم وجود هلیکوباکتر پیلوری توسط پاتو-لوژیست مجرب مورد مطالعه قرار گرفتند. مقاطع میکروسکوپی قبل از اینکه از نظر وجود هلیکوباکتر پیلوری منفی گزارش شوند، حداقل ۵ دقیقه دقیقاً جستجو شدند. مشاهده یا عدم مشاهده باسیل گرم منفی، مارپیچ یا خمیده (هلیکوباکتر پیلوری) با رنگ آمیزی گیمسا به عنوان استاندارد طلایی تلقی شد (تصویر شماره ۱). اطلاعات جمع آوری شده از روش هیستوپاتولوژی همتوکسیلین-اوتوزین و گیمسا با استفاده از آمار توصیفی و با به کارگیری نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۹ و آزمون مجذور کای تجزیه و تحلیل گردید. $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه ۷۰ بیمار مبتلا به کوله سیستیت مزمن مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی افراد ۴۳ سال بود و از این تعداد ۱۱ نفر مرد (۱۵/۷۱ درصد) و ۵۹ نفر زن (۸۴/۲۸ درصد) با حداقل سن ۲۴ و حداکثر سن ۹۳ سال بودند (جدول شماره ۱). تمام بیماران بررسی شده علائم دل درد و تهوع داشتند. از ۷۰ بیمار بررسی شده که تحت عمل کوله سیستکتومی قرار گرفتند، نتایج بررسی نمونه های رنگ آمیزی شده با گیمسا از نظر وجود هلیکوباکتر پیلوری در ۱۸ نفر (۲۵/۷ درصد) مثبت و در ۵۲ نفر (۷۴/۳ درصد) منفی بود. در جدول شماره ۴ نتایج مقایسه پاسخ ها بین وجود هلیکوباکتر پیلوری و یا عدم وجود آن در مخاط کیسه

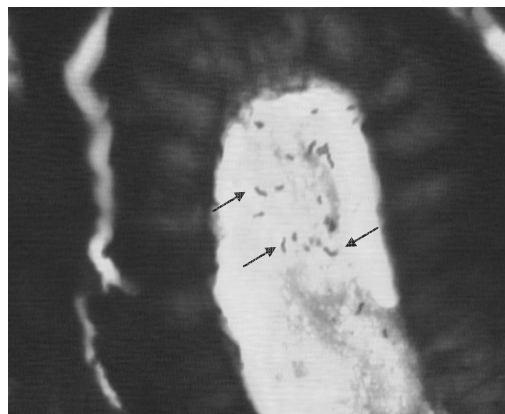
جدول شماره ۵- مقایسه پاسخ‌ها بین وجود هلیکوباکتر پیلوری و یا عدم وجود آن در مخاط کیسه صفرا مبتلایان به کوله سیستیت مزمن به تفکیک جنس

هلیکوباکتر پیلوری	مرد	زن	جمع
مثبت	۱ (۹/۱)	۱۷ (۲۸/۸)	۱۸ (۲۵/۷)
منفی	۱۰ (۹۰/۹)	۴۲ (۷۱/۲)	۵۲ (۷۴/۳)
جمع	۱۱ (۱۵/۷)	۵۹ (۸۴/۳)	۷۰ (۱۰۰)
PV		۰/۲۶	
OR		۴/۰۴	
CI	۳۴/۱		۰/۴۸

بحث

این مطالعه مقطعی با هدف بررسی وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرا ۷۰ بیمار مبتلا به کوله سیستیت مزمن انجام گردید. میزان وجود این باکتری در کیسه صفرا بیماران مبتلا به کوله سیستیت مزمن ۲۵/۷ درصد به دست آمد که بر این اساس فرض برابری نسبت وجود و عدم وجود هلیکوباکتر پیلوری مطرح می‌شود. در مطالعه Moricz و همکاران که هم‌چون مطالعه حاضر از روش گیمسا استفاده شد نیز درصد مشابهی به دست آمده است. در این مطالعه اعلام شد که ۲۷/۹ درصد بیماران کوله سیستیت مزمن از نظر وجود هلیکوباکتر مثبت می‌باشند [۱۵]. در مطالعه Arismendi-Morillo و همکاران نیز که در اسپانیا انجام شد، برای بررسی وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرا ۶۸ بیمار از روش گیمسا استفاده شد و تنها ۶ درصد بیماران از لحاظ هلیکوباکتر مثبت گردیدند [۱۶]. برخلاف تحقیقات فوق، در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۱ در تهران توسط فروغی و همکاران روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به کوله سیستیت مزمن و با روش گیمسا و همتاکسیلین-انوزین انجام گردید، در هیچ‌یک از نمونه‌ها باکتری هلیکوباکتر پیلوری یافت نشد [۱۷]. تخمین زده می‌شود ۹۰-۷۰ درصد جمعیت کشورهای در حال توسعه حامل باکتری هلیکوباکتر پیلوری باشند، در حالی که تنها ۵۰-۲۵ درصد جمعیت کشورهای توسعه یافته ناقل هستند و علت این تفاوت می‌تواند بهداشت و کیفیت پایین زندگی در کشورهای در حال توسعه باشد [۱۸]. در مطالعه‌ای در ایران شیوع عفونت در بالغین حدود ۹۰ درصد ذکر شده است [۱۹]. پس با توجه به شیوع متفاوت این باکتری در کشورهای توسعه یافته در مقایسه با کشورهای در حال توسعه نظیر ایران، لزوم انجام این مطالعه توجه می‌شود. از زمان کشف هلیکوباکتر پیلوری، روش‌های گوناگونی با هدف شناسایی این ارگانیسم ابداع شده است. این روش‌ها شامل متدهای تهاجمی نظیر کشت، بررسی هیستولوژیک و تست اوره‌آز سریع و

صفرا مبتلایان به کوله سیستیت مزمن آورده شده است. جدول شماره ۵ نیز بیان‌گر همین مطلب به تفکیک جنس می‌باشد.



شکل شماره ۱- ارگانیسم ماریچ یا خمیده هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرا رنگ آمیزی شده با گیمسا (بزرگنمایی ۴۰×)

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار سن برای زنان

سن	هلیکوباکتر پیلوری منفی	هلیکوباکتر پیلوری مثبت
میانگین	۴۴/۰۲	۴۴/۱۶
انحراف معیار	۱۷/۶۸	۱۵/۱۵
آماره	-۰/۰۲۹	
P	۰/۹۷۷	

جدول شماره ۲- میانگین و انحراف معیار سن برای مردان

سن	هلیکوباکتر پیلوری منفی	هلیکوباکتر پیلوری مثبت
میانگین	۴۸/۷۵	-
انحراف معیار	۱۹/۹۵	-

جدول شماره ۳- میانگین و انحراف معیار سن در مجموع زنان و مردان

سن	هلیکوباکتر پیلوری منفی	هلیکوباکتر پیلوری مثبت
میانگین	۴۵/۱۱	۴۴/۱۶
انحراف معیار	۱۸/۱۳	۱۵/۱۵
آماره	۰/۱۹۹	
P	۰/۸۴۳	

جدول شماره ۴- مقایسه پاسخ‌ها بین وجود هلیکوباکتر پیلوری و یا عدم وجود آن در مخاط کیسه صفرا مبتلایان به کوله سیستیت مزمن

متغیر	عدم وجود باکتری	وجود باکتری
هلیکوباکتر پیلوری	۵۲ (۷۴/۳)	۱۸ (۲۵/۷)
در مخاط کیسه صفرا		
P	۰/۰۰۱	

iNOS (inducible ROS (Reactive oxygen species) NO Synthase) و RNS (Reactive nitrogen species) را در ایجاد التهاب‌های خوش‌خیم و بدخیم در بیماری‌های کیسه صفرا دخیل می‌دانند. هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند استرس اکسید-اتیو را از طریق تولید ROS و RNS القا کند که این می‌تواند عامل مهم التهاب، زخم و سرطانی شدن معده باشد؛ به‌طوری‌که بین ROS و آسیب مخاط معده یک رابطه مستقیم وجود دارد. در گاستریت مرتبط با عفونت هلیکوباکتر پیلوری منبع تولید ROS/RNS می‌تواند شامل نوتروفیل‌ها، سلول‌های اندوتلیال عروقی، سلول‌های موکوس معده و خود هلیکوباکتر پیلوری باشد. یکی از مهم‌ترین مسیرهایی که این باکتری تولید RNS را القا می‌کند، تولید بیش از حد نیتریک اکسید از طریق بیان بیش از حد iNOS است. همچنین، هلیکوباکتر پیلوری حساسیت سلول‌های اپی‌تلیال معده به آسیب ناشی از ROS/RNS را افزایش می‌دهد. در گاستریت مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری سلول‌های اپی‌تلیال در دفاع از خود در برابر ROS/RNS ناتوان می‌شوند. بنابراین، گفته می‌شود در ایجاد التهاب‌های خوش‌خیم و بدخیم در بیماری‌های کیسه صفرا، هلیکوباکتر پیلوری با القا تولید ROS و RNS می‌تواند نقش مهمی را ایفا کند [۲۸، ۲۷]. کلونیزاسیون باکتری‌ها در بافت نقش مهمی در سلامتی انسان‌ها و بیماری‌ها دارد که این نقش به‌طور واضح در تاثیر هلیکوباکتر پیلوری بر زخم پپتیک مشهود است. در یک مطالعه‌ای نشان داده شده است که ۵۸ درصد بیماران که به اختلالات کیسه صفرا دچار هستند، هم‌زمان به گاستریت نیز مبتلا می‌باشند [۱۴].

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان‌دهنده ارتباط معنی‌داری بین وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط کیسه صفرا و کوله سیستیت مزمن می‌باشد. با توجه به اینکه سالانه هزاران مورد کوله سیستکومی جهت جلوگیری از سرطان کیسه صفرا انجام می‌شود، می‌توان با اثبات رابطه بین هلیکوباکتر پیلوری و کوله سیستیت مزمن و با درمان دارویی آن، از انجام این تعداد جراحی پیشگیری به‌عمل آورد. پیشنهاد می‌شود انجام مطالعات بیشتر با تکنیک‌های شناسایی دیگر هلیکوباکتر پیلوری و با حجم نمونه گسترده‌تر انجام گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این مطالعه ما را یاری رسانده‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

غیرتهاجمی نظیر سرولوژی، تست اوره تنفسی و تست آنتیژن مدفوع می‌باشد. از میان روش‌های گفته شده، بررسی هیستولوژیک یکی از مفیدترین تست‌ها برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد. از جمله روش‌های هیستولوژیک می‌توان به رنگ-آمیزی گیمسا و همتاکسیلین-ائوزین اشاره نمود که روش رنگ-آمیزی گیمسا به‌خاطر خصوصیتی هم‌چون کم‌هزینه و آسان بودن و داشتن ویژگی ۹۰-۱۰۰ درصد (نسبت به روش همتاکسیلین-ائوزین با ویژگی ۹۰-۸۷ درصد) روشی ارجح می‌باشد [۲۰]. بنابراین، با توجه به میزان بالای اختصاصی بودن رنگ‌آمیزی گیمسا در این مطالعه از این روش استفاده گردید. در مطالعه Boldt و همکاران نیز برتر بودن رنگ‌آمیزی گیمسا نسبت به رنگ‌آمیزی همتاکسیلین ائوزین ثابت شده است [۲۱]. همچنین، نشان داده شده است که برای شناسایی هلیکوباکتر پیلوری حساسیت روش-های رنگ‌آمیزی هیستولوژیک از رنگ‌آمیزی گرم و PCR بیشتر است [۲۲]. هلیکوباکتر پیلوری با پاتوژن بیماری‌های کبدی-صفراوی مثل کلانژیت اسکروزان اولیه، سیروز صفراوی اولیه [۲۳، ۲۴]، هپاتوسلولار کارسینوما [۲۵]، سرطان اولیه کبد [۸] و بیماری‌های مزمن صفراوی مثل کوله‌لیتیاژیس [۲۶]، کارسینوم کیسه صفرا و کارسینوم درخت صفراوی [۲۷] در ارتباط است. همچنین، بسیاری از محققان وجود هلیکوباکتر پیلوری را در بیماران مبتلا به کوله سیستیت همراه با سنگ صفراوی شرح داده‌اند [۵]. در برخی مطالعات رابطه‌ای بین بیماری‌های کیسه صفرا و گونه‌های مختلف هلیکوباکتر پیلوری یافت نشده است [۱۳، ۴]. و در برخی دیگر وجود هلیکوباکتر پیلوری در مایع صفراوی و کیسه صفرا در بیش از ۷۵ درصد بیماران که به‌علت التهاب مزمن کیسه صفرا تحت جراحی قرار گرفته بودند، نشان داده شده است [۵]. این باکتری می‌تواند مستقیماً از راه معده و اسفنکتر ادی یا از طریق خون خود را به کیسه صفرا رسانده و در محیط با pH بالای کیسه صفرا کلونیزه شود [۲۰]. این باکتری در غیاب آنتی‌بیوتیک‌تراپی در تمام طول عمر فرد می‌تواند در سلول‌های اپی‌تلیال کیسه صفرا کلونیزه شود. هلیکوباکتر پیلوری اینفیلتراسیون نوتروفیل‌ها، ماکرو-فاژها و لنفوسیت‌های B و T در مخاط صفراوی را تحریک می‌کند و باعث شکل‌گیری یک پاسخ التهابی می‌شود که این پاسخ می‌تواند باعث تحریک پرولیفراسیون سلول‌های اپی‌تلیال کیسه صفرا و القا آپوپتوزیس در آنها شده و سبب التهاب مزمن کیسه صفرا گردد. ایجاد یک پاسخ التهابی مزمن می‌تواند دلیل قانع‌کننده‌ای برای کارسینوژن بودن این باکتری باشد. ضمن اینکه سازمان بهداشت جهانی (WHO) نیز این باکتری را جزو گروه اول کارسینوژن‌ها طبقه‌بندی کرده است [۲۹، ۲۸]. تحقیقات دیگر، نقش

References:

- [1] Peura DA, Crowe SE. *Helicobacter pylori*. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, editors. *Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management*. 9th ed. Canada: Saunders an important of Elsevier Inc; 2010. p. 833-43.
- [2] Abdul-nabi HM, Elkatib WA, Al-khafaji AJN, Abdulameer E. Gallbladder Colonization by *H. Pylori* in Patients with Symptomatic Gallstones Disease. *Med J Babylon* 2013; 10(3): 761-69.
- [3] Mirbagheri SA, Khajavirad N, Rakhshani N, Ostovaneh MR, Eshagh Hoseini SM, Hoseini V. Impact of *Helicobacter pylori* Infection and Microscopic Duodenal Histopathological Changes on Clinical Symptoms of Patients with Functional Dyspepsia. *Dig Dis Sci* 2012; 57(4): 967-72.
- [4] Yucebilgili K, Mehmetoglu T, Gucin Z, Salih BA. *Helicobacter pylori* DNA in gallbladder tissue of patients with cholelithiasis and cholecystitis. *J Infect Dev Ctries* 2009; 3(11): 856-9.
- [5] Fikry AA, Kassem AA, Shahin D, Shabana HAS, Mostafa S. *Helicobacter pylori* infection in patients with chronic calcular cholecystitis a cross-sectional study. *J Surgery* 2014; 2(4): 58-62.
- [6] Takahashi Y, Yamamichi N, Shimamoto T, Mochizuki S, Fujishiro M, Takeuchi C, et al. *Helicobacter pylori* infection is positively associated with gallstones: a large-scale cross-sectional study in Japan. *J Gastroenterol* 2014; 49(5): 882-9.
- [7] Neri V, Margiotta M, Francesco VD, Ambrosi A, Valle ND, Fersini A, et al. DNA sequences and proteic antigens of *H. pylori* in cholecystic bile and tissue of patients with gallstones. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22(8): 715-20.
- [8] Fukuda K, Kuroki T, Tajima Y, Tsuneoka N, Kitajima T, Matsuzaki S, et al. Comparative analysis of *Helicobacter* DNAs and biliary pathology in patients with and without hepatobiliary cancer. *Carcinogenesis* 2002; 23(11): 1927-31.
- [9] Villegas L, Pappas TN. Operative Management of Cholecystitis and Cholelithiasis. In: Yeo CJ, editor. *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract*. 7th ed. China: Elsevier Saunders; 2013. p. 1315-25.
- [10] Khalaji N, Abdullahzade N, Poourghassem J, Maleki M. The relationship between age, sex and location of the patients and the outbreak of acute and chronic cholecystitis in patients operated in Imam Khomeini hospital of Urimia. *J Urimia Nurs Midwifery Fac* 2014; 11(11): 884-91. [in Persian]
- [11] Crawford JM, Liu C. *Liver and Biliary Tract*. In: Kumar V. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. 8th ed. China: Saunders Elsevier; 2010. p. 833-90.
- [12] Karagin PH, Stenram U, Wadstrom T, Ljungh A. *Helicobacter* species and common gut bacterial DNA in gallbladder with cholecystitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16(38): 4817-22.
- [13] Jahani Sherafat S, Tajeddin E, Reza Seyyed Majidi MR, Vaziri F, Alebouyeh M, Mohammad Alizadeh AH, et al. Lack of Association between *Helicobacter pylori* Infection and Biliary Tract Diseases. *Polish J Microbiol* 2012; 61(4): 319-22.
- [14] Sabbaghian MS, Ranaudo J, Zeng L, Alongi AP, Perez-Perez G, Shamamian P. Identification of *Helicobacter* spp. In bile and gallbladder tissue of patients with symptomatic gallbladder disease. *HPB (Oxford)* 2010; 12(2): 129-33.
- [15] Moricz Ad, Melo M, Castro AM, Campos TD, Silva RA, Pacheco AM Jr. Prevalence of *Helicobacter* spp in chronic cholecystitis and correlation with changes on the histological pattern of the gallbladder. *Acta Cir Bras* 2012; 25(3): 218-24.
- [16] Arismendi-Morillo G, Cardozo-Ramones V, Torres-Nava G, Romero-Amaro Z. Histopathological study of the presence of *Helicobacter pylori*-type bacteria in surgical specimens from patients with chronic cholecystitis. *Gastroenterol Hepatol* 2011; 34(7): 449-53.
- [17] Hashemi F, Alamdar S. Correlation between *Helicobacter pylori* and Chronic Cholecystitis in Gallbladder Specimens. *Razi J Med Sci* 2002; 9(31): 623-8. [in Persian]
- [18] Bahrami AR, Rahimi E, Safaei HG. Detection of *Helicobacter pylori* in City Water, Dental Units' Water, and Bottled Mineral Water in Isfahan, Iran. *ScientificWorldJournal* 2013; 2013: 280510.
- [19] Hosseini E, Poursina F, Van de wile T, Safaei HG, Adibi P. *Helicobacter pylori* in Iran: A systematic review on the association of genotypes and gastroduodenal diseases. *J Res Med Sci* 2012; 17(3): 280-92.
- [20] Lee JY, Kim N. Diagnosis of *Helicobacter pylori* by invasive test: histology. *Ann Transl Med* 2015; 3(1): 10.
- [21] Boldt MS, Pereira RD, Barbosa JA. Histological identification of *H.pylori* stained by hematoxylin-eosin and Giemsa: review for quality control. *J Bras Patol Med Lab* 2015; 51(2): 108-12.
- [22] Pandya HB, Patel JS, Agravat HH, Patel SB, Thakkar MC. Identification of *Helicobacter pylori* by different conventional staining techniques and its comparison with polymerase chain reaction. *Saudi Med J* 2013; 34(9): 942-8.
- [23] Boomkens SY, de Rave S, Pot RG, Egberink HF, Penning LC, Rothuizen J, et al. The role of *Helicobacter* spp. In the pathogenesis of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 44(2): 221-5.
- [24] Krasinskas AM, Yao A, Randhawa P, Dore MP, Sepulveda AR. *Helicobacter pylori* May Play a Contributory Role in the Pathogenesis of Primary

Sclerosing Cholangitis. *Dig Dis Sci* 2007; 52(9): 2265-70.

[25] Leone N, Pellicano R, Brunello F, Cutufia MA, Berrutti M, Fagoonee S, et al. Helicobacter pylori seroprevalence in patients with cirrhosis of the liver and hepatocellular carcinoma. *Cancer Detect Prev* 2003; 27(6): 494-7.

[26] Takahashi Y, Yamamichi N, Shimamoto T, Mochizuki S, Fujishiro M, Takeuchi C, et al. Helicobacter pylori infection is positively associated with gallstones: a large-scale cross-sectional study in Japan. *J Gastroenterol* 2014; 49(5): 882-9.

[27] Bulajic M, Maisonneuve P, Schneider-Brachert W, Muller P, Reischl U, Stimec B, et al.

Helicobacter pylori and the Risk of Benign and Malignant Biliary Tract Disease. *Cancer* 2002; 95(9): 1946-53.

[28] Xu X, Sun Q, Liu Z, Zhang L, Luo Z, Xia Y, et al. The correlation between the malignant proliferation on cholangiocarcinoma cell lines and in bile from Helicobacter pylori infected patients with biliary tract stones. *J Toxicol Environ Health Sci* 2010; 2(2): 17-23.

[29] Smoot DT, Elliott TB, Verspaget HW, Jones D, Allen CR, Vernon KG, et al. Influence of Helicobacter pylori on reactive oxygen-induced gastric epithelial cell injury. *Carcinogenesis* 2000; 21(11): 2091-5.