

文章编号:1005-6947(2005)08-0618-03

· 简要论著 ·

胆固醇结石患者胆道系统幽门螺杆菌研究

顾建平¹, 黄桂余¹, 徐子平¹, 丁军彬¹, 肖立俊¹, 曹亦鸥¹, 姜志宏², 蔡劭², 田志杰², 蒋兆彦², 韩天权², 张圣道²

(1. 上海市瑞金医院集团闵行医院 外科, 上海 201100; 2. 上海第二医科大学附属瑞金医院 外科, 200025)

摘要:为探讨胆固醇结石病与幽门螺杆菌的关系。笔者对23例胆囊胆固醇结石患者及7例对照者进行C¹³呼气试验和血清幽门螺杆菌IgG抗体检测。胆汁和胆囊黏膜标本接种于微需氧和厌氧培养基培养。采用巢式多聚酶链反应(PCR)技术扩增幽门螺杆菌特异的Ure A基因。结果示胆固醇结石组C¹³呼气试验阳性5例,占21.74%(5/23),对照组1例,占14.29%(1/7),两组间差异无显著性($P > 0.05$)。胆固醇结石组血清幽门螺杆菌IgG抗体平均含量(63.49 ± 26.81) U/mL,高于对照组的(43.37 ± 32.99) U/mL,但差异无显著性($P > 0.05$)。两组幽门螺杆菌培养和PCR检测结果均为阴性。本研究未在胆固醇结石病标本中检测到幽门螺杆菌,两者的关系不能确定。

关键词:胆结石/化学;胆固醇;螺杆菌,幽门

中图分类号:R575.62; Q548.1

文献标识码:B

有人在肝胆系统检测到类似幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)的螺杆菌基因序列^[1,2]。为此,笔者采用细菌培养结合巢式多聚酶链反应(PCR)的方法对胆固醇结石患者进行幽门螺杆菌检测,以探讨HP与胆石症的关系,报告如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料

胆囊胆固醇结石组(胆石组)标本取自2002年8月~2003年12月行胆囊切除术的症状性结石患者23例,均为胆囊胆固醇结石(胆石经剖面观察及成分测定,胆固醇含量>70%)。女18例,男5例。对照组为7例同期行胆囊切除术患者(5例胆囊息肉,2例胆囊胆固醇结晶)。所有病例经肝、肾、内分泌等器官功能检查均正常,术前3d未使用抗生素。两组术前进行C¹³呼气试验并抽取静脉血用作测定血清幽门螺杆菌IgG抗体。两组于手术室分别无菌采集胆囊结石、胆囊黏膜和胆汁标本,

同时将胆汁和胆囊黏膜行厌氧和微需氧培养接种。

1.2 细菌培养及血清幽门螺杆菌IgG抗体测定

血清Hp的IgG抗体含量测定采用酶联免疫吸附(ELISA)法,试剂盒购自美国Biocheck公司(Cat No. BC-1052)。

1.3 胆汁成分测定及胆固醇饱和指数计算

胆汁标本经氯仿-甲醇(2:1, v/v)抽提后测定胆固醇和磷脂。参照胆固醇试剂盒(上海科华-东菱诊断用品有限公司)测定胆固醇,采用无机磷法测定磷脂。采用总胆汁酸试剂盒(Randox公司,英国)测定胆汁酸。根据Carey表格^[3]计算胆固醇饱和指数。

1.4 胆汁、胆石及胆囊黏膜巢式PCR法检测Hp的DNA

从胆汁、胆石及胆囊黏膜中提取DNA。根据Harada等^[4]报道采用巢式PCR检测Hp特异性的Ure A基因片段。引物序列如下:第一轮反应,U1为GCC ATT GGT AAA TTA GTT CC;U2为TTA CTC CTT AAT TGT TTT TAC。第二轮反应,U3为TTC TTT GAA TGT AAT AGA TGC;U4为ATA GTT GTC ATC GCT TTT AGC。第二轮反应结束取PCR产物10 μ L于1%琼脂糖凝胶电泳鉴定结果。

收稿日期:2005-03-31; 修订日期:2005-05-21。

作者简介:顾建平(1965-),男,上海人,上海市瑞金医院集团闵行医院副主任医师,主要从事肝胆外科方面的研究。

通讯作者:顾建平 电话:13801713656(手机); E-mail: jianping-gu@sohu.com。

1.5 统计学处理

采用 SAS 6.12 软件进行统计。计量资料行 t 检验,计数资料行卡方检验。

2 结果

2.1 一般情况及胆汁成分分析

胆石组年龄和体重指数均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。胆石组胆汁中胆固醇含量 (CSI) 升高,胆汁胆固醇过饱和,但与对照组比较,差异不具统计学意义 ($P > 0.05$) (附表)。

附表 一般情况及胆汁成分分析

指标	对照组	胆石组	P 值
年龄(岁)	39.00 ± 9.36	49.30 ± 9.98	<0.05
体重指数(kg/m ²)	22.09 ± 3.32	25.26 ± 3.43	<0.05
胆汁胆固醇(%)	6.58 ± 1.64	7.32 ± 3.59	>0.05
胆汁胆汁酸(%)	69.58 ± 3.18	72.16 ± 8.94	>0.05
胆汁磷脂(%)	23.84 ± 3.32	20.52 ± 7.09	>0.05
胆汁总脂质(g/dL)	108.9 ± 31.3	87.7 ± 43.5	>0.05
胆汁 CSI	0.89 ± 0.26	1.15 ± 0.49	>0.05

2.2 C¹³呼气试验及血清 Hp 的 Ig G 抗体测定

胆石组 C¹³呼气试验阳性 5 例,阳性率 21.74% (5/23),对照组为 1 例(胆囊息肉患者),阳性率为 14.29% (1/7),两组差异无显著性 ($P > 0.05$)。胆石组血清 Hp 的 IgG 抗体平均含量为 (63.49 ± 26.81) U/mL,高于对照组的 (43.37 ± 32.99) U/mL,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 胆汁及胆囊黏膜细菌培养结果

胆石组和对照组胆汁及胆囊黏膜经微需氧和厌氧培养,报告均为“未发现螺杆菌属细菌生长”。

2.4 Hp 的 DNA 测定

胆石组和对照组所有病例的 Hp DNA 检测均为阴性。

3 讨论

长期以来认为,胆固醇发生与胆汁胆固醇过饱和、胆汁成核加速和胆囊收缩功能异常有关^[5]。近年利用分子生物学技术在胆固醇结石中检测到细菌 DNA^[1]。Lee 等^[6]检测了不同类型的胆石,发现混合性结石中 88% 含有细菌 DNA,且纯胆固醇结

石(胆固醇含量 > 95%)含细菌比率占 14%。这说明胆石发生可能与细菌有关。

Hp 是一种革兰阴性染色的微需氧菌,其在口腔至结肠的黏膜内大量长期或暂时存在。该菌种如经十二指肠乳头逆行而上,可进入胆道。此事实已引起学者们的兴趣^[7]。Figura 等^[8]对 112 例胆石患者测定 Hp 感染率为 82%,在 23 例感染者中 15 例(65%)胆汁中存在抗 Hp 抗体,提示胆石症可能与 Hp 感染有关。本文对 23 例胆固醇结石病进行 C¹³呼气试验显示,其中感染率为 21.74%,对照组仅 1 例感染。同时,胆固醇结石患者血清 Hp 的 IgG 抗体高于对照组 ($P > 0.05$)。这表明,部分胆石患者存在着 Hp 感染,这就增加了 Hp 经十二指肠乳头逆行进入胆道的机会。

Fox 等^[2]对慢性胆囊炎患者胆汁和胆囊黏膜进行 Hp 检测,培养结果均为阴性。他们进一步采用螺杆菌属的 16S rRNA 通用引物进行 PCR 测定,发现 56.5% (13/23) 的胆汁和 39.1% (9/23) 的胆囊黏膜 PCR 结果阳性。由于对胆汁进行低温保存,可能影响 Hp 外存活,培养呈阴性。为了避免这种影响,笔者采取直接手术床边接种而省却了低温保存的过程,但培养结果也显示 Hp 阴性,采用特异性的基因 PCR 检测也为阴性。说明采用现有检测方法,本组胆固醇结石患者胆道无幽门螺杆菌。

Fox 等^[2]采用螺杆菌属的通用引物,所检测到的阳性结果可能为非幽门螺杆菌,序列分析显示它们为 *F. rappini*, *H. bilis* 和 *H. pullorum* 等。最近,田志杰等^[9]报道在 44 例胆囊结石患者的胆石、胆汁和胆囊黏膜中 Hp 阳性率分别为 4.55%, 38.24% 和 79.55%。对这些阳性的 16S rRNA 基因产物序列测定发现,仅 1 例和 Hp 基因序列具有较高的同源性,其余均为非幽门螺杆菌。此外, Mendez-Sanchez 等^[10]采用免疫组织化学法测定 95 例胆囊结石患者胆囊黏膜的 Hp,仅 1 例为阳性;对其中 32 例胆囊黏膜进行 PCR 检测,阳性者仅 1 例。本研究所有病例经 PCR 检测幽门螺杆菌基因均为阴性。本组例数较少,因此,本研究对于 Hp 和胆固醇结石病发生的关系尚缺乏有力的证据加以确定。至于其他螺杆菌属细菌,笔者未采用特异性的方法进行检测,尚不能排除它们参与成石的可能,有待研究证实。

文章编号:1005-6947(2005)08-0620-03

· 简要论著 ·

低压 CO₂ 气腹下老年患者行腹腔镜胆囊切除术对肺功能的影响

刘琰¹, 倪勇², 王成友², 张敏杰², 黄文坚², 杨新平³

(广东省深圳市第二人民医院 1. RICU 2. 肝胆外科 3. 麻醉科, 广州 深圳 518035)

摘要:探讨低压 CO₂ 气腹条件下对老年患者进行腹腔镜胆囊切除术(LC)肺功能的影响及临床应用价值。对 40 例老年胆囊结石并胆囊炎患者随机分为低压气腹(A)组和常压气腹(B)组,分别建立 10mmHg 和 15mmHg 气腹后开展 LC,检测术前及术后 24h 肺功能及动脉血气分析。结果显示:(1)两组患者均较顺利完成手术。(2)术后 24h 时,两组患者肺功能检查示肺活量、用力肺活量、1 秒率、呼气流速峰值及最大分钟通气量(MVV)均显著低于术前 24h 时($P < 0.01$, $P < 0.05$)。(3)术前及术后 24h 时,除 A 组手术前后 MVV 差值显著高于 B 组外($P < 0.05$),其他指标的差值均无显著性差异。(4)动脉血 pH, PaO₂ 及 PaCO₂ 在手术前后及两组间均无显著性差异。提示低压 CO₂ 气腹条件下行 LC 可能改善老年患者肺功能,但这种改善作用是有限的,其临床应用的价值并不大。

关键词:胆囊切除术,腹腔镜;肺功能;气腹,人工

中图分类号:R657.4; R459.9 **文献标识码:**B

腹腔镜胆囊切除术(LC)因痛苦小、创伤轻、术后恢复快等优点,已为广大患者所接受。然而,腹

腔术中需建立 CO₂ 气腹,由此可导致患者高碳酸血症和限制性通气功能障碍,尤其是对老年患者肺功能具有一定程度的损伤,已受到临床医师的重视^[1]。为探讨低压气腹在老年患者行 LC 的价值,笔者观察了老年患者在 10mmHg CO₂ 气腹条件进行 LC 的手术前后肺功能的改变,报告如下。

收稿日期:2005-04-20; **修订日期:**2005-06-09。

作者简介:刘琰(1972-),女,江西南昌人,广东省深圳市第二人民医院主治医师,硕士,主要从事呼吸疾病重症监护和治疗方面的研究。

通讯作者:王成友 电话:0755-83366388-8277; E-mail:szhbp@yahoo.com.cn。

参考文献:

[1] Nilsson HO, Taneera J, Castedal M, *et al.* Identification of *Helicobacter pylori* and *Helicobacter* species by PCR, hybridization, and partial DNA sequencing in human liver samples from patients with primary sclerosing cholangitis or primary biliary cirrhosis [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(3): 1072-1076.

[2] Fox JG, Dewhirst FE, Shen Z, *et al.* Hepatic *Helicobacter* species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 755-763.

[3] Carey MC. Critical tables for calculating the cholesterol saturation of native bile [J]. *J Clin Invest*, 1978, 19(8): 945-955.

[4] Harada K, Ozaki S, Kono N, *et al.* Frequent molecular identification of *Campylobacter* but not *Helicobacter* genus in bile and biliary epithelium in hepatolithiasis [J]. *J Pathol*, 2001, 193(2): 218-223.

[5] Lammert F, Carey MC, Paigen B. Chromosomal organization of

candidate genes involved in cholesterol gallstone formation: a murine gallstone map [J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(1): 211-238.

[6] Lee DK, Tarr PI, Haigh WG, *et al.* Bacterial DNA in mixed cholesterol gallstones [J]. *Am J Gastroenterol*, 1999, 94(12): 3502-3506.

[7] Blaser MJ. *Helicobacters* and biliary tract disease [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 840-842.

[8] Figura N, Cetta F, Angelico M, *et al.* Most *Helicobacter pylori*-infected patients have specific antibodies, and some also have H. *pylori* antigens and genomic material in bile: is it a risk factor for gallstone formation? [J]. *Dis Dis Sci*, 1998, 43(4): 854-862.

[9] 田志杰, 韩天权, 姜志宏, 等. 胆囊结石病胆道系统螺杆菌 DNA 的研究 [J]. *中国实用外科杂志*, 2004, 24(2): 84-87.

[10] Mendez-Sanchez N, Pichardo R, Gonzalez J, *et al.* Lack of association between *Helicobacter* sp. colonization and gallstone disease [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2001, 32(2): 138-141.