

## Interrelation between Gallstone and Pncreatic Amylase Reflux to Gallbladder in Patients undergoing Cholecystectomy

Chinifroush M<sup>1</sup>, Mohajery S<sup>2</sup>, Amani F<sup>3\*</sup>, Siavoushifar F<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

<sup>2</sup>Department of General Surgery, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

<sup>3</sup>Department of Community Medicine, School of Medicine, Ardabil University of Medical Ssciences, Ardabil, Iran

<sup>4</sup>General practitioner, Ardabil Islamic Azad University, Ardabil, Iran

\* Corresponding Author. Tel: +984515513777 Fax: +984515510057 E-mail: F.amani@arums.ac.ir

Received: 14 Jan 2013 Accepted: 8 Jul 2013

### ABSTRACT

**Background & objectives:** More than 95% of bile ducts diseases are pertain to either gallbladder stone or cholecystitis. Normally, there is not amylase in gallbladder and its presence indicates reflux from the pancreas. The aim of this study was to investigate the association between presence of gallstones and amylase level in gallbladder.

**Methods:** In this cross-sectional study 100 patients with cholecystitis were selected and after removal of the gallbladder under sterilized conditions, about 1-5 ml of fluid has been aspirated from bladder. The amylase level of samples was measured in the laboratory and collected data analyzed using statistical tests such as t-test and ANOVA by SPSS 18 software.

**Results:** A total of 100 patients with cholecystitis, 42% had measurable amylase in gallbladder (25-65 IU/L). The patients were in the range of 22-92 years old and 47% of them was in the age group of 40-60 years old. The mean age of patients was 48.2 years old (SD=12). There was a significant linear correlation between the gallbladder amylase level and the age of patients ( $r=0.76$ ,  $p=0.001$ ).

**Conclusion:** Results of our study showed a significant relationship between the formation of gallestones and pancreatic amylase reflux to gallbladder. So, in patients with gallestones, the possible existence of pancreatitis and specially the probability of the pancreas and bile duct obstruction or narrowing should be checked.

**Key words:** Amylase; Gallbladder Stone; Reflux; Cholecystitis

## ارتباط سنگهای صغراوی با ریفلاکس آمیلاز پانکراس به داخل کیسه صغرا در بیماران کوله سیستکتومی شده

مهدی چینی فروش<sup>۱</sup>، سراج مهاجری<sup>۲</sup>، فیروز امانی<sup>۳\*</sup>، فرهود سیاوشی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران <sup>۲</sup> گروه جراحی عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران <sup>۳</sup> گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران <sup>۴</sup> پزشک عمومی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

\*نویسنده مسئول: تلفن: ۰۴۵۱۵۵۱۳۷۷۷ فاکس: ۰۴۵۱۵۵۱۰۰۵۷ پست الکترونیک: f.amani@arums.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** بیش از ۹۵٪ بیماریهای سیستم صغراوی مستقیماً مربوط به وجود سنگ کیسه صغرا یا کله سیستیت ناشی از آن می باشد. آنزیم آمیلاز به طور طبیعی در کیسه صغرا وجود ندارد و وجود آن نشاندهنده ریفلاکس این آنزیم مترشحه از پانکراس می باشد. لذا هدف از این مطالعه بررسی ارتباط احتمالی وجود سنگ کیسه صغرا با میزان آمیلاز موجود در صغرامی باشد.

**روش کار:** در این مطالعه توصیفی مقطعی تعداد ۱۰۰ بیمار با تشخیص کوله سیستیت سنگی انتخاب و در حین کوله سیستکتومی در اتاق عمل در شرایط استریل ۱-۵ سی سی از مایع صغرا نمونه برداشته شد. نمونه های جمع آوری شده در آزمایشگاه از نظر سطح آمیلاز مایع صغرا بررسی و نتایج با استفاده از آزمونهای T-Test و ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته ها:** از بین ۱۰۰ بیمار کوله سیستکتومی شده ۴۲٪ بیماران دارای آمیلاز قابل اندازه گیری در کیسه صغرا (بین ۶۵IU/L-۲۵) بودند. ۴۷٪ بیماران در گروه سنی ۶۰-۴۰ سال با دامنه سنی ۲۲ تا ۹۲ سال قرار داشتند. میانگین سنی بیماران ۴۸/۲ سال با انحراف معیار ۱۲ سال بود. بین آمیلاز کیسه صغرا و سن همبستگی خطی معنی داری وجود داشت ( $r=0/762, p=0/001$ ).

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که بین تشکیل سنگهای صغراوی و ریفلاکس آمیلاز پانکراس به داخل کیسه صغرا ارتباط معنی دار وجود دارد. بنابراین در بیماران دارای سنگ کیسه صغرا باید وجود احتمالی پانکراتیت و بخصوص احتمال انسداد یا تنگی مجرای مشترک بین پانکراس و صغرا باید بررسی گردد.

**کلمات کلیدی:** آمیلاز؛ سنگ کیسه صغرا؛ ریفلاکس؛ کوله سیستیت

پذیرش: ۹۲/۴/۱۷

دریافت: ۹۱/۱۰/۲۵

### مقدمه

های هیدرولیتیک هستند که نشاسته را به مالتوز تبدیل می کنند و در بدن انسان از اندام های مختلف منشأ می گیرند. آمیلاز پانکراتیک توسط پانکراس تولید و در مجرای روده آزاد می گردد. آمیلاز توسط کلیه ها از گردش خون حذف شده و از طریق ادرار دفع می شود. اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز یک آزمایش اختصاصی برای تشخیص بیماریهای لوزالمعده نیست چون که به عنوان مثال در اورپون و نارسایی های کلیوی (به دلیل عدم دفع آمیلاز از

بیماریهای کیسه صغرا یکی از مهمترین مشکلات بهداشتی در ایالات متحده آمریکا بوده و تقریباً ۱۲٪ از مردم آمریکا (حدود ۳۰ میلیون نفر) از سنگهای صغراوی رنج می برند و سالانه ۷۰۰۰۰۰ عمل کوله سیستکتومی انجام می شود [۱]. صغرا عمدتاً از آب، الکترولیتها، نمک های صغراوی، پروتئین ها، لیپیدها و پیگمانهای صغراوی تشکیل شده است که حاوی آمیلاز نمی باشد [۲]. آمیلازها آنزیم

طریق ادرار) نیز میزان آمیلاز سرم افزایش می یابد [۴، ۳]. در غرب حدود هشتاد درصد سنگهای صفراوی کلسترولی هستند که حاوی منوهیدرات کلاسترول بلوری هستند. باقی سنگها غالبا از نمکهای کلسیمی بیلی روبین تشکیل شده اند و تحت نام سنگ های پیگمانته نامیده می شوند. سن بالا، هورمونهای جنسی زنانه، جنس مونث، مصرف قرصهای ضد بارداری، حاملگی، چاقی، کاهش سریع وزن، استاز کیسه صفرا، بیماریهای ارثی متابولیسم اسیدهای صفراوی و سندرمهای هیپر لیپیدمی در ایجاد سنگهای کلسترولی و سندرم های همولیتیک مزمن، عفونت صفراوی و بیماریهای دستگاه گوارش در ایجاد سنگهای پیگمانته نقش دارند [۵].

علایم مرتبط با سنگهای صفراوی و عوارض آن جزو شایعترین بیماریهای گوارش است که به بستری در بیمارستان منجر شده و سالانه حدود ۵ میلیون دلار در ایالات متحده صرف هزینه های آن می شود [۶]. ریفلکس پانکراس به سیستم صفراوی یک پدیده پاتولوژیک در بیماران با سنگ کیسه صفرا می باشد و هنوز در بیماران مبتلا به کوله سیستیت بدون سنگ مطالعه نشده است. ۸۳/۵٪ بیماران با سنگ کیسه صفرا و ۶٪ بیماران بدون سنگ کیسه صفرا دارای سطح بالای آمیلاز و لیپاز کیسه صفرا نسبت به سرم می باشند. مقدار طبیعی غلظت آنزیم های پانکراس در کیسه صفرا هنوز تعیین نشده است [۷]. شواهد موجود نشان می دهد که بروز سنگهای صفراوی به صورت جهشی در دهه های اخیر افزایش یافته و هنوز هم معلوم نیست که به حد نهایی رسیده باشد با توجه به این افزایش پیش رونده، تغییر سبک زندگی و الگوی تغذیه ای نوین در کنار عوامل دخیل دیگر در افزایش شیوع سنگهای صفراوی موثر به نظر می رسند [۸].

ریفلکس صفراوی پانکراس یک پدیده پاتولوژیک می باشد که در بیماران با سنگ صفراوی رخ می دهد و با وجود این رخداد ریفلکس صفراوی

پانکراس در بیماران بدون سنگ نیز توسط بلتران و همکاران کار شده و نتیجه گرفتند که ریفلکس صفراوی پانکراس یک پدیده معمول در بیماران با سنگ کیسه صفرا می باشد و یک پدیده غیر معمول در بیماران با کیسه صفرا سالم بدون سنگ می باشد [۹].

با توجه به عدم وجود مقدار طبیعی آمیلاز در کیسه صفرا، اندازه گیری آمیلاز داخل کیسه صفرا می تواند نشان دهنده ایجاد کوله سیستیت در نتیجه ریفلکس این آنزیم به عنوان یکی از عوارض سنگ های صفراوی باشد که جزء اهداف مطالعه حاضر است با توجه به اینکه نمونه برداری از افراد سالم بعنوان کنترل یک روش تهاجمی است بنابراین استفاده از گروه کنترل امکان پذیر نمی باشد.

بر آن شدیم تا با انجام مطالعه ای بر روی بیمارانی که به دلیل سنگ های صفراوی دچار کله سیستیت شده و تحت کله سیستکتومی قرار گرفته بودند به ارتباط بین وجود سنگ کیسه صفرا، وجود آمیلاز در کیسه صفرا و ایجاد کله سیستیت پی ببریم.

### روش کار

در این مطالعه توصیفی مقطعی بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به سنگ صفراوی تایید شده با سونوگرافی که کاندید کله سیستکتومی در بیمارستانهای اردبیل در سال ۸۹-۱۳۸۸ بود ند، شرح حال و معاینه بالینی شامل اندازه گیری قد و وزن به عمل آمد و شاخص توده بدنی هر بیمار محاسبه گردیده و پرسشنامه طراحی شده تکمیل گردید. بیماران دچار بیماریهای کلیوی، قلبی، گوارشی و بیماریهای همولیتیک مزمن و دچار هیپر ترگلیسریدمی و هیپر کلسترومی از مطالعه حذف شدند. برای نمونه گیری از کیسه صفرا، از هر بیمار حین عمل کوله سیستکتومی در اتاق عمل تحت شرایط استریل بعد از خارج کردن کیسه صفرا ۵-۱ سی سی از مایع کیسه صفرا گرفته شده و در کلمن یخ تحت شرایط دمایی زیر ۴ درجه

۲۶٪ بیماران سابقه خانوادگی مثبت و ۷۴٪ سابقه خانوادگی منفی از نظر بیماری کیسه صفرا داشتند. کله سیستیت مزمن با ۵۴٪، کله سیستیت حاد با ۴۲٪، کله سیستیت کمپلیکه با ۴٪ به عنوان تشخیص های بیماری مطرح بودند.

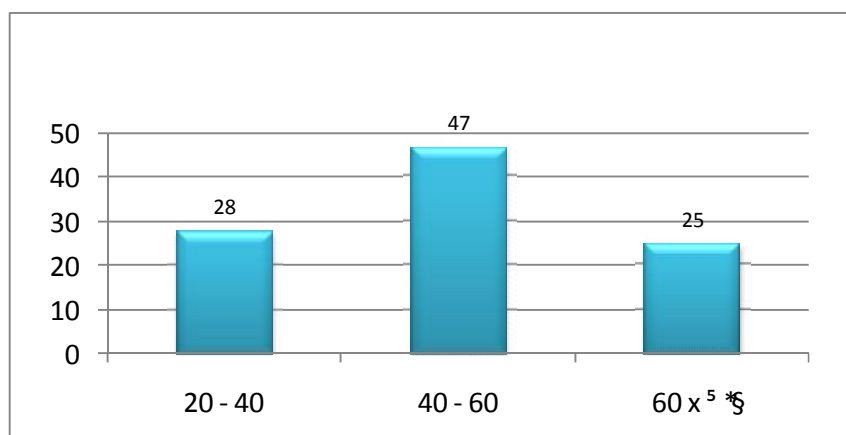
۸۱٪ بیماران مونث و ۱۹٪ مذکر بودند. ۴۰٪ بیماران دارای سطح قابل اندازه گیری آمیلاز و ۶۰٪ فاقد آمیلاز در مایع صفرا بودند و لازم به ذکر است که در حالت طبیعی مایع صفرا حاوی آمیلاز نمی باشد. بیشترین مقدار آمیلاز بدست آمده ۶۵ IU/L در کوله سیستیت نکرزان کمپلیکه و کمترین میزان آن در کوله سیستیت حاد اولیه به میزان ۱۲ IU/L بدست آمد.

در میان ۴۰ بیماری که دارای آمیلاز در کیسه صفرا بودند ۱۱ نفر در مردان و ۲۹ نفر در زنان گزارش شد و از بین کل موارد ۱۵ نفر دارای آمیلاز در محدوده ۳۰-۴۰ IU/L بودند (نمودار ۲). اندازه سنگ کیسه صفرا بر اساس معیارهای سونوگرافی بر حسب میلی متر محاسبه شد و

سانتی گراد تکه داری شدند. نمونه ها حداکثر ۱۲ تا ۲۴ ساعت بعد از جمع آوری به آزمایشگاه بیمارستان انتقال و مورد آزمایش قرار گرفتند. در مورد روش اندازه گیری آمیلاز کیسه صفرا از همان روش اندازه گیری سرم استفاده شد که روش آنزیمی کالریمتری (فتومتریک) و سنجش آلفا آمیلاز توسط کیت های تشخیصی پارس آزمون و توسط دستگاه اتوانالیزر بی تی سه هزار در بیمارستان فاطمی اردبیل بعمل آمد. نتایج بدست آمده جمع آوری و در نهایت توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ با استفاده از آزمونهای T-Test و ANOVA برای نشان دادن ارتباط بین متغیرها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

#### یافته ها

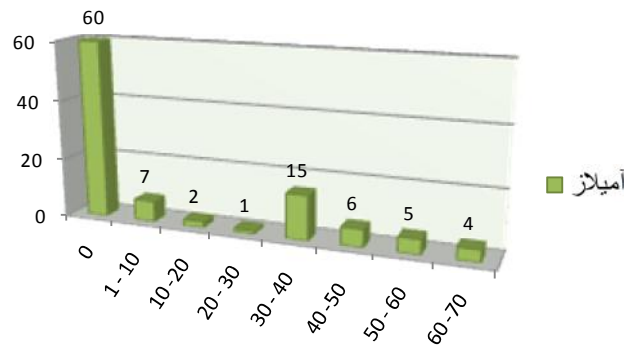
در این مطالعه ۱۰۰ بیمار انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند. ۴۷٪ بیماران در گروه سنی ۶۰-۴۰ سال با دامنه سنی ۲۲ تا ۹۲ سال سن قرار داشتند (نمودار ۱).



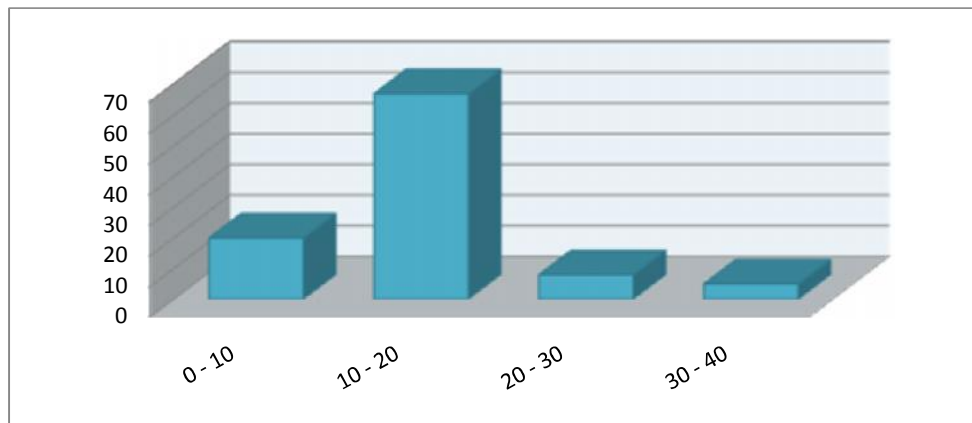
نمودار ۱. توزیع سنی افراد مورد مطالعه

مشخص گردید که در اکثر بیماران کله سیتکتومی شده، اندازه سنگ بین ۲۰-۱۰ میلی متر بوده است (نمودار ۳) و بین اندازه سنگ و افزایش آمیلاز مایع صفراوی رابطه معنی داری وجود داشت (P=۰/۰۰۱).

میانگین سنی بیماران ۴۸/۲ سال با انحراف معیار ۱۲ سال بود. با توجه به میزان هم بستگی برابر با ۰/۷۶۲ بین آمیلاز کیسه صفرا و سن همبستگی خطی معنی داری وجود داشت [p=۰/۰۰۱].



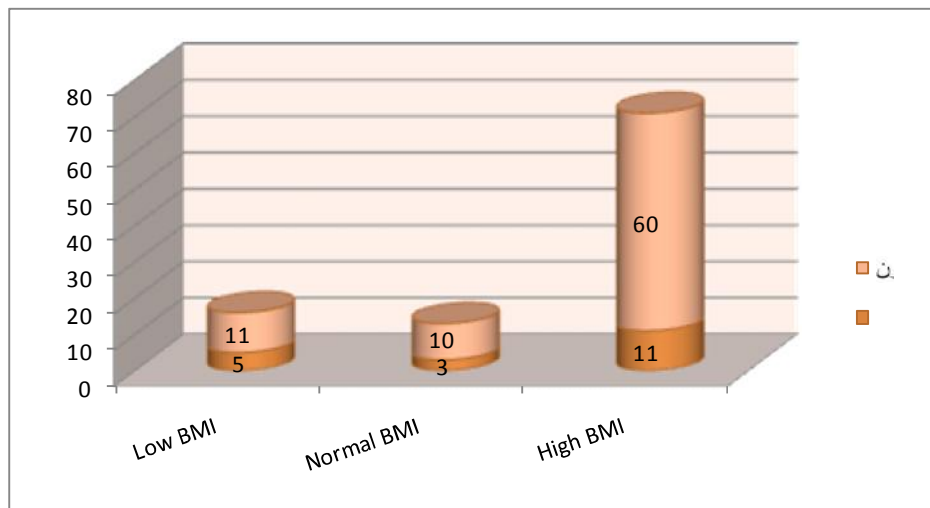
نمودار ۲. توزیع مقدار کمی آمیلاز اندازه گیری شده با فواصل ۱۰ IU/L



نمودار ۳. اندازه سنگ کیسه صفرا بر حسب میلی متر

زایمان و مصرف OCP با آمیلاز صفراوی وجود داشت ( $P=0/001$ ). نتایج نشان داد که ۱۳٪ بیماران دارای BMI نرمال، ۱۶٪ BMI پائین و ۷۱٪ BMI بالا داشتند (نمودار ۲). بین BMI و مقدار آمیلاز صفرا نیز رابطه معنا دار آماری وجود داشت ( $P=0/002$ ). بر اساس معیارهای سونوگرافی در ۸٪ از بیماران افزایش اندازه C.B.D گزارش شد. در ۶٪ از بیماران سنگ C.B.D در سونوگرافی گزارش شد. ۷۲٪ بیماران مصرف رژیم غذایی پرچرب داشتند. هیپرلیپیدمی در ۳۸٪ بیماران وجود داشت. شیوع دیابت در ۷٪ بیماران وجود داشت. شیوع بیماری گوارشی در ۲۱٪ بیماران گزارش شد. در ۱۱٪ از

شروع علائم در ۴۳٪ بیماران با تهوع، ۴۴٪ با درد شکم و ۱۳٪ همراه با تهوع، تب و استفراغ همراه بوده است. یکتر در ۱۷٪ بیماران مثبت گزارش شد. بیماری سیستمیک در ۲۸٪ بیماران مثبت بود. در ۲۰٪ بیماران مقدار بیلی روبین افزایش یافته بود. افزایش آنزیم های AST, ALT در ۱۳٪ بیماران بود. در ۳۶٪ بیماران مقدار آنزیم ALP افزایش یافته بود. لکوسیتوز در ۳۳٪ بیماران وجود داشته در میان بیماران زن مورد مطالعه ۵۸/۴٪ از آنها قرص ضد حاملگی مصرف می کردند و اکثر زنان مورد مطالعه زایمان بین ۳-۴ بار داشتند. با استفاده از آنالیز ANOVA اختلاف معنی داری بین تعداد دفعات



نمودار ۴. توزیع فراوانی BMI در افراد مورد مطالعه

کلدو کال به علت وجود راه مشترک بین پانکراس و مجاری تخلیه صفرا و رفلکس ترشحات پانکراس می باشد و میزان آمیلاز سرم با سن رابطه مثبتی دارد ( $t=0/5, P=0/001$ ) که مشابه نتایج مطالعه حاضر می باشد.

در مطالعه عبدالمتین<sup>۲</sup> و همکاران در یک مطالعه تجربی که بر روی ۲۹ سگ انجام شد، آناستوموزی را بین پانکراس و کیسه صفرا ایجاد کردند و نتایج حاصل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. طبق نتایج این تحقیق آمیلاز صفرا و فسفولیپاز A2 در تمام سگهای گروه مورد (۲۵ سگ) افزایش یافته و ۷۹٪ از سگها دچار اتساع مجرای صفراوی مشترک گردیدند و ۱۰٪ آنها دچار سنگ صفرا شدند. تغییرات میکروسکوپی التهاب کیسه صفرا در تمام سگ های گروه مورد ایجاد گردید. طبق نتایج این محقق وجود این آناستوموز درصد رخداد اختلالات DNA را در سلولهای کیسه صفرا افزایش داده بود [۱۱].

در مطالعه اُتا<sup>۳</sup> و همکاران و همچنین آیوای<sup>۴</sup> در بررسی رفلکس عصاره پانکراس و بروز تغییرات التهابی و بدخیمی در مجاری و کیسه صفرا، آناتومی

بیماران افزایش ضخامت دیواره کیسه صفرا گزارش شد. اندازه کیسه صفرا در ۱۸٪ بیماران افزایش داشت. میانگین آمیلاز کیسه صفرا در مردان ۲۳/۶ و در زنان ۱۱/۷ و به لحاظ آماری اختلاف معنی دار بود ( $P=0/001$ ). همچنین بین میزان آمیلاز کیسه صفرا با متغیر های اندازه سنگ، BMI، مصرف OCP، تعداد زایمان رابطه معنی داری وجود داشت ( $P=0/001$ ).

### بحث

نتایج نشان دهنده این بودند که بین میزان آمیلاز کیسه صفرا و کوله سیستیت ناشی از سنگ صفراوی ارتباط معنا داری وجود داشت. با توجه به آن که آمیلاز جزو ترکیبات طبیعی کیسه صفرا نمی باشد، بالا بودن این آنزیم در کیسه صفرا می تواند ناشی از ورود عصاره پانکراس که از آنزیم آمیلاز غنی بوده به داخل کیسه صفرا باشد و به عبارت دیگر نتایج این تحقیق مؤید رفلکس ترشحات پانکراس به داخل کیسه صفرا می باشد.

داون پورت<sup>۱</sup> و همکاران [۱۰] نشان دادند که افزایش آمیلاز صفراوی در کودکان مبتلا به کیست های

<sup>2</sup> Abdul-matin

<sup>3</sup> Ohta

<sup>4</sup> Iwai

<sup>1</sup> Port

منطقه اتصال مجرای کلدوک از مهمترین دلایل ایجاد رفلکس معرفی شده است [۱۴-۱۲]. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که در بیماران مبتلا به کوله سیستیت ناشی از سنگ، میزان آمیلاز کیسه صفرا افزایش می یابد که می تواند نشان دهنده رفلکس عصاره پانکراس به کیسه صفرا و بروز واکنش التهابی در مخاط کیسه صفرا به علت وجود آنزیم های پروتئولیتیک موجود در ترشحات پانکراس باشد و علت آن هم می تواند بدلیل آناتومی خاص این ناحیه باشد.

بین سطح آمیلاز و وجود سنگ کیسه صفرا رابطه معنی داری یافت شد ( $P=0/001$ ) که می تواند نشانگر وجود ترشحات پانکراس در درون کیسه صفرا در بیماران مبتلا به سنگ کیسه صفرا باشد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات بلتون و همکاران [۹] و عمر و همکاران [۱۵] تایید شده است.

### نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که در افراد با سنگهای صفراوی، ریفلکس ترشحات پانکراس به درون کیسه صفرا می تواند در ایجاد کله سیستیت و علامت دار شدن

آن «کله سیستیت سنگی» دخیل باشد. از نظر بالینی در مورد اهمیت میزان آمیلاز در کیسه صفرا می توان گفت که در ۱۰٪ موارد کله سیستیت همراه با انسداد مجرای صفراوی بوده و سبب پانکراتیت حاد همراه و عوارض ناشی از آن به دلیل ریفلکس می باشد که باید در طول دوره نقاهت به آن توجه شود و یا اسنکترتومی همزمان در حین عمل صورت گیرد. همچنین می توان گفت که در بیماران دارای سنگ کیسه صفرا تایید شده به روشهای تشخیصی، باید وجود احتمالی پانکراتیت و بخصوص احتمال انسداد یا تنگی مجرای مشترک بین پانکراس و صفرا بررسی گردد.

### تقدیر و تشکر

نتایج این مطالعه حاصل پایان نامه پزشکی آقای دکتر سیاوشی فر از دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل می باشد. همچنین از جناب آقای دکتر هرمز عظیمی، دکتر اسدالله سلطانزاده گرمی، خانم دکتر پروین فرزانه و تمامی کادر اتاق عمل بیمارستان سبلان اردبیل که ما را در گردآوری نمونه های یاری نمودند تقدیم و تشکر می گردد.

### References

- 1- Nakeeb A, Comuzzie AG, Martin L, Sonnenberg GE, Swartz- Basile D. Genetics versus environment. *Ann Surg.* 2002 Jun; 235 (6): 842-9.
- 2- Brunicardi FC, Anderson DK, Billiar TR. *Principles of Internal surgery*, 9<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2010: 93-102.
- 3- Lorentz K. Lipase. In: Thomas L. *Clinical laboratory diagnostics*, 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998: 95-7.
- 4- Moss Dw, Henderson AR, Burtis CA. *Textbook of clinical chemistry*, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W. B Saunders, 2003: 13-24.
- 5- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell R. *Basic pathology of Robbins*, 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders; 2007: 1062-6.
- 6- Yamada T, Alpers DH, Laine L, Owyang C, Powell DW. *Textbook of Gastroenterology*, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: lippincott Williams and wilkins, 2003: 2258-65
- 7- Townsend M, Beachamp D, Markever B, Mattroy K. *Sabiston Textbook of surgery*, 17<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005: 238-9.
- 8- Brunicardi E, Anderson D, Billar T. *Schwartz's principles of surgery*, 8<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2005: 91-128.

- 9- Beltrán MA, Contreras MA, Cruces KS. Pancreaticobiliary reflux in patients with and without cholelithiasis: is it a normal phenomenon. *World J Surg.* 2010 Dec; 34(12): 2915-21.
- 10- Davenport M, Stringer MD. Biliary amylase and congenital chledochal dilatation. *J pediatr surg.* 1995 Mar; 30(3): 474-447.
- 11- Abdul-Matin M, Konitomo K. Experimental studies on carclinogenesis in anomalous of the pancreaticobiliary ducts. *Tokushima J Exp Med.* 1992 Jun; 39 (1-2): 13-23.
- 12- Iwai N, Yanagihara J. Congenital choledochal dilatation with emphasis on pathophysiology of the biliary tract. *Ann Surg.* 1992; 215(1): 27-30.
- 13- Ohta T, Nagakawa T. clinical experience of biliary tract carcinoma associated with anomalous union of the pancreaticobiliary ductal system. *Jpn J Surg.* 1990 Jan; 20(1): 36-43.
- 14- Jonsson KA, Zdolsek M, Hall destam I, Kullman E, scand J. Prevalence of gallstone disease in a swedish population sample Relations to occupation childbirth, health status, Life Style, medications and blood Lipids Borch k. *Gastroenterol.* 1998 Nov; 33(11): 1219-25.
- 15- Amr AR, Hamdy HM, Nasr MM, Hedaya MS, Hassan AM. Effect of pancreatic biliary reflux as a cofactor in cholecystitis. *J Egypt Soc Parasitol.* 2012 Apr; 42(1): 121-8.