Original Article

Evaluation of the Relation between Salivary Beta-2 Microglobulin and Viral Proliferation in HBS Ag$^+$, HBV DNA PCR$^+$ and HBV DNA PCR$^-$ Subjects

Hamid Reza Abdolsamadi[1], Peyman Eini[2], Negin Ronasi[3], Mehrdad Hajiluei[4], Abbas Moghimbeigi[5], Poorandokht Davoodi[6], Fatemeh Ahmadi-Motamayel[7]

[1]Associate Professor,Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[2]Assistant Professor,Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[3]Researcher, Department of Oral Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[4]Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[5]Associate Professor ,Department of Biostatistics, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[6]Assistant Professor, Department of Oral Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[7]Associate Professor, Research Center of Molecular Medicine and Dental Research Center, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

ABSTRACT

Background :
Hepatitis includes a wide range of clinical and pathological conditions. The beta-2 microglobulin ($ß_2M$), as part of the HLA complex, is responsible for transmission of viral antigens on the surface of liver cells. The purpose of this study is to determine the concentration of salivary $ß_2M$ as a marker of viral proliferation in subjects who are HbsAg$^+$, HBV DNA PCR$^+$ compared with those who are HbsAg$^+$, HBV DNA PCR$^-$.

Materials and Methods:
In this case-control study, we enrolled 25 patients who were Hbs Ag$^+$, HBV DNA PCR$^+$ in addition to 21 patients who were Hbs Ag$^+$, HBV DNA PCR$^-$. We obtained sputum samples from all patients and measured salivary $ß_2M$ levels by nephelometry. Data analyses were performed by the descriptive, student's t- and chi-square tests.

Results:
There were 25 men (54.3%) and 21 women (45.7%) with a mean age of 35.72±11.86 years who participated. Of PCR$^+$ patients, 72% were on medication, however 85.7% of the PCR$^-$ patients did not take medication (p<0.001). Salivary B_2M concentration in the PCR$^+$ patients (5.28±5.45) was greater than observed in the PCR$^-$ patients (1.51±0.77), of which this difference was statistically significant (p<0.003).

Conclusion:
Salivary $ß_2M$ levels, as a marker of viral replication, could be used in patients with hepatitis B.

Keywords: Beta-2 microglobulin; Saliva; Hepatitis B; Virus proliferation marker

please cite this paper as:
Abdolsamadi HR, Eini P, Ronasi N, Hajiluei M, Moghimbeigi A, Davoodi P, Ahmadi-Motamayel F. Evaluation of the Relation between Salivary Beta-2 Microglobulin and Viral Proliferation in HBS Ag$^+$, HBV DNA PCR$^+$ and HBV DNA PCR$^-$ Subjects. *Govaresh* 2013;17:228-35.

Corresponding author:
Fatimeh Ahmadi-Motamayel, MD
Department of Oral Medicine, School of Dentistry
Hamadan University of Medical Sciences Pejhoush
Intersection Across from People's Park Hamadan, Iran
Tel: + 98 811 8381059
Fax:+ 98 811 8381085
E-mail: fatahmadim@yahoo.com
Received: 30 Aug. 2012
Edited: 05 Dec. 2012
Accepted: 06 Dec. 2012

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط غلظت بتا دو مکیروگلوبولین بزاق و تکثیر ویروس در افراد HBV DNA PCR^+, PCR^-

حمیدرضا عبدالصمدی[۱]، پیمان عینی[۲]، نگین روناسی[۳]، مهرداد حاجیلویی[۴]، عباس مقیم بیگی[۵]، پوراندخت داوودی[۶]، فاطمه احمدی متمایل[۷]

[۱] دانشیار، گروه بیماری های دهان، دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران
[۲] استادیار، گروه بیماری های عفونی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران
[۳] پژوهشگر، گروه بیماری های دهان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران
[۴] استادیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران
[۵] دانشیار، گروه آمار زیستی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران
[۶] استادیار، گروه بیماری های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران
[۷] دانشیار، گروه بیماری های دهان، دانشکده دندانپزشکی، عضو مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی و دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران

چکیده

زمینه و هدف:
هپاتیت، طیف گسترده ای از شرایط بالینی و پاتولوژیک را شامل می شود. بتادومکیروگلوبولین ($ß_2M$)[۱]، به عنوان بخشی از کمپلکس HLA[۲]، مسئول انتقال آنتی ژن‌های ویروسی از جمله ویروس هپاتیت B (HBV) بر روی سطح سلول های کبدی است. از این رو هدف ازاین مطالعه، بررسی غلظت $ß_2M$ بزاق به عنوان نشانگر تکثیر ویروس در افراد $HBs\ Ag^+$, $HBV\ DNA\ PCR^+$ و $HBs\ Ag^+$, $HBV\ DNA\ PCR^-$ است.

روش بررسی:
دراین مطالعه مورد- شاهدی، ۲۵ بیمار PCR^+[۳] و ۲۱ بیمار PCR^- از بیماران $HBs\ Ag^+$ وارد مطالعه شدند. از تمامی بیماران ۵ سی سی نمونه بزاق تهیه شد و سطح $ß_2M$ بزاقی به روش نفلومتری اندازه گیری شد. سپس داده ها توسط تست‌های توصیفی، مجذور کای وآزمون t مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها:
در این بررسی، ۲۵ مرد (۵۴/۳٪) و ۲۱ زن (۴۵/۷٪) با میانگین سنی ۱۱/۸۶±۳۵/۷۲ سال مورد بررسی قرار گرفتند. ۷۲٪ بیماران PCR^+، دارو مصرف می کردند و در مقابل، ۸۵/۷٪ از بیماران PCR^-، دارویی مصرف نمی کردند ($p< ۰/۰۰۱$). میانگین غلظت بزاقی بتادومکیروگلوبولین در گروه PCR^+ (۵/۲۸±۵/۴۵ میلی گرم بر دسی لیتر) بیشتر از گروه PCR^- (۰/۷۷±۱/۵۱ میلی گرم بر دسی لیتر) بود که این اختلاف از نظر آماری معنادار بود ($p =۰/۰۰۳$).

نتیجه گیری:
سطح بتادومکیروگلوبولین بزاق می تواند به عنوان نشانگر تکثیر ویروس در بیماران مبتلا به هپاتیت B مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه: بتادومکیروگلوبولین، بزاق، هپاتیت B، تکثیر ویروس

گوارش/ دوره ۱۷، شماره۴/ زمستان ۱۳۹۱/۲۳۵-۲۲۸

1. β(2)-microglobulin
2. Human Leukocyte Antigen
3. Polymerase chain reaction

نویسنده مسئول: فاطمه احمدی متمایل
همدان، چهارراه پژوهش، روبروی پارک مردم، دانشکده دندانپزشکی همدان ، بخش بیماری های دهان
تلفن:۸۳۸۱۰۵۹ - ۰۸۱۱
نمابر: ۸۳۸۱۰۸۵ - ۰۸۱۱
پست الکترونیک: fatahmadim@yahoo.com

تاریخ دریافت : ۹۱/۶/۹
تاریخ اصلاح نهایی : ۹۱/۹/۱۵
تاریخ پذیرش : ۹۱/۹/۱۶

زمینه و هدف:

هپاتیت، به معنی التهاب کبد است که و طیف گسترده ای از شرایط بالینی و پاتولوژیک را شامل می شود.(۱و۲) بر طبق آخرین آمار سازمان بهداشت جهانی، در حال حاضر، هپاتیت به عنوان یکی از گرفتاریهای مهم در نظام سلامت و بهداشتاست که بیش از ۳۵۰ میلیون نفر به صورت مزمن به این بیماری مبتلا شده اند (۵-۳) این افراد اصلی ترین مخزن ویروس هپاتیت هستند و به عبارتی دیگر عامل انتقال بیماری هستند.(۶) در چهارمین کنگره بین المللی هپاتیت، ایران منطقه اندمیک هپاتیت با

شیوع متوسط نزدیک به ۲/۳٪ شناخته شد البته در برخی مناطق کشور از جمله استان های گلستان و سیستان و بلوچستان شیوع بیماری به ۶٪ نیز می رسد. ضمن این که۳۵٪ جمعیت ایران در خطر ابتلا به این بیماری بوده، ۳/۴٪ جمعیت ایران ناقل مزمن هپاتیت B هستند.(۷)

مکانیسم اصلی آسیب به سلول های کبدی در هپاتیت، واکنش سیستم ایمنی است.(۸) مطالعه بر روی ایمنی سلولی در هپاتیت نشان می دهد که وجود آنتی ژن HLA و مولکول های چسبندگی در سطح سلول های کبدی جهت ارائه آنتی ژن HBV عاملی کلیدی اند و منجر به فعالیت لنفوسیت های T علیه HBs Ag و HBe Ag می شوند.(۹و۱۰) هم چنین ارتباط مستقیمی بین HLA-1 هپاتوسیت ها و میزان التهاب سلول های کبدی در هپاتیت B مشخص شده است.(۱۰) زمانی که فرد به HBV آلوده می شود اولین علامت ویرولوژیک قابل شناسایی در سرم، بزاق و اسپرم، نشانگر HBs-Agطی هفته های ۱۲-۸ بعد از آلودگی است(۱و۳) اما علاوه بر آن می توان از تست تشخیصی مهم و قابل اعتماد دیگری از جمله HBV DNA به کمک PCR استفاده کرد و این به گونه ای است که در آن برخی بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن با مقادیر HBV DNA بیشتر از ۲۰۰۰۰ واحد بر میلی لیتر یا ۱۰۰۰۰۰ کپی بر میلی لیتر، در مرحله همانندسازی با درجه بالا قرار می گیرند و این افراد با احتمال بالاتری به سیروز کبدی، ناتوانی در عملکرد کبد و کارسینوم هپاتوسلولار دچار می‌شوند.(۱و۲) بتادومکیروگلوبولین ($ß_2M$)، یک زنجیره پلی‌پپتیدی منفرد شامل ۱۸ اسید آمینه فاقد کربوهیدرات با وزن مولکولی ۱۱/۸ کیلودالتون است که زنجیره بتا HLA-1 را تشکیل می‌دهد و در سطح اکثر سلول های هسته دار و در بیشتر مایعات بدن مانند خون، بزاق ،ادرار، اسپرم ، مایع مغزی نخاعی، مایع سینوویال، مایع آمنیوتیک و شیر وجود دارد.(۱۱و۱۲) $ß_2M$ به عنوان بخشی از کمپلکس HLA-1، مسئول انتقال آنتی ژن ویروس روی سطح سلول های کبدی(۱۳) میزان نرمال $ß_2M$ سرمی ng/l ۳-۱/۵ و میزان طبیعی آن در بزاق ng/l ۰/۳۸-۰ است.(۱۴) بر طبق مطالعات انجام شده در هپاتیت حاد و هپاتیت مزمن پایدار، سیروز کبدی و ناقلین بدون علامت هپاتیت B، افزایش قابل توجهی در $ß_2M$ سرمی دیده می شود.(۸ و ۱۰)

در بسیاری از مطالعات، بزاق به عنوان یک محیط تشخیصی مورد توجه پزشکان و دندانپزشکان قرار گرفته است. افزایش و کاهش سایتوکاین ها و مدیاتورهای التهابی، همراه با فاکتورهای مختلف تشخیصی در بزاق، امکان نمونه برداری ساده ای را فراهم و می تواند حتی به صورت فعال و توسط بیمار نیز انجام گیرد. بسیاری از متخصصین، بزاق و ترکیبات آن را به عنوان آینه ای از تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک بدن می دانند.(۱۶-۱۵)

مطالعه ی میشایلیل[1] و همکاران نشان داد که آنالیز $ß_2M$ بزاقی یک روش مطمئن و قابل اعتماد برای تعیین سطح سرمی $ß_2M$ در بیماران مبتلا به CKD[2] است و این شیوه توانایی پیشگویی نسبت به عواقب این بیماری ها را نیز دارد.(۱۷)

در سال ۲۰۰۲، آکدوکان[3] و همکاران، نشان دادند که مقادیر $ß_2M$ سرمی قبل و حین درمان، در پیشگویی پاسخ به درمان هپاتیت B کمک کننده است. این مطالعه نشان داد که سطح سرمی $ß_2M$ در درمان با اینترفرون (IFN) افزایش می یابد و این افزایش با بیان آنتی ژن HLA class I در سطح هپاتوسیت ها در ارتباط مستقیم است.(۱۸)

بااین حال متاسفانه اطلاعات محدودی در رابطه با سطح $ß_2M$ بزاق در بیماران مبتلا به هپاتیت B وجود دارد، ضمن این که جمع آوری بزاق نسبت به گرفتن خون دارای مزایایی از جمله کاهش استرس ، دسترسی آسانتر وانجام آن حتی توسط خود بیمار و یک روش غیرتهاجمی است لذا با توجه به نکات فوق، به نظر می رسد مونیتورینگ $ß_2M$ بزاق بتواند به عنوان یک شاخص قابل اعتماد در بررسی روند بیماری، پاسخ به درمان و پیگیری بیماران مد نظر قرارگیرد و این مساله از اهداف این پژوهش بود.

روش بررسی:

در این مطالعه موردی- شاهدی بیمارانی که حداقل به مدت ۶ ماه HBs Ag مثبت بوده و حداکثر طی دو سال گذشته (۱۳۹۰و۱۳۸۹) آزمایش PCR جهت بررسی HBV DNA انجام داده بودندو به بیمارستان فرشچیان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی همدان مراجعه کرده بودند، وارد مطالعه شدند. عدم رضایت افراد، بیماران دیالیزی، وجود بیماری های سیستمیک دیگر و مصرف داروهایی غیر مرتبط با هپاتیت طی ۳ ماه گذشته معیارهای خروج از مطالعه بودند. این افراد ضمن انجام آزمایش های لازم دیگری از جمله:HBe Ag ، HBe Ab، تست های عملکرد کبدی (LFT) و HBV DNA PCR تشکیل پرونده داده و ضمن مراجعه ی دوره ای به طور منظم تحت درمان و پیگیری قرار گرفتند.انتخاب و جمع آوری نمونه ها بعد از اخذ رضایت نامه کتبی و آگاهانه از افراد شرکت کننده با بررسی پرونده های فعال صورت گرفت. انتخاب و جمع آوری نمونه ها با بررسی حدود ۴۰۰ پرونده مربوط به انواع هپاتیت شروع و۱۵۰ مورد هپاتیت B انتخاب شدند که ازاین بین ۹۰ پرونده به علل (نداشتن نتیجه PCR، نداشتن پرونده فعال، عدم رضایت بیماران و...) از مطالعه خارج و ۶۰ مورد انتخاب و در نهایت پس از هماهنگی با ۴۶ بیمار مقرر شد با مراجعه به بخش عفونی، نمونه گیری بزاق صورت پذیرد. از بین ۴۶ نفر ، ۲۱ نفر گروه PCR منفی و ۲۵ نفر گروه PCR مثبت بودند. HBV DNA بیشتر از ۲۰۰۰۰ واحد بر میلی لیتر یا ۱۰۰۰۰۰ کپی بر میلی لیتر به عنوان نمونه ی PCR مثبت و کمتر از آن به عنوان نمونه ی PCR منفی در نظر گرفته شد.(۱و۲) مقدار ویروس (viral load) جزء هدف مطالعه حاضر نبود بنابر این در زمان نمونه گیری مقدار ویروس اندازه گیری نشد. جمع آوری بزاق با استفاده از روش Spitting (۱۹) صورت گرفت. جمع آوری تمامی نمونه‌ها در یک محدوده‌ی زمانی از روز یعنی بین ساعت ۱۰-۸ صبح و در فصل زمستان صورت گرفت تا حداقل تغییرات بزاقی وجود داشته

1. Michelis
2. Chronic Kidney Disease
3. Akdogan

باشـد، با اسـتفاده از روش فوق، حدود ۵ سی سـی بزاق تهیه و بلافاصله درون یخ قرار گرفته و به آزمایشـگاه منتقل شـد. سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان جمع آوری تمامی نمونه ها منجمد شدند. پس از پایان جمـع‌آوری، تمامی نمونه‌ها از حالت انجماد خارج و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۸۰۰g سانتریفوژ شدند تا سلول‌های سنگفرشی و دبری‌های سلولی، جدا گردند.سپس حدود۲ میلی لیتر از مایع سـانتریفوژ شـده در لوله های پلاسـتیکی درب دار و استریل (falcon) در حالی که درون یخ قرار داده شـده بودند جهت اندازه گیری مقادیر $ß_2M$ مورد اسـتفاده قـرار گرفتند. اندازه‌گیری سـطح $ß_2M$ بزاق توسـط کیت (HUMAN MININEPH) ساخت شرکت Binding site کشور انگلستان و با روش نفلومتری انجام گرفت.(۱۱و۲۰)

کلیه داده ها توسـط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و با استفاده از آزمون های توصیفی، مجذورکای و T مسـتقل مورد تجزیـه و تحلیل قرار گرفت و از جهت آماری مقدار $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها :

دراین مطالعه،۲۱ بیمار HBs Agمثبت همراه با $HBV\ DNA\ PCR^-$ و ۲۵ بیمار HBs Ag مثبت با $HBV\ DNA\ PCR^+$، بررسی شدند که مجموعاً ۲۵ مرد (۵۴/۳٪) و ۲۱ زن (۴۵/۷٪) و نسبت مرد به زن در افراد شرکت کننده ۱/۲ به دست آمد و این اختلاف از نظر جنس معنی دار نبود ($p=۰/۸۶$). میانگین سنی افراد شرکت کننده در این بررسی، ۱۱/۸۶±۳۵/۷۲ سال بود و محدوده سنی ۶۱-۱۴سال بود که این اختلاف سنی از نظر آماری، معنادار نبود ($p=۰/۴۸$).

۷۲٪ بیماران PCR^+، جهت درمان، دارو مصرف می کردند و در مقابل، ۸۵/۷٪ از بیماران PCR^-، دارویی مصرف نمی کردند ($p<۰/۰۰۱$). بین غلظت بتا دومیکروگلوبولین بزاق در دو گروه PCR^+ و PCR^- اختلاف معناداری از نظر آماری وجود داشت ($p=۰/۰۰۳$) که در جدول ۱ مشخص شده است. ضمن این که غلظت این شاخص در مردان و زنان نسبت به هم تفاوت معناداری نداشت ($p=۰/۵۷۲$). ضریب همبستگی پیرسون بین غلظت بتادومکیروگلوبولین و سن برابر ۰/۲۲۹- بود که با توجه به $p=۰/۱۲۶$ ، از نظر آماری معنی دار نبود. با توجه به جدول ۲ نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت بتادومکیروگلوبولین بزاق در بیمارانی که تحت درمان دارویی بودند نسبت به بیمارانی است که دارو مصرف نمی کردند به طور معناداری بالا بود ($p=۰/۰۰۲$).

بحث :

HBV-DNA به عنوان یک نشـانگر ویروسـی در همانند سـازی HBV مطرح است و از نظر حساسیت و کمیت دارای بالاترین ارزش تشخیصی است. (۱و۲) منفی شدن HBeAg می تواند نشان دهنده کاهش همانند سازی ویروس تلقی گردد ولی با این حال در برخی بیماران با وجود $HBeAb^+$ هم چنان همانند سازی و تکثیر ویروس ادامه پیدا می کند که این وضعیت می تواند به علت بروز تغییرات موتاسیونی در ناحیه Pre- core ویروس باشد . بنابراین در این مطالعه سعی شد که از HBV-DNA به عنوان یک عامل تکثیر ویروس استفاده شود.(۱۳) ارتباط مستقیمی بین HLA-1 هپاتوسیت ها و میزان التهاب سلول های کبدی در هپاتیت B مشخص شده است.(۲۱و ۲۲) $ß_2M$، زنجیره‌ی بتا HLA-1 را شکل می‌دهد و در سطح سلولی اکثر سـلول‌های هسته‌دار و بیشـتر مایعات بدن وجود دارد.(۲۳) مطالعه حاضر افزایش میزان $ß_2M$ را در گروه PCR^+ نشان داد.

افزایش تولید $ß_2M$ در پاسـخ به فاکتورهای خاصی مانند التهاب، اسیدوز، درمـان بـا کلسـیتریول و دیالیـز (۱۲و۱۷و۲۰و۲۴) ، در هپاتیـت حاد و مزمن(۱۱و ۱۳و ۲۱)، در سـیروز کبدی (۱۳و ۱۸و ۲۵) و در بسـیاری از بیماری‌های ویروسـی (۱۸و ۲۶) ، اختلالات کلیوی (۲۰و ۲۴و ۲۷و ۲۸) بیماری‌های اتوایمیون و بیماری‌های لنفوپرولیفراتیو رخ می‌دهد. این افزایش در دیسکرازی پلاسماسل ها و انواع تومورهای Solid نیز قابل مشاهده است. (۱۴و ۲۱و ۲۵و ۲۹و ۳۰)

$ß_2M$، به عنوان بخشـی از کمپلکس HLA، مسئول انتقال آنتی‌ژن‌های ویروسی روی سطح سلول‌های کبدی است. $ß_2M$ می‌تواند شاخصی در بروز ویروس HBV باشـد. طبق مطالعات انجام شده، در هپاتیت حاد ویروسی، هپاتیـت مزمن پایدار(۱۱و۲۱ و۲۲و ۲۴) ، سـیروز کبـدی و ناقلین بدون علامت هپاتیت B، افزایش چشـمگیر $ß_2M$ مشـاهده می‌شود.(۱۱و ۱۳و ۲۲و ۳۱) بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش $ß_2M$ سرم، می‌تواند شاخص مهمی در تغییرات التهابی کبد باشـد. تعدادی از مطالعات درباره‌ی هپاتیت C و B مزمن، افزایش مقادیر سـرمی $ß_2M$ را نشان داده‌اند.(۱۸و۳۰و ۳۱) هم چنین در بیماران مبتلا به هپاتیت C که با اینترفرون α درمان شـدند، مشخص شـد که $ß_2M$ می‌تواند نشـانگری از فعالیت بیماری و اثربخشی درمان هپاتیت باشد.(۱۳و ۲۲)

هم چنین مشخص شده است که مقادیر $ß_2M$ قبل و هنگام درمان هپاتیت می‌تواند در پیشگویی نتایج درمانی کمک‌کننده باشد.(۱۸و۲۵و۲۶)

بزاق مایع فیلتر شده از جریان خون است (۳۲) که بزاق کامل شامل مخلوط پیچیده ای از مایعات حاصل از ترشـحات غدد بزاقی و ترکیبات مختلف از منشـا غیر غدد بزاقی (سـلول های اپی تلیال دهان ، ترشـحات مخاطی، ترشـحات مایع شـیار لثه ای و .....) اسـت.(۳۳ و ۳۴) بزاق مکانیسم های دفاعی آنزیمی و ایمونولوژیکی علیه باکتری، ویروس و قارچ داشته، از مخاط محافظت می کند ، بهبود مخاط دهان را تسریع می بخشد.(۳۷- ۳۵) تا کنون بیش از ۲۰۰۰ پروتئین در بزاق شناسایی شده است.(۳۲)

در مطالعـه حاضر میزان $ß_2M$ در افـراد PCR^+ بالاتر از افراد PCR^- بود ولی تفاوت آماری معنی دار در دو جنس مشـاهده نشـد. بر خلاف مطالعه حاضر در مطالعه ای میزان $ß_2M$ در زنان بالاتر بود(۳۳) و همین طور میزان بالای این پروتیین در بیماران با بیماری اتوایمیون از جمله شوگرن و لوپوس اریتماتوز که در زنان هم شایع تر است مشاهده شده است.(۳۸)

جدول۱: میانگین غلظت β_2M بزاق در بیماران $HBsAg^+$ در دو گروه PCR^+ و PCR^-

	HBS Ag	فراوانی	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر	p- Value	آزمون t
غلظت β_2M	PCR^+	۲۵	۵/۲۸	۵/۴۵	۰/۷۶	۲۰/۷۶	۰/۰۰۳	۳/۱۳۸
	PCR^-	۲۱	۱/۵۱	۰/۷۷	۰/۷۶	۳/۴۳		

جدول ۲: میانگین غلظت β_2M بزاق در بیماران $HBs\ Ag^+$ بر اساس سابقه ی مصرف دارو

سابقه مصرف دارو	فراوانی (درصد)	غلظت بتادومیکروگلوبولین		آزمون t
		میانگین	انحراف معیار	
دارد	۲۱ (٪۴۵/۷)	۵/۶	۵/۸۸	$p=$ ۰/۰۰۲
ندارد	۲۵ (٪۵۴/۳)	۱/۸	۱/۰۱	

β_2M بـزاق ممکن اسـت در غدد بزاقی و حفره دهان تولید شـود و اندازه گیری غلظت β_2M ممکن است روش ارزشمندی برای تشخیص بیماری ها با انتشار لنفوسیتی در حفره دهان یا غدد بزاقی باشد.(۳۹)

نتایـج این مطالعه نشـان داد که غلظت β_2M در افـراد HBsAg مثبت و PCR^+ HBV-DNA در مقایسه با گروه PCR^- بیشتر بوده است و نشان دهندهٔ این مطلب است که افراد مبتلا به هپاتیت B در صورت تکثیر بیشتر ویروس دارای β_2M بیشتری نسبت به گروه PCR^- هستند . در این مطالعه ٪۷۲ بیماران PCR^+ از دارو (لامیوودین و آدفوویر) و ٪۸۵/۷ بیماران PCR^- هیچ دارویی استفاده نمی کردند و این اختلاف آماری معنی دار ($p<۰/۰۰۱$) بین دو گروه نشان دهنده پیگیری درمانی بیماران و کادر پزشکی ذیربط در مورد افراد PCR^+ بود. لاپینسـکی[1] (۲۵) با مطالعه بر روی ۲۴ بیمار مبتلا به هپاتیت c مزمن درمان شده β_2M,INF-α را به عنوان شاخص فعالیت دارو و اثر بخشی درمان مطرح می کند که نتایج مطالعه ما نیز مؤید همین مطلب می باشـد الفزینیوتیس[2] نیز در مطالعه خود نتیجه گرفت که یک رابطه مشـخص بین کاهش سـرمی β_2M و سـطح ویرولوژیک بیماری در بیمـاران مبتلا به هپاتیت مزمن و درمان منوتراپی با لامیوودین وجود دارد. (۳۲). بـا توجه به این که HBV-DNA سـرمی یـک فاکتور پیش بینی کننده پاسـخ ویرولوژیک بیماری است و اندازه گیری کمی HBV-DNA اطلاعات پروگنوستیک خوبی را ارائه می دهند که نیازمند دست آورد های آزمایشگاهی با کیفیت بسیار بالا می باشد ولی در مقابل ، تعیین β_2Mروشی ارزان و ساده است و می توان گفت که افزایش سطح بزاقی β_2M در هپاتیت B می تواند جایگزین مناسـبی جهت ارزیابی تکثیـر ویروس به جای روش PCR در سـرم باشـد.(۲۲و ۲۷ و ۳۲) آکدوکان در بررسی تغییرات ترانس آمیناز های کبدی ، β_2M و HBV-DNA به این نتیجه رسید که مقادیر β_2M می تواند در پیش بینی نتیجه درمان کمک کننده و کاربردی باشـد (۲۶) بـه طوری که غلظت بزاقی β_2M در مطالعه ما نیز علی رغم درمان با عوامل دارویی غیر از INF-α در گروه PCR^+ نسبت به گروه PCR^- بالاتر بود. یگان[3] از β_2M جهت مونیتورینگ بیماری اسـتفاده کرد.(۲۲) در این مطالعه میانگین مقادیر سـرمی β_2M در بیماران مبتلا در مقایسه میانگین بدون علامت بیشتر و با پیشرفت بیماری همراه بوده است که این اختلاف با توجه به تفاوت در بررسی β_2M در بزاق با مطالعه حاضر همخوانی داشت . از طرفی در مطالعه شایگان مقادیر β_2M سرمی در بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن PCR^+ و PCR^- با ۳۵ فرد سالم با یکدیگر مقاسه شده اند که در گروه PCR^+، میانگین غلظت β_2M بیشتر از گروه PCR^- و گروه کنترل بود کـه این تفاوت از نظر آماری معنـی دار بود.(۴) در مطالعه ما، ٪۷۲ بیماران PCR^+، دارو مصرف می‌کردند که بدون در نظر گرفتن طول مدت درمان در مقایسـه با بیماران PCR^- میانگین سطح غلظت بتادومیکروگلوبولین بزاق در گروه PCR^+ بیشـتر از گروه PCR^- اسـت و این اختلاف از نظر آماری معنادار است.

لاپنسکی در سال ۲۰۰۲، اعلام کرد که دربین بیماران مبتلا به هپاتیت C مزمن درمان شـده با اینترفرون α، غلظت β_2M شاخص پیشگویی کننده در فعالیت بیماری وپاسخ به درمان است و نتیجه گرفت که بیماران با درمان ناموفق هم چنان افزایش β_2M را نشـان می دادند که این نتیجه مغایر با مطالعات قبلی اسـت (۱۳و ۲۲) ، که احتمالا به علت تغییرات التهابی کبد بوده است،نتایج مطالعه ما نیز این افزایش β_2M را در بیماران بعد از درمان نشان داد.(۲۵)

کوپر[4] از ۱۵۸ نمونه سـرم گرفته شـده از بخش ویرولـوژی بانک خون از

1. Lapinski
2. Elefsiniotis
3. Yegane
4. Cooper

بیماران مبتلا به CMV[1]، منونوکلئوز عفونی، HSV[2] و VZV[3] ، نشان داد که افزایش مقادیر β_2M به وسیله اشکال مختلف عفونت ویروسی القا می‌شود.(۲۳) در بیماران مبتلا به AIDS ، افزایش میزان β_2M سرم در بیمارانی رخ می‌دهد که مبتلا به عفونت پنوموسیستیس کارینی یا سارکوم کاپوزی شده‌اند. نقش CMV در اتیولوژی سارکوم کاپوزی ، نشان دهنده رابطه بین CMV و افزایش β_2M سرم است.(۲۶)

افزایش β_2M سرم می‌تواند نشان دهنده نقص در فیلتراسیون گلومرولی یا افزایش تولید آن باشد. افزایش تولیدβ_2M ناشی از بیماری های اثر گذار بر سیستم ایمنی مثل عفونت ویروسی است، همان طور که در مطالعات قبلی مشخص شد بالاترین میزانβ_2M در آغاز فاز حاد هپاتیت است، هم چنین افزایش چشمگیر حین رد پیوند آلوگرافت کبد در ارتباط با میزان آسیب هپاتوسیت ها است.(۸ و ۲۷) مقادیرβ_2M سرم وابسته به سن بوده، در این مطالعه، بیماران هپاتیت C فعال مسن‌تر از هپاتیت C پایدار بودند با توجه به افزایش β_2M سرم در طول زندگی فرد که احتمالا در اثر ناتوانی در عملکرد مناسب کلیه است دخالت برخی فاکتورهای دیگر را نیز با همین فاکتور سن توجیه کرد.(۱۹و ۲۶)

در مطالعه حاضر با افزایش سن میزان آنزیم کاهش پیدا می کرد که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود.

میشاییل β_2M بزاق را در بیماران دیابتی (DM) و بیماری مزمن کلیه (CKD) و همودیالیز (HD) مقایسه کرد و در تمام این سه بیماری افزایش مقدار سرم را نشان داد ولی β_2M بزاق در بیماران HD مشابه قبل از همودیالیز بود. نشت کنترل نشده β_2M به درون بزاق در بیماران همودیالیز احتمالا به علت فقدان رابطه بین غلظت β_2M سرم و بزاق است، نشت بیش از حد و کنترل نشده در بزاق باعث غلظت بدون تناسب آن در بزاق می شود که ارتباطی با مقادیر اصلی آن در سرم ندارد. در مقابل رابطه بین β_2M سرم و بزاق در بیماران CKD کاملا بالا بود بنابراین آنالیز بزاق براساس نتایج مشاهده شده توجیه بسیار خوبی برای بررسی بیماری ها در مقابل بررسی سرم است.(۱۷)

همان طور که قبلا هم گفته شد سطوح HBV DNA PCR سرمی، اطلاعات پروگنوستیک خوبی ارائه می‌دهد،ولی تست گران قیمتی است بوده و نیازمند آزمایشگاه با تجهیزات و با کیفیت بالاست،در مقابل محاسبه β_2M سرمی با استفاده از تکنولوژی ارزیابی (microparticle enzyme immunoassay) روش ارزان‌تر و ساده تری است. می توان گفت که افزایش سطح بزاقی β_2M در هپاتیت B، می تواند جایگزین بررسی و ارزیابی تکثیر ویروس به روش PCR در سرم باشد، از طرفی بزاق به عنوان یک محیط در دسترس و با دارا بودن ترکیبات مطابق با سرم، می تواند به عنوان یک راهنمای تشخیصی مناسب، مورد استفاده قرار گیرد. هم چنین یک کلید تشخیصی راهگشا است که با سرعت بیشتر و صرف هزینه کمتر، مقرون به صرفه تر از روش‌های دیگر است.

1. Cytomegalo virus
2. Herpes simplex virus
3. Varicella zoster virus

بررسی β_2M بزاقی مزایای زیادی در درمان بیماران دارد چرا که توسط خود بیمار با روش ساده قابل جمع آوری است و خطر انتقال عفونت خیلی پایین تر از خون است.(۱۷) β_2M یکی از بهترین بیومارکر های بزاقی در تشخیص سندرم شوگرن اولیه است .(۴۰و ۴۱) در مطالعه ای بیماران با سندرم شوگرن بالاترین مقدار β_2M را در بزاق داشتند.(۴۲) همین طور میزان فعال شدن سیستم ایمنی در افراد با عفونت HIV می تواند با β_2M اندازه گیری شود . فعالیت ایمنی مبنای اصلی پاتوژنز ایدز است افزایش تولید سیتوکاین ها توسط افزایش میزان تولیدات سیتوکاین ها ی فعال از جمله β_2M نشان داده می شود میزان β_2M در بزاق افراد با عفونت HIV بیشتر از افراد سالم بود. و این افزایش در بزاق بیشتر از ترشحات مخاطی بود که می تواند به دلیل میزان انتقال انتخابی بالای β_2M در غدد بزاقی یا میزان افزایش یافته تولید موضعی توسط سلول های ایمنی موضعی مخاط دهان باشد.(۴۳)

هر چند در مطالعه ای که میزان β_2M در بیماران پریو انجام شده بود اختلافی در میزان β_2M بزاق گروه بیمار و سالم مشاهده نشد(۴۴) ولی شرایط عفونی و التهابی دهان ممکن است بر میزان β_2M تاثیر گذار باشد که در مطالعات آینده بهتر است در شرایط یکسان دهان بررسی صورت گیرد β_2M می تواند با پروسه ترشح فعال مداوم ، با تولید مایع بزاقی ، انتشار از سرم یا از یک انفیلتراسیون در غدد بزاقی تولید شده و وارد بزاق شود. دو پروسه اول غیر محتمل است چراکه بین غلظت β_2M و جریان بزاق رابطه کاملا عکس وجود ندارد و جریان بزاق نشان می دهد که β_2M به طور فعال ترشح نمی شود اگر ترشح β_2M به طورمستقیم مرتبط با تولید مایع بزاقی بود غلظت آن باید مداوم و یکسان می ماند که چنین چیزی اتفاق نمی افتد.(۱۲)

با توجه به جستجوی انجام شده، این مطالعه تنها مورد بررسی سطح β_2M بزاق و ارتباط آن با هپاتیت B است. β_2M بزاق در CKD مورد توجه و ارزیابی قرار گرفته است که مشابه سرم افزایش در بزاق نیز مشاهده شد. با توجه به مطالعات بسیار محدود بر روی بزاق در مطالعات آینده بهتر است میزان β_2M سرم و بزاق بیماران با هم مقایسه شود تا مزایای استفاده از بزاق مشخص تر شود و هم چنین ارتباط میزان ویروس با مقدار آنزیم بررسی گردد . در ضمن در مطالعات آینده بهتر است گروه با هپاتیت با گروه کنترل سالم هم مقایسه گردند.

نتیجه گیری:

با توجه به این که غلظت β_2M در موارد مثبت HBV-DNA بیش از موارد منفی HBV-DNA می باشد لذا به نظر می رسد که می تواند به عنوان شاخصی برای تکثیر ویروس مورد توجه قرار گیرد.

پیشنهادات

با توجه به ناقص بودن اطلاعات و مطالعات محدود در این زمینه ،مطالعات بیشتر پیشنهاد می گردد.

REFERENCES

1. Anderoli TE, Benjumin I, Wing EJ. Andreoli and Carpenter's CECIL Essentials of Medicine. 2010, Griggs RC, Chap:118; 466-80.
2. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL,et al. Harrison's Prinaiples of Internal Medicine, 2012, Dienstag JL, Chap: 306; 2067-88.
3. Itharatana K. Viral hepatitis B infection. Transmission and prevention for dentists. *J Dent Assoc Thai* 1988; 38:180-7.
4. Shaiegan M, Tarabadi FA, Amini Kafi-Abadi S, Samiee S, Babaie G,Talebian A. Evaluation of serumic beta-2 microglobulin in HBS Ag^{+}, HBV DNA PCR^{+} and HBS Ag^{+}, HBV DNA PCR^{-} subjects: as HBV replication marker. *J Blood* 2006;6:253-8.
5. Jia-Horng Kao. Diagnosis of Hepatitis B Virus Infection: Serological Diagnosis of HBV Infection. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 553-62.
6. Papatheodoridis GV, Hadzigannis SJ. Review articles: Current management of chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;19: 25-37.
7. 4th International Tehran Hepatitis Congress; Main Part: 12-14 Oct 2012. Imam Ali Congress center, Sh.Beheshti Medical University, Tehran, IRAN. Available at www.THC4.ir.
8. Kieslichova E, Schuck O, Smrckova I, Granatova J, Skibova J, Chiak M , et al. Liver transplantation and peri-operative changes to renal function. *Vnitr Lek* 2009;55:1126-34.
9. Tofigi H, Ghorbani M, Akhlaghi M, Yaghmaei A. Incidence of Hapatitis B and HIV virus at cadaver of IV Drug Abusers in Tehran. *Acta Med Iran* 2011;49:59-63.
10. Kim BK, Han KH, Ahn SH. Hepatitis B virus serology to predict antiviral response in chronic hepatitis B. *Digestion* 2011;84:29-34.
11. Man R-A de, Lindermans J, Schalm SW, Kate FJW. β2 Microglobulin and antiviral therapy for chronic hepatitis type B. *Antiviral Res* 1989;11:181-90.
12. Geest SA, Markusse HM, Swaak A J G. β2 microglobulin measurments in saliva of patients with primary Sjogren's syndrome: influence of flow. *Ann Rheum Dis* 1993;52:461-63.
13. Malaguarnera M, Restuccia S, Di Fazio I, Zoccolo AM, Trovato B A, Pistone G. Serum β2 microglobulin in Chronic Hepatitis C. *Digest Dis Sci* 1997;42:762-6.
14. Drueke TB, Mossy ZA. β2Microglobulin: Journal complication. *Semin Dial* 2009;22:378-80.
15. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:197-212.
16. Samaranayake L. Saliva as a diagnostic fluid. *Int Dent J* 2007;57:295-9.
17. Michelis R, Sela S, Ben-Zvi I, Nagler RM. Salivary β2microglobulin Analysis in chronic Kidney Disease and Hemodialyzed Patients. *Blood Purifi* 2008; 25: 505-9.
18. Akdogan M, Senturk H, Mert A, Tabak F, Ozbay G. Acute exacerbation during interferon alfa treatment of chronic hepatitis B: ferquency and relation to serum β2microglobulin levels. *J Gastroenterol* 2003;38:456-70.
19. Navazesh M, Kumar SK. Measuringsalivaryflow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc* 2008;139:35-40.
20. Nagler RM. Saliva Analysis for monitoring Dialysis and Renal Function. *J Clin Chemist* 2008;54:1415-7.
21. Yegane S, Revanli M, Taneli F. The Role of β2 microglobulin levels in monitoring chronic Hepatitis B. *Tohoko J Exp Med* 2004;203:53-7.
22. Westral R, Norkrans G, Weiland O, Schvarcz R, Fuchs D. Lymphocyte subsets and β2-microglobulin expression in chronic hapatitis C/non A, non B: Effects of Interferon-alpha treatment. *Clin Exp Immunol* 1992; 87:340-45.
23. Shabana AHM. Expression of beta-2 microglobulin by normal, benign and malignant oral epithelia. *Saudi Dent J* 1991;1:92-8.
24. Malaguarnera M, DiFazio I, Ferlito L, Pistone G, Laurino A, Vinci E, et al. Increase of serum beta2-microglobulin in patients affected by HCV correlated hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:937-9.
25. Lapinski TW, Kot A, Prokopowicz D. Concentration of β2microglobulin and percentage of CD4 lymphocytes in peripheral blood in patients with chronic HCV infection during IFN-α theropy. *Med Sci Monit* 2002;8:538-42.
26. Cooper EH, Forbes MA, Hambling MH. Serum β2microglobulin and C reactive protien concentrations in viral infections. *J Clin Pathol* 1984;37;1140-3.
27. Tramonti G, Cipollini I, Annichiarico C, Lorusso P, Panicucci E, Mariani G,et al. Creatinine clearance, cystatin C, beta2-microglobulin and TATI as markers of renal function in patients with proteinuria. *J Nephrol* 2012;30:234-41.
28. Wada T, Miyata T, Sakai H, Kurokawa K. Beta2-microglobulin and renal bone disease. *Perit Dial Int* 1999;19:413-6.
29. Suzuki K, Suk PJ, Hong C, Imaizumi S, Tagami K. Exercise-induced liver beta2-microglobulin expression is related to lower IgG clearance in the blood. *Brain Behav Immun* 2007;21:946-52.
30. Qu Y, Gao CF, Zhou K, Zhao YP, Xu MY, Lu LG. Serum N-glycomic markers in combination with panels improves the diagnosis of chronic hepatitis B.*Ann Hepatol* 2012;11:202-12.
31. Elefsiniotis IS, Scarmeas N, Glynou I, Pantazis KD , Kada H, Mavrigiannis C. Serum Beta-2 microglobuli levels in hepatitis B e antigen-negative Chronic hepatitis B patients under long term Lamivudine monotherapy: Relationship with virological breakthrough. *Can J Gastroenterol* 2004;18:307-13.
32. Fleissig Y, Reichenberg E, Redlich M, Zaks B, Deutsch O, Aframian DJ, etal.Comparative proteomic analysis of human oral fluids according to gender and age. *Oral Dis* 2010;16:831-8.
33. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *Int J Infect Dis* 2010;14:e184-8.
34. Voss HF. Saliva as a fluid for measurement of estriol levels. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:S226-31.
35. AV Nieuw Amerongen, ECI Veerman. Saliva- the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002;8:12-22.
36. Seidel BM, Schubert S, Schulze B, Borte M. Secretory IgA,

free secretory component and IgD in saliva of newborn infants. *Early Hum Dev* 2001;62:159-64.
37. Schipper RG, Silletti E, VingerhoedsMH.Saliva as research material: biochemical, physicochemical and practical aspects. *Arch Oral Biol* 2007;52:1114-35.
38. Castro J, Jimenez-Alonso J, Sabio JM,Rivera-Cívico F, Martín-Armada M, Rodríguez MA, et al .Salivary and serum beta2-microglobulin and gamma-glutamyltransferase in patients with primary Sjogren syndrome and Sjogren syndrome secondary to systemic lupus erythematosus. *Clin Chim Acta* 2003;334:225–31.
39. Bu Y, Du D, Zhao Y. The change of salivary beta 2-microglobulin concentration in normal adults. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 1998;20:313-5.
40. Hu S, Gao K, Pollard R, Arellano-Garcia M, Zhou H, Zhang L, et al.Preclinical validation of salivary biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010 ;62:1633-8.
41. Du D, Pu Y, Zhao Y. The value of salivary beta 2 microglobulin concentration for diagnosis of Sjögren'ssyndrome . *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 1997;19:72-4.
42. Asashima H, Inokuma S, Nakachi S, Matsuo Y, Rokutanda R, Hagiwara K, et al.Extremely high salivary β(2) -microglobulin and Na(+) levels in a Sjögren syndrome patient. *Int J Rheum Dis* 2012;15:e31-3.
43. Nishanian P, Aziz N, Chung J, Detels R, Fahey JL.Oral fluids as an alternative to serum for measurement of markers of immune activation. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5:507-12.
44. Akalin FA, Bulut S, YavuzyilmazE.beta 2-Microglobulin levels in serum and saliva of patients with juvenile periodontitis. *J Nihon Univ Sch Dent* 1993;35:230-4.