

## بررسی ارتباط غلظت بتا دو میکروگلوبولین بزاق و تکثیر ویروس در افراد HBV DNA PCR<sup>+</sup>, PCR<sup>-</sup>

حمیدرضا عبدالصمدی<sup>۱</sup>، پیمان عینی<sup>۲</sup>، نگین روناسی<sup>۳</sup>، مهرداد حاجیلویی<sup>۴</sup>، عباس مقیم بیگی<sup>۵</sup>، پوران دخت داوودی<sup>۶</sup>، فاطمه احمدی متمایل<sup>۷</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه بیماری های دهان، دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران  
<sup>۲</sup> استادیار، گروه بیماری های عفونی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران  
<sup>۳</sup> پژوهشگر، گروه بیماری های دهان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران  
<sup>۴</sup> استادیار، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران  
<sup>۵</sup> دانشیار، گروه آمار زیستی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران  
<sup>۶</sup> استادیار، گروه بیماری های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران  
<sup>۷</sup> 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. بتادومیکروگلوبولین ( $\beta_2M$ )، به عنوان بخشی از کمپلکس HLA<sup>۲</sup>، مسئول انتقال آنتی ژن های ویروسی از جمله ویروس هپاتیت B (HBV) بر روی سطح سلول های کبدی است. از این رو هدف از این مطالعه، بررسی غلظت  $\beta_2M$  بزاق به عنوان نشانگر تکثیر ویروس در افراد HBV DNA PCR<sup>+</sup>, HBV DNA PCR<sup>-</sup> و HBs Ag<sup>+</sup>, HBs Ag<sup>-</sup> است.

#### روش بررسی:

در این مطالعه مورد-شاهدی، ۲۵ بیمار PCR<sup>+</sup> و ۲۱ بیمار PCR<sup>-</sup> از بیماران HBs Ag<sup>+</sup> وارد مطالعه شدند. از تمامی بیماران ۵ سی سی نمونه بزاق تهیه شد و سطح  $\beta_2M$  بزاقی به روش نفلومتری اندازه گیری شد. سپس داده ها توسط تست های توصیفی، مجذور کای و آزمون t مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### یافته ها:

در این بررسی، ۲۵ مرد (۵۴/۳٪) و ۲۱ زن (۴۵/۷٪) با میانگین سنی  $35/72 \pm 11/86$  سال مورد بررسی قرار گرفتند. ۷۲٪ بیماران PCR<sup>+</sup>، دارو مصرف می کردند و در مقابل، ۸۵/۷٪ از بیماران PCR<sup>-</sup>، دارویی مصرف نمی کردند ( $p < 0/001$ ). میانگین غلظت بزاقی بتادومیکروگلوبولین در گروه PCR<sup>+</sup> ( $5/28 \pm 5/45$ ) میلی گرم بر دسی لیتر) بیشتر از گروه PCR<sup>-</sup> ( $1/51 \pm 0/77$ ) میلی گرم بر دسی لیتر) بود که این اختلاف از نظر آماری معنادار بود ( $p = 0/003$ ).

#### نتیجه گیری:

سطح بتادومیکروگلوبولین بزاق می تواند به عنوان نشانگر تکثیر ویروس در بیماران مبتلا به هپاتیت B مورد استفاده قرار گیرد.  
کلید واژه: بتادومیکروگلوبولین، بزاق، هپاتیت B، تکثیر ویروس

گوارش / دوره ۱۷، شماره ۴ / زمستان ۱۳۹۱ / ۲۳۵-۲۲۸

1.  $\beta(2)$ -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 - ۸۱۱

نمابر: ۸۳۸۱۰۸۵ - ۸۱۱

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. (۱ و ۲) بر طبق آخرین آمار سازمان بهداشت جهانی، در حال حاضر، هپاتیت به عنوان یکی از گرفتارهای مهم در نظام سلامت و بهداشت است که بیش از ۳۵۰ میلیون نفر به صورت مزمن به این بیماری مبتلا شده اند (۳-۵) 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

ها را نیز دارد. (۱۷)

در سال ۲۰۰۲، آکدوکان<sup>۳</sup> و همکاران، نشان دادند که مقادیر  $\beta_2M$  سرمی قبل و حین درمان، در پیشگویی پاسخ به درمان هپاتیت B کمک کننده است. این مطالعه نشان داد که سطح سرمی  $\beta_2M$  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)

باین حال متاسفانه اطلاعات محدودی در رابطه با سطح  $\beta_2M$  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 و انجام آن حتی توسط خود بیمار و یک روش غیرتهاجمی است لذا با توجه به نکات فوق، به نظر می رسد مونیترینگ  $\beta_2M$  بزاق بتواند به عنوان یک شاخص قابل اعتماد در بررسی روند بیماری، پاسخ به درمان و پیگیری بیماران مد نظر قرار گیرد 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 (۱۳۹۰ و ۱۳۸۹) آزمایش PCR جهت بررسی HBV DNA انجام داده بودند و 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 داروهای 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 و ۱۵۰ مورد هپاتیت B انتخاب شدند که از این 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. (۲۱) مقدار ویروس (viral load) جزء هدف مطالعه حاضر نبود بنابراین این در زمان نمونه گیری مقدار ویروس اندازه گیری نشد. جمع آوری بزاق با استفاده از روش Spitting (۱۹) صورت گرفت. جمع آوری تمامی نمونه ها در یک محدوده ی زمانی از روز یعنی بین ساعت ۸-۱۰ صبح و در فصل زمستان صورت گرفت تا حداقل تغییرات بزاقی وجود داشته

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 که ۳۵٪ 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 HBe Ag و HBs Ag می شوند. (۹ و ۱۰) 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-Ag طی هفته های ۱۲-۸ بعد از آلودگی است (۱۱ و ۱۲) 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 می شوند. (۱۱ و ۱۲) بتادومیکرو گلوبولین ( $\beta_2M$ )، یک زنجیره پلی پپتیدی منفرد شامل ۱۸ اسید آمینه فاقد کربوهیدرات با وزن مولکولی ۱۱/۸ کیلو دالتون است که زنجیره بتا HLA-1 را تشکیل می دهد و در سطح اکثر سلول های هسته دار و در بیشتر مایعات بدن مانند خون، بزاق، ادرار، اسپرم، مایع مغزی نخاعی، مایع سینوویال، مایع آمیویتیک و شیر وجود دارد. (۱۱ و ۱۲)  $\beta_2M$  به عنوان بخشی از کمپلکس HLA-1، مسئول انتقال آنتی ژن ویروس روی سطح سلول های کبدی (۱۳) میزان نرمال  $\beta_2M$  سرمی ۱/۵-۳ ng/l و میزان طبیعی آن در بزاق ۰-۰/۳۸ ng/l 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  $\beta_2M$  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 میشابیل<sup>۱</sup> و همکاران نشان داد که آنالیز  $\beta_2M$  بزاقی یک روش مطمئن و قابل اعتماد برای تعیین سطح سرمی  $\beta_2M$  در بیماران مبتلا به CKD<sup>۲</sup> است و این شیوه توانایی پیشگویی نسبت به عواقب این بیماری

1. Michelis
2. Chronic Kidney Disease

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 هیپاتوسیت ها و میزان التهاب سلول های کبدی در هیپاتیت B مشخص شده است. (۲۱) و  $\beta_2M$  (۲۲) زنجیره ی بتا HLA-1 را شکل می دهد و در سطح سلولی اکثر سلول های هسته دار و بیشتر مایعات بدن وجود دارد. (۲۳) مطالعه حاضر افزایش میزان  $\beta_2M$  را در گروه  $PCR^+$  نشان داد.

افزایش تولید  $\beta_2M$  در پاسخ به فاکتورهای خاصی مانند التهاب، اسیدوز، درمان با کلسیتریول و دیالیز (۱۲ و ۱۷ و ۲۰ و ۲۴)، در هیپاتیت حاد و مزمن (۱۱ و ۱۳ و ۲۱)، در سیروز کبدی (۱۳ و ۱۸ و ۲۵) و در بسیاری از بیماری های ویروسی (۱۸ و ۲۶)، اختلالات کلیوی (۲۰ و ۲۴ و ۲۷ و ۲۸) بیماری های اتوایمیون و بیماری های لنفوپرولیفراتیو رخ می دهد. این افزایش در دیسکرازی پلاسماسل ها و انواع تومورهای Solid نیز قابل مشاهده است. (۱۴ و ۲۱ و ۲۵ و ۲۹ و ۳۰)

$\beta_2M$ ، به عنوان بخشی از کمپلکس HLA، مسئول انتقال آنتی ژن های ویروسی روی سطح سلول های کبدی است.  $\beta_2M$  می تواند شاخصی در بروز ویروس HBV باشد. طبق مطالعات انجام شده، در هیپاتیت حاد ویروسی، هیپاتیت مزمن پایدار (۱۱ و ۲۱ و ۲۲ و ۲۴)، سیروز کبدی و ناقلین بدون علامت هیپاتیت B، افزایش چشمگیر  $\beta_2M$  مشاهده می شود. (۱۱ و ۱۳ و ۲۲ و ۳۱) بنابراین به نظر می رسد که افزایش  $\beta_2M$  سرم، می تواند شاخص مهمی در تغییرات التهابی کبد باشد. تعدادی از مطالعات درباره ی هیپاتیت C و B مزمن، افزایش مقادیر سرمی  $\beta_2M$  را نشان داده اند. (۱۸ و ۳۰ و ۳۱) هم چنین در بیماران مبتلا به هیپاتیت C که با اینترفرون  $\alpha$  درمان شدند، مشخص شد که  $\beta_2M$  می تواند نشانگری از فعالیت بیماری و اثربخشی درمان هیپاتیت باشد. (۱۳ و ۲۲)

هم چنین مشخص شده است که مقادیر  $\beta_2M$  قبل و هنگام درمان هیپاتیت می تواند در پیشگویی نتایج درمانی کمک کننده باشد. (۱۸ و ۲۵ و ۲۶) بزاق مایع فیلتر شده از جریان خون است (۳۲) که بزاق کامل شامل مخلوط پیچیده ای از مایعات حاصل از ترشحات غدد بزاقی و ترکیبات مختلف از منشأ غیر غدد بزاقی (سلول های اپی تلیال دهان، ترشحات مخاطی، ترشحات مایع شیار لثه ای و ..... ) است. (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 مطالعه حاضر میزان  $\beta_2M$  در افراد  $PCR^+$  بالاتر از افراد  $PCR^-$  بود ولی تفاوت آماری معنی دار در دو جنس مشاهده نشد. بر خلاف مطالعه حاضر در مطالعه ای میزان  $\beta_2M$  در زنان بالاتر بود (۳۳) و همین طور میزان بالای این پروتئین در بیماران با بیماری اتوایمیون از جمله شوگر و لوپوس اریتماتوز که در زنان هم شایع تر است مشاهده شده است. (۳۸)

باشد، با استفاده از روش فوق، حدود ۵ سی سی بزاق تهیه و بلافاصله درون یخ قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس نمونه ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان جمع آوری تمامی نمونه ها منجمد شدند. پس از پایان جمع آوری، تمامی نمونه ها از حالت انجماد خارج و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۸۰۰g سانتریفوژ شدند تا سلول های سنگفرشی و دبری های سلولی، جدا گردند. سپس حدود ۲ میلی لیتر از مایع سانتریفوژ شده در لوله های پلاستیکی درب دار و استریل (falcon) در حالی که درون یخ قرار داده شده بودند جهت اندازه گیری مقادیر  $\beta_2M$  مورد استفاده قرار گرفتند. اندازه گیری سطح  $\beta_2M$  بزاق توسط کیت (HUMAN MININEPH) ساخت شرکت Binding site کشور انگلستان و با روش نفلومتری انجام گرفت. (۱۱ و ۲۰)

کلیه داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و با استفاده از آزمون های توصیفی، مجذور کای و T مستقل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و از جهت آماری مقدار  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

#### یافته ها :

در این مطالعه، ۲۱ بیمار HBs Ag مثبت 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 ( $p=0/186$ ). میانگین سنی افراد شرکت کننده در این بررسی،  $35/72 \pm 11/86$  سال بود و محدوده سنی ۶۱-۱۴ سال بود که این اختلاف سنی از نظر آماری، معنادار نبود ( $p=0/48$ ).

۷۲٪ بیماران  $PCR^+$  جهت درمان، دارو مصرف می کردند و در مقابل، ۸۵/۷٪ از بیماران  $PCR^-$ ، دارویی مصرف نمی کردند ( $p < 0/001$ ). بین غلظت بتا دومیکروگلوبولین بزاق در دو گروه  $PCR^+$  و  $PCR^-$  اختلاف معناداری از نظر آماری وجود داشت ( $p=0/003$ ) که در جدول ۱ مشخص شده است. ضمن این که غلظت این شاخص در مردان و زنان نسبت به هم تفاوت معناداری نداشت ( $p=0/572$ ). ضریب همبستگی پیرسون بین غلظت بتادومیکروگلوبولین و سن برابر  $-0/229$  بود که با توجه به  $p=0/126$ ، از نظر آماری معنی دار نبود. با توجه به جدول ۲ نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت بتادومیکروگلوبولین بزاق در بیمارانی که تحت درمان دارویی بودند نسبت به بیمارانی است که دارو مصرف نمی کردند به طور معناداری بالا بود ( $p=0/002$ ).

#### بحث :

HBV-DNA به عنوان یک نشانگر ویروسی در همانند سازی HBV مطرح است و از نظر حساسیت و کمیت دارای بالاترین ارزش تشخیصی است. (۲۱) منفی شدن HBeAg می تواند نشان دهنده کاهش همانند سازی ویروس تلقی گردد ولی با این حال در برخی بیماران با وجود HBeAb<sup>+</sup> هم

جدول ۱: میانگین غلظت  $\beta_2M$  بزاق در بیماران  $HBsAg^+$  در دو گروه  $PCR^+$  و  $PCR^-$ 

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

غلظت  $\beta_2M$ جدول ۲: میانگین غلظت  $\beta_2M$  بزاق در بیماران  $HBsAg^+$  بر اساس سابقه ی مصرف دارو

آزمون t	غلظت بتادومیکرو گلوبولین	فراوانی (درصد)	سابقه مصرف دارو
	انحراف معیار	میانگین	
p= ۰/۰۰۲	۵/۸۸	۵/۶	دارد
	۱/۰۱	۱/۸	ندارد

$\beta_2M$  می تواند در پیش بینی نتیجه درمان کمک کننده و کاربردی باشد (۲۶) به طوری که غلظت بزاقی  $\beta_2M$  در مطالعه ما نیز علی رغم درمان با عوامل دارویی غیر از  $INF-\alpha$  در گروه  $PCR^+$  نسبت به گروه  $PCR^-$  بالاتر بود. یگان<sup>۳</sup> از  $\beta_2M$  جهت مونیتورینگ بیماری استفاده کرد. (۲۲) در این مطالعه میانگین مقادیر سرمی  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  در بزاق با مطالعه حاضر همخوانی داشت. از طرفی در مطالعه شایگان مقادیر سرمی  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  بیشتر از گروه  $PCR^-$  و گروه کنترل بود که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود. (۴) در مطالعه ما، ۷۲٪ بیماران  $PCR^+$ ، دارو مصرف می کردند که بدون در نظر گرفتن طول مدت درمان در مقایسه با بیماران  $PCR^-$  میانگین سطح غلظت بتادومیکرو گلوبولین بزاق در گروه  $PCR^+$  بیشتر از گروه  $PCR^-$  است و این اختلاف از نظر آماری معنادار است.

لاپنسکی در سال ۲۰۰۲، اعلام کرد که در بین بیماران مبتلا به هپاتیت C مزمن درمان شده با اینترفرون  $\alpha$ ، غلظت  $\beta_2M$  شاخص پیشگویی کننده در فعالیت بیماری و پاسخ به درمان است و نتیجه گرفت که بیماران با درمان ناموفق هم چنان افزایش  $\beta_2M$  را نشان می دادند که این نتیجه مغایر با مطالعات قبلی است (۳ و ۲۲)، که احتمالاً به علت تغییرات التهابی کبد بوده است. نتایج مطالعه ما نیز این افزایش  $\beta_2M$  را در بیماران بعد از درمان نشان داد. (۲۵)

کوپر<sup>۴</sup> از ۱۵۸ نمونه سرم گرفته شده از بخش ویروسوزی بانک خون از

$\beta_2M$  بزاق ممکن است در غدد بزاقی و حفره دهان تولید شود و اندازه گیری غلظت  $\beta_2M$  ممکن است روش ارزشمندی برای تشخیص بیماری ها با انتشار لنفوسیتی در حفره دهان یا غدد بزاقی باشد. (۳۹) نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت  $\beta_2M$  در افراد  $HBsAg$  مثبت و  $PCR^+$   $HBV-DNA$  در مقایسه با گروه  $PCR^-$  بیشتر بوده است و نشان دهنده این مطلب است که افراد مبتلا به هپاتیت B در صورت تکثیر بیشتر ویروس دارای  $\beta_2M$  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. لاپنسکی<sup>۱</sup> (۲۵) با مطالعه بر روی ۲۴ بیمار مبتلا به هپاتیت C مزمن درمان شده  $\beta_2M$ ،  $INF-\alpha$  را به عنوان شاخص فعالیت دارو و اثر بخشی درمان مطرح می کند که نتایج مطالعه ما نیز مؤید همین مطلب می باشد الفزینیوتیس<sup>۲</sup> نیز در مطالعه خود نتیجه گرفت که یک رابطه مشخص بین کاهش سرمی  $\beta_2M$  و سطح ویرولوژیک بیماری در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن و درمان منوتراپی با لامیوودین وجود دارد. (۳۲) با توجه به این که  $HBV-DNA$  سرمی یک فاکتور پیش بینی کننده پاسخ 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 بالایی باشد ولی در مقابل، تعیین  $\beta_2M$  روشی ارزان و ساده است و می توان گفت که افزایش سطح بزاقی  $\beta_2M$  در هپاتیت B می تواند جایگزین مناسبی جهت ارزیابی تکثیر ویروس به جای روش PCR در سرم باشد. (۲۲ و ۲۷ و ۳۲) آکدوکان در بررسی تغییرات ترانس آمیناز های کبدی،  $\beta_2M$  و  $HBV-DNA$  به این نتیجه رسید که مقادیر

3. Yegane  
4. Cooper

1. Lapinski  
2. Elefsiniotis

بررسی  $\beta_2M$  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.  $\beta_2M$  یکی از بهترین بیومارکر های بزاقی در تشخیص سندرم شوگرن اولیه است. (۴۰ و ۴۱) در مطالعه ای بیماران با سندرم شوگرن بالاترین مقدار  $\beta_2M$  را در بزاق داشتند. (۴۲) همین طور میزان فعال شدن سیستم ایمنی در افراد با عفونت HIV می تواند با  $\beta_2M$  اندازه گیری شود. فعالیت ایمنی مبنای اصلی پاتوژن ایدز است افزایش تولید سیتوکاین ها توسط افزایش میزان تولیدات سیتوکاین های فعال از جمله  $\beta_2M$  نشان داده می شود میزان  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  در بیماران پرو انجام شده بود اختلافی در میزان  $\beta_2M$  بزاق گروه بیمار و سالم مشاهده نشد (۴۴) ولی شرایط عفونی و التهابی دهان ممکن است بر میزان  $\beta_2M$  تاثیر گذار باشد که در مطالعات آینده بهتر است در شرایط یکسان دهان بررسی صورت گیرد  $\beta_2M$  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 چرا که بین غلظت  $\beta_2M$  و جریان بزاق رابطه کاملاً عکس وجود ندارد و جریان بزاق نشان می دهد که  $\beta_2M$  به طور فعال ترشح نمی شود اگر ترشح  $\beta_2M$  به طور مستقیم 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  $\beta_2M$  بزاق و ارتباط آن با هپاتیت B است.  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  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.

بیماران مبتلا به  $CMV^1$ ، منونوکلئوز عفونی،  $HSV^2$  و  $VZV^3$ ، نشان داد که افزایش مقادیر  $\beta_2M$  به وسیله اشکال مختلف عفونت ویروسی القا می شود. (۲۳) در بیماران مبتلا به AIDS، افزایش میزان  $\beta_2M$  سرم در بیمارانی رخ می دهد که مبتلا به عفونت پنوموسیستیس کارینی یا سارکوم کاپوزی شده اند. نقش  $CMV$  در اتیولوژی سارکوم کاپوزی، نشان دهنده رابطه بین  $CMV$  و افزایش  $\beta_2M$  سرم است. (۲۶)

افزایش  $\beta_2M$  سرم می تواند نشان دهنده نقص در فیلتراسیون گلوامرولی یا افزایش تولید آن باشد. افزایش تولید  $\beta_2M$  ناشی از بیماری های اثر گذار بر سیستم ایمنی مثل عفونت ویروسی است، همان طور که در مطالعات قبلی مشخص شد بالاترین میزان  $\beta_2M$  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) مقادیر  $\beta_2M$  سرم وابسته به سن بوده، در این مطالعه، بیماران هپاتیت C فعال مسن تر از هپاتیت C پایدار بودند با توجه به افزایش  $\beta_2M$  سرم در طول زندگی فرد که احتمالاً در اثر ناتوانی در عملکرد مناسب کلیه است دخالت برخی فاکتورهای دیگر را نیز با همین فاکتور سن توجیه کرد. (۱۹ و ۲۶)

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

میشاییل  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  بزاق در بیماران HD مشابه قبل از همودیالیز بود. نشت کنترل نشده  $\beta_2M$  به درون بزاق در بیماران همودیالیز احتمالاً به علت فقدان رابطه بین غلظت  $\beta_2M$  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  $\beta_2M$  سرم و بزاق در بیماران CKD کاملاً 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 قبلاً هم گفته شد سطوح HBV DNA PCR سرمی، اطلاعات پروگنوستیک خوبی ارائه می دهد، ولی تست گران قیمتی است بوده و نیازمند آزمایشگاه با تجهیزات و با کیفیت بالاست، در مقابل محاسبه  $\beta_2M$  سرمی با استفاده از تکنولوژی ارزیابی (microparticle enzyme immunoassay) روش ارزان تر و ساده تری است. می توان گفت که افزایش سطح بزاقی  $\beta_2M$  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 روش های دیگر است.

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



## 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 Principles 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<sup>+</sup>, HBV DNA PCR<sup>+</sup> and HBS Ag<sup>+</sup>, HBV DNA PCR<sup>-</sup> subjects: as HBV replication marker. *J Blood* 2006;6:253-8.
5. Jia-Hong Kao. Diagnosis of Hepatitis B Virus Infection: Serological Diagnosis of HBV Infection. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 553-62.
6. Papatheodoridis GV, Hadziganis 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 Hepatitis 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.  $\beta$ 2 Microglobulin and antiviral therapy for chronic hepatitis type B. *Antiviral Res* 1989;11:181-90.
12. Geest SA, Markusse HM, Swaak A J G.  $\beta$ 2 microglobulin measurements in saliva of patients with primary Sjogren's syndrome: influence of flow. *Ann Rheum Dis* 1993;52:461-63.
13. Malaguamera M, Restuccia S, Di Fazio I, Zoccolo AM, Trovato B A, Pistone G. Serum  $\beta$ 2 microglobulin in Chronic Hepatitis C. *Digest Dis Sci* 1997;42:762-6.
14. Druke TB, Mossy ZA.  $\beta$ 2Microglobulin: 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. Samaranyake L. Saliva as a diagnostic fluid. *Int Dent J* 2007;57:295-9.
17. Michelis R, Sela S, Ben-Zvi I, Nagler RM. Salivary  $\beta$ 2microglobulin 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: frequency and relation to serum  $\beta$ 2microglobulin levels. *J Gastroenterol* 2003;38:456-70.
19. Navazesh M, Kumar SK. Measurementsalivaryflow: 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  $\beta$ 2 microglobulin levels in monitoring chronic Hepatitis B. *Tohoku J Exp Med* 2004;203:53-7.
22. Westral R, Norkrans G, Weiland O, Schvarcz R, Fuchs D. Lymphocyte subsets and  $\beta$ 2-microglobulin expression in chronic hepatitis 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. Malaguamera 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  $\beta$ 2microglobulin and percentage of CD4 lymphocytes in peripheral blood in patients with chronic HCV infection during IFN- $\alpha$  therapy. *Med Sci Monit* 2002;8:538-42.
26. Cooper EH, Forbes MA, Hambling MH. Serum  $\beta$ 2microglobulin 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, Mavrianni C. Serum Beta-2 microglobulin 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, et al. 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's syndrome. *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  $\beta(2)$ -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, Yavuzilmaz E. beta 2-Microglobulin levels in serum and saliva of patients with juvenile periodontitis. *J Nihon Univ Sch Dent* 1993;35:230-4.

Archive of SID