

بررسی میزان آلفاآمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس راجعه لب

ماریه هنرمند^{۱*}، علیرضا نخعی^۲، شیرین شایسته^۳

^۱ دانشیار، عضو مرکز تحقیقات بیماریهای دهان و دندان، گروه بیماریهای دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

^۲ استاد، عضو مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

^۳ دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۹۸/۱۰/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۳

Evaluation of Salivary Alpha-Amylase Level in Patients with Recurrent Herpes Labialis

Marieh Honarmand^{1*}, Alireza Nakhaee², Shirin Shayeste³

¹ Associated Professor, Oral and Dental Disease Research Center, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

² Professor, Cellular and Molecular Research Center, Department of Biochemistry, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

³ Dentist, Dental School, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

Received: 18 January 2020; Accepted: 22 February 2020

Introduction: Recurrent herpes simplex labialis, also known as oral herpes, is one of the most common painful oral ulcers mostly observed on the oral mucosa or lips. On the other hand, salivary alpha-amylase (sAA) is a secretory protein which increases in stressful situations. The current study aimed to evaluate salivary alpha-amylase in patients with recurrent herpes labialis (RHL).

Materials and Methods: In this case-control study, the unstimulated saliva of 60 patients (30 patients with RHL and 30 controls) referred to Oral Medicine, School of Dentistry of Zahedan were collected. Salivary alpha-amylase levels were measured using spectrophotometry methods, and the obtained data were analyzed in SPSS software (version 19) using t-test. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: The average levels of alpha-amylase in the saliva of patients with RHL and healthy individuals were reported at 459.68 ± 192.05 U/L and 290.29 ± 166.51 U/L, respectively. This difference was statistically significant ($P=0.001$).

Conclusion: As evidenced by the obtained results, the level of alpha-amylase enzyme was significantly higher in the recurrent period of herpes labialis, as compared to recovery period and the control group. This finding is indicative of a possible association between salivary alpha-amylase levels and herpes labialis.

Key words: Recurrent herpes labialis, Saliva, alpha-amylase

Corresponding Author: honarmand56@yahoo.com, honarmand@zaums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2020; 44(2): 184-90.

چکیده

مقدمه: هرپس راجعه یکی از زخم های دهانی شایع است که بصورت دردناک، بیشتر روی لب ها ظاهر می شود. از طرفی آلفاآمیلاز بزاق، پروتئین ترشحی است که در شرایط پراسترس سطح آن افزایش پیدا می کند. این مطالعه با هدف بررسی میزان آلفاآمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس راجعه لب صورت گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه ی مورد-شاهدی، بزاق غیرتحریکی ۶۰ فرد مراجعه کننده (۳۰ فرد مبتلا به هرپس لب و ۳۰ فرد بعنوان شاهد) به بخش بیماری های دهان دانشکده دندانپزشکی زاهدان جمع آوری شد. سطح آلفاآمیلاز بزاق به روش اسپکتروفوتومتری اندازه گیری شد و اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS با ویرایش ۱۹ و آزمون t-test تجزیه و تحلیل گردید. $P < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته ها: میانگین سطح آلفاآمیلاز تام بزاق در افراد مبتلا به هرپس راجعه لب $459/68 \pm 192/05$ IU/L و در افراد سالم $290/29 \pm 166/51$ IU/L بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنادار بود. ($P=0/001$)

* مولف مسؤؤل، نشانی: زاهدان، دانشکده دندانپزشکی، تلفن: ۰۹۱۵۱۴۲۳۰۱۹

E-mail: honarmand56@yahoo.com, honarmand@zaums.ac.ir

نتیجه گیری: سطح آنزیم آلفاآمیلاز در دوره ی عود هرپس لب به طور معناداری بیشتر از دوره ی بهبودی و گروه شاهد بود که احتمال وجود ارتباط بین میزان آلفاآمیلاز بزاق و هرپس لب را نشان می دهد.

کلمات کلیدی: هرپس راجعه لب، بزاق، آلفاآمیلاز
مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۹ دوره ۴۴ / شماره ۲: ۹۰-۱۸۴.

مقدمه

وجود دارد و در هر دو شرایط استرس فیزیکی و روانی افزایش غلظت این آنزیم دیده می شود.^(۹-۶)

استرس منجر به پاسخ های مختلف سیستم فیزیولوژیک با افزایش فعالیت در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) و سیستم سمپاتیک-آدرنال-مدولاری (SAM) می شود. ترشح بیشتر آلفاآمیلاز بزاق با افزایش فعالیت محور SAM دیده شده است. برخی تحقیقات بیان کرده اند که آلفاآمیلاز می تواند فعالیت آدرنرژیک را نشان دهد و بنابراین ممکن است به عنوان معیار قابل قبول فعالیت سیستم سمپاتیک-آدرنال-مدولاری در طول استرس مورد استفاده قرار گیرد.^(۱۱،۱۰)

در برخی مطالعات نیز به افزایش بروز هرپس راجعه لب در شرایط پر استرس اشاره شده است.^(۱۴-۱۲) استرس با تشدید علائم عفونت اولیه HSV1 و عود ویروس، همراهی قوی دارد.^(۱۵) استرس منجر به ساپرس سیستم ایمنی و در نتیجه عدم نظارت این سیستم بر تکثیر ویروس می شود که این شرایط منجر به شدت بیماری اولیه و عود آن می شود. ریسپتورهای دو هورمون اصلی استرس، شامل کورتیزول و اپی نفرین، بوسیله انواع مختلف نورونهای آلوده به ویروس عرضه می شوند. بنابراین اپی نفرین و کورتیزول می توانند در تشدید تکثیر ویروس در نورون های آلوده شرکت کنند.^(۱۶)

با توجه به این که بروز هرپس لب در شرایط پر استرس بیش تر دیده می شود و در برخی مطالعات به تغییرات میزان آلفاآمیلاز در شرایط پر استرس اشاره شده است، این مطالعه

هرپس راجعه لب یکی از زخم های رایج دهان است که بصورت یک یافته معمول در میان ۲۰-۴۰ درصد بالغین مشاهده می شود. این زخم ها می توانند آزار زیادی برای بیمار ایجاد کرده و با فعالیت های روز مره بیمار تداخل داشته باشند.^(۱،۲)

HSV-1 یک آلفا هرپس ویروس است که مسئول عفونت های ناحیه ی بالای کمر است. این ویروس ابتدا در دوره کودکی و نوجوانی پس از اولین تماس منجر به ژنژیواستوماتیت اولیه می شود. سپس ویروس هرپس سیمپلکس (HSV1) وارد اکسون های اعصاب حسی می شود و ایجاد عفونت خفته و مزمن در گانگلیون های حسی می نماید و سپس با عوامل مستعدکننده، مانند استرس و تضعیف سیستم ایمنی بروز می نماید.^(۳،۱)

از طرفی بزاق به عنوان یک عنصر مهم و حیاتی برای حفظ سلامت مخاط دهان در نظر گرفته شده است.^(۴) جریان بزاق و ترکیبات آن تأثیر عمده ای در جلوگیری از تشکیل جرم، بیماری پریدنتال و پوسیدگی ها ایفا می کند.^(۵)

α -آمیلاز بزاقی (SAA) یکی از فراوان ترین مواد بزاق است و حدود ۱۰-۲۰ درصد از کل محتوای پروتئین بزاق را تشکیل می دهد. SAA از سلول های آسینار اپی تلیالی بسیار تمایز یافته غدد بزاقی و عمدتاً غدد پاروتید تولید و ترشح می شوند. SAA از طریق هیدرولیز نشاسته به گلوکز و مالتوز به هضم مواد غذایی کمک می کند. مشاهدات اخیر نشان می دهد ارتباطی بین ترشح SAA و شرایط پراسترس

یافت و تا زمان انجام آزمایش در شرایط ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

برای اندازه گیری میزان آنزیم آلفاآمیلاز پس از ذوب کردن نمونه های رویی بزاق، ابتدا با نسبت یک به صد با سرم فیزیولوژی رقیق شد. سپس فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز با استفاده از کیت تجاری موجود (شرکت پارس آزمون، ایران)، بر طبق روش شرکت سازنده اندازه گیری شد. این روش فعالیت آلفاآمیلاز را از طریق دو واکنش و با استفاده از ۶ و ۴-تیلیدن- پارانیتروفنیل مالتهوپتا اوزید به عنوان سوبسترا اندازه گیری می کند. در واکنش اول، آلفاآمیلاز سوبسترا را به قطعات کوچکتر می شکند و در واکنش دوم، گلوکوزیداز باعث آزاد شدن پارانیتروفنل می شود که جذب نوری آن در طول موج ۴۰۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر قابل اندازه گیری است. میزان فعالیت آلفاآمیلاز موجود در نمونه به طور مستقیم با افزایش جذب در ۴۰۵ نانومتر متناسب است.

داده های بدست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS با ویرایش ۱۹ محاسبه و برای توصیف داده ها از جداول فراوانی و آمار توصیفی شامل میانگین و شاخص های پراکندگی استفاده شد. در نهایت برای مقایسه سطح آلفاآمیلاز بزاق در دو گروه سالم و بیمار از آزمون های Independent *t*-test و در گروه مبتلا در دوره عود و بهبودی از Paired-sample *t*-test استفاده شد.

یافته ها

در این مطالعه که با هدف بررسی میزان آلفاآمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس راجعه لب انجام شد، تعداد ۶۰ نفر که شامل ۳۰ نفر بیمار مبتلا به هرپس لب با میانگین سنی $24/96 \pm 5/99$ سال و ۳۰ نفر افراد سالم با میانگین سنی $25/03 \pm 5/96$ سال بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. توزیع جنسی افراد مورد مطالعه در هر دو گروه یکسان و به

با هدف مقایسه میزان آلفاآمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس راجعه لب و افراد سالم طراحی گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه مورد - شاهدهی، از افرادی که جهت معاینات روتین به کلینیک دانشکده دندانپزشکی زاهدان مراجعه کرده بودند و دارای هرپس راجعه لب بودند، در صورت داشتن معیارهای ورود به مطالعه و پس از کسب رضایت آگاهانه، نمونه بزاق غیرتحریکی در زمان ابتلا به هرپس و در زمانی که زخم آنها کاملاً بهبود یافته بود (۷-۱۰ روز بعد از ایجاد زخم)، گرفته شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل موارد زیر بود:

داشتن هرپس راجعه لب فعال (که طی ۲۴ ساعت اخیر ایجاد شده باشد)، داشتن ۲-۳ بار سابقه عود در شش ماه گذشته، سن ۲۰-۴۰ سال، عدم مصرف دخانیات (سیگار، قلیان و ...)، عدم وجود هر نوع ضایعه دهانی و دندانی بجز هرپس لب، عدم وجود بیماری های سیستمیک و یا مصرف دارو.

گروه کنترل نیز از بین همراهان بیماران که سابقه ای از هیچ گونه زخم دهانی و یا بیماری سیستمیک نداشتند، انتخاب گردیدند. گروه کنترل از نظر سن و جنس با گروه مورد همسان سازی شدند. افراد ۹۰ دقیقه قبل از نمونه گیری از خوردن و آشامیدن و مسواک زدن اجتناب کرده و نمونه ها ساعت ۹-۱۱ صبح جمع آوری گردید. بزاق غیرتحریکی از کلیه افراد گروه مورد و شاهد به روش Spitting در لوله ی آزمایش تمیز جمع آوری و درب آن با پارافیلیم بسته و کدگذاری شد و به آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان منتقل گردید. نمونه های بزاق با دور rpm ۳۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردیده، مایع رویی و شفاف حاصل، به میکروتیوب های اپندورف انتقال

زمان عود بیماری و بهبودی و همچنین افراد سالم به تفکیک جنس، از لحاظ آماری معنادار نبود.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به

هرپس لب در زمان عود و افراد سالم	
میانگین و انحراف معیار آلفا آمیلاز (IU/L)	گروه مورد مطالعه
۴۵۹/۶۸ ± ۱۹۲/۰۵	افراد مبتلا به هرپس در زمان بیماری
۲۹۰/۲۹ ± ۱۶۶/۵۱	افراد سالم
۰/۰۰۱	P-value

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به

هرپس در زمان عود و بهبودی	
میانگین و انحراف معیار آلفا آمیلاز (IU/L)	گروه مورد مطالعه
۴۵۹/۶۸ ± ۱۹۲/۰۵	افراد مبتلا به هرپس در زمان بیماری
۳۵۶/۱۹ ± ۱۹۱/۶۷	افراد مبتلا به هرپس در زمان بهبودی
P=۰/۰۱۱	P-value

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار آلفا آمیلاز بزاق بر حسب جنس در افراد مورد مطالعه

P-value	جنس		گروه مورد مطالعه
	زن	مرد	
	میانگین و انحراف معیار آلفا آمیلاز (IU/L)	میانگین و انحراف معیار آلفا آمیلاز (IU/L)	
۰/۱۵۴	۵۰۰/۷۷ ± ۲/۱۸۳	۳۹۸/۰۴۱ ± ۱۴۶/۲۹۶	افراد مبتلا به هرپس در زمان بیماری
۰/۷۲	۳۶۶/۶۸ ± ۱۹۸/۶۵	۳۴۰/۴۵ ± ۱۸۸/۱۷	افراد مبتلا به هرپس در زمان بهبودی
۰/۱۰۳	۳۵۱/۱۹۱ ± ۱۸۱/۲۶۰	۲۴۹/۶۹ ± ۱۴۷/۲۲	افراد سالم

صورت ۱۲ (۴۰ درصد) مرد و ۱۸ (۶۰ درصد) زن بودند. آزمایشات انجام شده در مورد میزان آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس لب در زمان عود و بهبودی و افراد سالم به ترتیب ۴۵۹/۶۸ ± ۱۹۲/۰۵، ۳۵۶/۱۹ ± ۱۹۱/۶۷، ۲۹۰/۲۹ ± ۱۶۶/۵۱ (IU/L) بود. نتایج آزمون t-test مستقل نشان داد که اختلاف میانگین آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس در زمان بیماری و افراد سالم از لحاظ آماری معنادار بود (P=۰/۰۰۱). این نتایج بالا بودن میزان آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس را نسبت به افراد سالم نشان می دهد. (جدول ۱) اما نتایج آزمون t-test مستقل نشان داد که اختلاف میانگین آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس در زمان بهبودی و افراد سالم از لحاظ آماری معنادار نبود (P=۰/۱۶).

همچنین آزمون Paired-sample t-test اختلاف آماری معنی داری را بین میانگین آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس در زمان عود و بهبودی نشان داد (P=۰/۰۱۱). (جدول ۲)

جدول ۳ میزان آلفا آمیلاز بزاق را به تفکیک جنسیت نشان می دهد. اما نتایج آزمون t-test مستقل نشان داد که اختلاف میانگین آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس در

بحث

در این مطالعه، ۳۰ بیمار مبتلا به هرپس لب و ۳۰ نفر سالم بعنوان شاهد، از نظر میزان آلفا آمیلاز بزاق مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان آلفا آمیلاز بزاق در افراد مبتلا به هرپس راجعه لب به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود.

سیستم ایمنی با دو مکانیسم همورال و سلولار، بدن را در مقابل عوامل متعددی از جمله بیماری های عفونی محافظت می کند. هر دو مکانیسم به وسیله عوامل استرس زا دچار تغییر می شوند و بین افزایش کورتیزول و مهار ایمنی ارتباط وجود دارد.^(۱۷)

مطالعات بسیاری وجود دارند که اثر استرس را بر بیماری های عفونی بررسی کردند و استرس را عاملی برای عود مجدد دوره ی عفونی و فعالیت ویروس شناختند.^(۱۴-) هر چند که مکانیسم دقیق سلولی آن هنوز مشخص نشده است، اما در برخی مطالعات بیان شده است که در طی دوره نهفتگی ویروس، سلولهای CD8 در اطراف گانگلیون تریژمینال دیده می شوند و با آزادسازی اینترفرون گاما، تکثیر ویروس را مهار می کنند. فعال شدن مجدد ویروس می تواند بوسیله حوادث استرس زای فیزیکی و سایکولوژیک اتفاق بیافتد. فعالیت آنزیم های کیناز ویروس می تواند فعالیت سلولهای CD8 را بلاک کند که این پروسه بوسیله استرس و تروما آسان می شود.^(۱۶و۱۸)

استرس می تواند تأثیر فیزیولوژیک بر بدن بگذارد. استرس با تحریک اعصاب سمپاتیک پیش گانگلیونی باعث آزاد شدن اپی نفرین و نور اپی نفرین از مدولای آدرنال می شود. نوراپی نفرین منجر به افزایش ترشح آلفا آمیلاز از سلولهای آسینی غدد بزاقی پاروتید و مندیبولار می شود. سطح آلفا آمیلاز بزاق می تواند منعکس کننده فعالیت سیستم عصبی اتونوم باشد.^(۱۹)

نتایج مطالعه Rashkova و همکاران^(۲۰) نشان داد سطح آلفا آمیلاز بزاق افراد مضطرب، تفاوت معناداری با گروه شاهد دارد. مطالعه آنها افزایش دو برابری غلظت α -آمیلاز بزاق در استرس و کاهش آن را در یک وضعیت بدون استرس نشان می دهد. نتایج مطالعه ی Nater و همکاران^(۹) نشان داد سطح آلفا آمیلاز بزاقی و کاتکولامین های پلاسما، زمانی که بدن در شرایط استرس زا قرار دارد به طور معناداری بالاتر است.

Furlan و همکاران^(۲۱) دریافتند سطح کورتیزول بزاقی و آلفا آمیلاز در کودکانی که استرس و ترس از دندانپزشکی داشتند بطور قابل توجهی بالاتر بود. Koh و همکاران^(۲۲) طی مطالعه ای، آلفا آمیلاز را بعنوان یک مارکر بزاقی در استرس های حاد معرفی کردند. یکی دیگر از مطالعاتی که بر نظریه ی ارتباط سطح آلفا آمیلاز بزاقی، استرس و درد صحنه می گذارد مطالعه ی Vahedi و همکاران^(۲۳) است که ارتباط آلفا آمیلاز بزاق را در بیماران با سردرد (Tension Type Headache) بررسی کرده و گزارش نمودند که میزان آلفا آمیلاز بزاق می تواند معیار مناسبی برای سنجش درد در این بیماران باشد.

در همه این مطالعات سطح آلفا آمیلاز متعاقب حوادث استرس زا و درد افزایش می یافت و از طرفی در برخی از این مطالعات بدنبال استرس، بروز هرپس بیشتر بود. متأسفانه مطالعه ای که مستقیماً میزان آلفا آمیلاز بزاق را در افراد مبتلا به هرپس دهانی راجعه بررسی کند تاکنون انجام نشده است. ما در این مطالعه برای اولین بار این موضوع را به تحلیل و چالش کشیدیم. در این مطالعه دریافتیم میزان آلفا آمیلاز بزاقی در افراد مبتلا به HSV1 در دوره فعال بیماری به طور معناداری بیشتر بود.

بطور معمول سرکوب عفونت HSV در بیماران با اپیزودهای مکرر عود، با دوزهای متغیری از آسیکلوویر،

نتیجه گیری

مقایسه سطح آلفاآمیلاز بزاق افراد در دوره ی عود هرپس راجعه لب نشان داد سطح این آنزیم به طور معنی داری بیشتر از دوره ی بهبودی و گروه شاهد است. نتایج حاصل از این مطالعه احتمال وجود ارتباط بین میزان آلفاآمیلاز و هرپس راجعه را نشان می دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه به شماره ۶۹۱۳ می باشد این پژوهش با حمایت مالی و تایید کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان انجام گرفته است که بدینوسیله قدردانی می گردد.

والاسیکلوویر و فام سیکلوویر انجام می شود.^(۱) در صورتیکه شاید بتوان با انجام یک تست ساده، ارزان و کم تهاجمی مانند آلفاآمیلاز بزاق در این بیماران، و تایید تشخیص استرس؛ بجای درمانهای گرانقیمت ضدویروسی، جهت کاهش عود ضایعات هرپس، از درمانهای روانپزشکی بهره جست. هرچند تایید این موضوع نیاز به انجام تحقیقات وسیع تر و بررسی میزان این آنزیم در بیماران مبتلا به هرپس لب با شرایط عود متفاوت و تعیین حد استاندارد این آنزیم جهت تشخیص استرس دارد.

منابع

- Glick M. Burkets oral medicine diagnosis and treatment. 12th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2015. P. 62.
- Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, McQuillan GM, Lee FK, Nahmias AJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. JAMA 2006; 296(8):964-73.
- Gilbert S, Corey L, Cunningham A, Malkin JE, Stanberry L, Whitley R, et al. An update on short-course intermittent and prevention therapies for herpes labialis. Herpes 2007; 14(Suppl 1):13A-8A.
- Todorovic T, Dozic I, Pavlica D, Markovic D, Brajovic G, Ivanovic M. Use of saliva as a diagnostic fluid in dentistry. Srp Arh Celok Lek 2005; 133(7):372-8.
- Samaranayake L. Saliva as a diagnostic fluid. Int Dent J 2007; 57(5):295-9.
- Van Stegeren A, Rohleder N, Everaerd W, Wolf OT. Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: effect of betablockade. Psychoneuroendocrinology 2006; 31(1):137-41.
- Arhakis A, Karagiannis V, Kalfas S. Salivary alpha-amylase activity and salivary flow rate in young adults. Open Dent J 2013; 7:7-15.
- Rohleder N, Nater UM, Wolf JM, Ehlert U, Kirschbaum C. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase: an indicator of sympathetic activity? Ann N Y Acad Sci 2004; 1032:258-63.
- Nater UM, La Marca R, Florin L, Moses A, Langhans W, Koller MM, et al. Stress-induced changes in human salivary alpha-amylase activity-associations with adrenergic activity. Psychoneuroendocrinology 2006; 31(1):49-58.
- Vineetha R, Pai K, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D. Usefulness of salivary alpha amylase as a biomarker of chronic stress and stress related oral mucosal changes – a pilot study. J Clin Exp Dent 2014; 6(2):e132-7.
- Nater UM, Rohleder N, Gaab J, Berger S, Jud A, Kirschbaum C, et al. Human salivary alpha-amylase reactivity in a psychosocial stress paradigm. Int J Psychophysiol 2005; 55(3):333-42.
- Cliffe AR, Arbuckle JH, Vogel JL, Geden MJ, Rothbart SB Cusack CL, et al. Neuronal stress pathway mediating a histone methyl/phospho switch is required for herpes simplex virus reactivation. Cell Host Microbe 2015; 18(6):649-58.
- Freeman ML, Sheridan BS, Bonneau RH, Hendricks RL. Psychological stress compromises CD8+ T cell control of latent herpes simplex virus type 1 infections. J Immunol 2007; 179(1):322-8.
- Faulkner S, Smith A. A prospective diary study of the role of psychological stress and negative mood in the recurrence of herpes simplex virus (HSV1). Stress Health 2008; 25(2):179-87.
- Chida Y, Mao X. Does psychosocial stress predict symptomatic herpes simplex virus recurrence? A meta-analytic investigation on prospective studies. Brain Behav Immun 2009; 23(7):917-25.

16. Ives AM, Bertke AS. Stress hormones epinephrine and corticosterone selectively modulate herpes simplex virus 1 (HSV-1) and HSV-2 productive infections in adult sympathetic, but not sensory, neurons. *J Virol* 2017; 91(13):e00582-17.
17. Bae YS, Shin EC, Bae YS, Van Eden W. Stress and immunity. *Front Immunol* 2019; 10:245.
18. Orr MT, Mathis MA, Lagunoff M, Sacks JA, Wilson CB. CD8 T cell control of HSV reactivation from latency is abrogated by viral inhibition of MHC class I. *Cell Host Microbe* 2007; 2(3):172-80.
19. Dušková M, Vašáková J, Dušková J, Kaiferová J, Broukal Z, Stárka L. The role of stress hormones in dental management behavior problems. *Physiol Res* 2017; 66(Suppl 3):S317-22.
20. Rashkova MR, Ribagin LS, Toneva NG. Correlation between salivary alpha-amylase and stress-related anxiety. *Folia Med (Plovdiv)* 2012; 54(2):46-51.
21. Furlan NF, Gavião MB, Barbosa TS, Nicolau J, Castelo PM. Salivary cortisol, alpha-amylase and heart rate variation in response to dental treatment in children. *J Clin Pediatr Dent* 2012; 37(1):83-7.
22. Koh D, Ng V, Naing L. Alpha amylase as a salivary biomarker of acute stress of venepuncture from periodic medical examinations. *Front Public Health* 2014; 26(2):121.
23. Vahedi M, Mazdeh M, Hajilooi M, Farhadian M, Barakian Y, Sadr P. The relationship between salivary alpha amylase activity and score of mcgill pain questionnaire in patients with tension type headache. *Basic Clin Neurosci* 2018; 9(1):59-64.