

## Σύσταση σάλιου και ευρήματα από τους ελάσσονες σιαλογόνους αδένες σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II

### Περίληψη

Χ. Πέτρου-Αμερικάνου\*  
Α. Μαρκόπουλος\*\*  
Μ. Μπελάζη\*\*\*  
Δ. Δρακουλάκος\*\*\*\*  
Π. Παπαναγιώτου\*\*\*\*\*

Εξετάσθηκαν είκοσι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και είκοσι υγιείς μάρτυρες προκειμένου να διαπιστωθεί η επίδραση του διαβήτη στη σύσταση του σάλιου και στην ιστολογική εικόνα των ελάσσονων σιαλογόνων αδένων. Από τα αποτελέσματα των αναλύσεων που έγιναν προέκυψε ότι οι τιμές της γλυκόζης στο σάλιο των διαβητικών ήταν αυξημένες, σε αντίθεση με τους υγιείς μάρτυρες, καθώς επίσης και η συγκέντρωση ανοσοσφαιρινών IgA και IgG. Στη συγκέντρωση πρωτεϊνών, λευκωματίνης, ουρίας και καλίου στο σάλιο δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ διαβητικών και μαρτύρων. Η ιστολογική εξέταση των ελάσσονων σιαλογόνων αδένων έδειξε ατροφία και εκφύλιση του παρεγχύματος των αδένων. Συμπερασματικά τα ευρήματα αυτής της μελέτης έδειξαν αύξηση της γλυκόζης και των ανοσοσφαιρινών IgA και IgG στο σάλιο των διαβητικών ασθενών, καθώς επίσης και εκφύλιση των ελασσόνων σιαλογόνων αδένων. Περαιτέρω διερεύνηση απαιτείται για να διαλευκανθεί η κλινική σημασία αυτών των ευρημάτων.

### Εισαγωγή

Οι επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη τόσο του τύπου I, όσο και του τύπου II επηρεάζουν τους περισσότερους ιστούς του ανθρώπινου σώματος. Όσον αφορά το Σ.Δ. II, έχουν γίνει από αρκετούς ερευνητές κλινικές μελέτες για να διερευνηθεί η επίδραση των επιπλοκών του στη λειτουργία των σιαλογόνων αδένων. Οι μελέτες αυτές αναφέρονται στις μεταβολές της ροής και της σύστασης του σάλιου σε διαβητικούς ασθενείς. Παράλληλα, σε πειραματόζωα μετά την πρόκληση διαβήτη, έχουν παρατηρηθεί λειτουργικές και μορφολογικές μεταβολές των σιαλογόνων αδένων<sup>1</sup>. Όσον αφορά στον όγκο της σιαλικής ροής, έχει παρατηρηθεί μείωση της ροής του σάλιου σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη<sup>2,3,4</sup>, ενώ άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι οι διαφορές της σιαλικής ροής μεταξύ διαβητικών και υγιών μαρτύρων δεν είναι σημαντικές<sup>5,6</sup>.

Σε άλλες μελέτες όπου επιχειρήθηκε συσχέτιση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα και στο σάλιο διαβητικών ασθενών, παρατηρήθηκε μία αύξηση της τιμής γλυκόζης στο σάλιο που πι-

θανόν να συνδέεται με την αύξηση της γλυκόζης στο αίμα<sup>7,8</sup>.

Μεταβολές στη σύσταση ορισμένων στοιχείων του σάλιου έχουν παρατηρηθεί σε διαβητικούς ασθενείς τύπου Ι. Οι μεταβολές αυτές αφορούν κυρίως τους ηλεκτρολύτες και τις ανοσοσφαιρίνες<sup>7</sup>.

Όσον αφορά τη σύσταση του σάλιου στο διαβήτη τύπου ΙΙ, τα ευρήματα των σχετικών ερευνών είναι αλληλοσυγκρουόμενα. Ένα άλλο επίσης στοιχείο που χαρακτηρίζει τη διεθνή βιβλιογραφία είναι η απουσία ερευνητικών εργασιών σχετικών με τις ιστοπαθολογικές μεταβολές που επισυμβαίνουν στους σιαλογόνους αδένες ασθενών με διαβήτη τύπου ΙΙ.

Με βάση τα παραπάνω στοιχεία, ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν:

ι) Να ελεγχθεί η σύσταση του ολικού σάλιου ασθενών με διαβήτη τύπου ΙΙ και ειδικότερα η περιεκτικότητά του σε γλυκόζη, πρωτεΐνες, λευκωματίνη, κάλιο, ουρία, IgA, και IgG, και

ιι) Να ελεγχθούν οι ιστοπαθολογικές μεταβολές που τυχόν επισυμβαίνουν στους ελάσσονες σιαλογόνους αδένες του κάτω χείλους ασθενών με διαβήτη τύπου ΙΙ.

Τα ευρήματα που θα προκύψουν από την μελέτη των παραπάνω παραμέτρων ενδεχομένως θα δώσουν κάποιες απαντήσεις στο κενό της βιβλιογραφίας που υπάρχει σχετικά με αυτό το θέμα.

## Υλικό-Μέθοδος

Στην ερευνητική αυτή μελέτη πήραν μέρος 20 ενήλικες ασθενείς, 12 άνδρες και 8 γυναίκες, ηλικίας 47-65 ετών με Σ.Δ. τύπου ΙΙ και διάρκεια της νόσου 5-7 χρόνια. Ο Σ.Δ. είχε διαγνωστεί σε ειδικά κέντρα και ελέγχονταν με τη διατροφή ή με αντιδιαβητικά δισκία. Σα μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν ισάριθμα άτομα που δεν έπασχαν από οποιαδήποτε νόσο και ήταν αντίστοιχης ηλικίας και φύλου με τους διαβητικούς. Διαβητικοί και υγιείς μάρτυρες ήταν όλοι εξωτερικοί ασθενείς της κλινικής της Στοματολογίας του Οδοντιατρικού Τμήματος του Α.Π.Θ. Από όλους ελήφθη λεπτομερές ιατρικό ιστορικό. Στη συνέχεια ακολούθησε η συλλογή του σάλιου σε ειδικά αποστειρωμένα κύπελλα (Vacuteiner) μετά από μάσηση τεμαχίου παραφίνης. Η λήψη του σάλιου πραγματοποιήθηκε κατά τις ίδιες ώρες 8-10 π.μ. για όλους τους ασθενείς, οι οποίοι ήταν νηστικοί. Το σάλιο τοποθετήθηκε στους -20C° μέχρι την πραγματοποίηση των αναλύσεων. Ακολούθησε η

λήψη 10 ml αίματος από κάθε ασθενή για τον αιματολογικό έλεγχο και τέλος υπό τοπική αναισθησία έγινε αφαίρεση ελάσσονων σιαλογόνων αδένων από το βλεννογόνο του κάτω χείλους για ιστολογική εξέταση.

Τα στοιχεία που εξετάστηκαν στο αίμα και το σάλιο ήταν η γλυκόζη, οι ολικές πρωτεΐνες, η λευκωματίνη, το κάλιο, η ουρία και οι ανοσοσφαιρίνες IgA και IgG. Η IgM δεν προσδιορίστηκε επειδή δεν έχουν προκύψει βιβλιογραφικά δεδομένα που να δικαιολογούν τον προσδιορισμό της στο σάλιο. Η γλυκόζη, πρωτεΐνες, λευκωματίνη και ουρία προσδιορίστηκαν με βιοχημικές μεθόδους (GOD-POD της Elitech, Biuret-EDTA της Sclavo, BCG της Sclavo και BUN-test της Sclavo αντίστοιχα), το κάλιο με φλογοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης<sup>9</sup>, και οι IgA και IgG με ανοσοδιάχυση-νεφελομετρία<sup>10</sup>. Η στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του Student's t-test.

Οι σιαλογόνοι αδένες τοποθετήθηκαν σε διάλυμα φορμόλης 10% και μετά τη μονιμοποίησή τους κατά τη συνήθη διαδικασία, ελήφθησαν τομές πάχους 6 μ. με το μικροτόμο. Οι τομές χρωματίστηκαν με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης και οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις έγιναν με μικροσκόπιο Olympus BH-2.

## Ευρήματα

Η συγκέντρωση γλυκόζης, πρωτεϊνών, λευκωματίνης, καλίου, ουρίας και ανοσοσφαιρινών IgA και IgG στο αίμα και το σάλιο των σακχαροδιαβητικών και των μαρτύρων φαίνεται στους πίνακες Ι και ΙΙ.

Από τον πίνακα Ι φαίνεται ότι τα επίπεδα γλυκόζης, πρωτεϊνών και λευκωματίνης ήταν αυξημένα στο αίμα ασθενών με Σ.Δ. σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Επίσης παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης της ουρίας στο αίμα των διαβητικών σε σχέση με τους μάρτυρες αλλά το φάσμα των τιμών της ουρίας κυμαινόταν μέσα στα φυσιολογικά όρια.

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων του σάλιου όπως φαίνεται στον πίνακα ΙΙ η περιεκτικότητα του σάλιου σε γλυκόζη ήταν αυξημένη στους ασθενείς με Σ.Δ. σε σχέση με τους μάρτυρες ( $P < 0.0001$ ). Επίσης παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση ανοσοσφαιρινών IgA και IgG του σάλιου ( $P < 0.0001$ ). Στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών, λευκωματίνης, καλίου και ουρίας στο σάλιο μεταξύ

**Πίνακας 1.** Αιματολογικά ευρήματα 20 διαβητικών και 20 φυσιολογικών ατόμων

Στοιχείο	Σακχαρώδης διαβήτης (n=20)		Μάρτυρες (n=20)		P
	Μέσος όρος	Σταθερή απόκλιση	Μέσος όρος	Σταθερή απόκλιση	
Γλυκόζη (mg)	175,5 ± 12,9		85,5 ± 9,6		<0,0001
Πρωτεΐνες (g/dL)	9,4 ± 0,4		6,9 ± 0,6		<0,0001
Λευκωματίνη (g/dL)	7,82 ± 0,4		3,9 ± 0,6		<0,0001
Κάλιο (mEq/l)	4,4 ± 0,6		4,7 ± 0,6		>0,1(*)
Ουρία (mg%)	29,5 ± 3,6		33,8 ± 6,7		<0,02
IgA (mg/dL)	264,1 ± 45,5		244,9 ± 72,2		>0,2(*)
IgG (mg/dL)	1531 ± 125,4		1415 ± 245		>0,05(*)

(\*) = Μη στατιστικά σημαντική διαφορά

**Πίνακας 2.** Σύσταση σάλιου σε 20 διαβητικά και 20 φυσιολογικά άτομα

Στοιχείο	Σακχαρώδης διαβήτης (n=20)		Μάρτυρες (n=20)		P
	Μέσος όρος	Σταθερή απόκλιση	Μέσος όρος	Σταθερή απόκλιση	
Γλυκόζη (mgr%)	5,38 ± 1,95		1,40 ± 1,27		<0,0001
Πρωτεΐνες (gr/dL)	1,87 ± 0,29		1,77 ± 0,85		>0,2(*)
Λευκωματίνη (gr/dL)	1,00 ± 0,28		1,00 ± 0,48		>0,2(*)
Κάλιο (mEq/l)	1,30 ± 0,41		1,30 ± 0,29		>0,2(*)
Ουρία (mgr%)	1,16 ± 0,72		0,84 ± 0,50		<0,05(*)
IgA (mgr/dL)	513 ± 73,99		317 ± 82,2		<0,0001
IgG (mgr/dL)	126,6 ± 24,7		83,7 ± 19,3		<0,0001

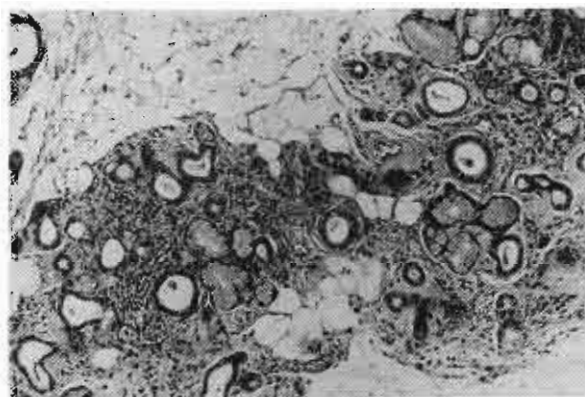
(\*) = Μη στατιστικά σημαντική διαφορά

διαβητικών και μαρτύρων δεν παρατηρήθηκαν διαφορές με φυσιολογικό φάσμα τιμών.

**Ιστολογικά ευρήματα.** Η μικροσκοπική εξέταση όλων των παρασκευασμάτων των ελάσσωνων σιαλογόνων αδένων που ελήφθησαν από τους διαβητικούς ασθενείς έδειξε κατά τόπους ατροφία και εκφύλιση του αδενικού παρεγχύματος, αραιές κυτταρικές φλεγμονώδεις διηθήσεις κυρίως από ιστιοκύτταρα, καθώς επίσης και λιπώδη υποκατάσταση του συνδετικού ιστού του αδένου. (Εικ. 1). Στα παρασκευάσματα των μαρτύρων δεν παρατηρήθηκαν ιστολογικές αλλοιώσεις.

## Συζήτηση

Τα ευρήματα από την παρούσα μελέτη έδειξαν ότι η συγκέντρωση γλυκόζης στο ολικό σά-



**Εικ. 1.** Φωτομικρογράφημα ελάσσονα σιαλογόνου αδένου. Παρατηρείται εκφύλιση και ατροφία του αδενικού παρεγχύματος, καθώς επίσης και αραιές φλεγμονώδεις διηθήσεις. Κατά τόπους παρατηρείται λιπώδης υποκατάσταση του συνδετικού ιστού του αδένου. (Αιματοξυλίνη-ηωσίνη X50).

λιο σχετίζεται με το επίπεδο γλυκόζης στο αίμα των διαβητικών ασθενών αλλά η σχέση τους αυτή δεν είναι πάντα αναλογική. Παρόμοια συσχέτιση μεταξύ της γλυκόζης αίματος διαβητικών ασθενών και της γλυκόζης στο σάλιο έχουν παρατηρήσει και άλλοι ερευνητές<sup>8,11,12</sup>, ενώ σε άλλες εργασίες δεν παρατηρήθηκε τέτοια συσχέτιση<sup>13,14</sup>. Οι διαφορετικές τεχνικές συλλογής του σάλιου και οι μέθοδοι για τις μετρήσεις της γλυκόζης είναι πιθανόν υπεύθυνες για τα διαφορετικά αποτελέσματα των ερευνών αυτών<sup>8</sup>. Η αύξηση της γλυκόζης στο σάλιο των διαβητικών αποδίδεται σε δύο παράγοντες. Πρώτον στο μικρού ειδικού βάρους μόριο της γλυκόζης που μπορεί να διαχέεται διαμέσου των ημιδιαπερατών μεμβρανών<sup>14</sup> και δεύτερον στο ότι η διαπερατότητα της βασικής μεμβράνης στους σιαλογόνους αδένες πιθανόν αυξάνεται στους διαβητικούς ασθενείς<sup>15</sup>. Βάσει των παραπάνω δεδομένων είναι πιθανόν η αύξηση της γλυκόζης στο αίμα να προκαλεί αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο σάλιο. Παρά το γεγονός ότι ο μηχανισμός εισόδου της γλυκόζης στο σάλιο τόσο στον άνθρωπο<sup>16</sup> όσο και στα πειραματόζωα<sup>17</sup> έχει μελετηθεί, δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί η φύση και οι λεπτομέρειες των μηχανισμών που εμπλέκονται στη διαδικασία αυτή<sup>8</sup>.

Από τα ευρήματα της μελέτης μας επίσης προέκυψε ότι η περιεκτικότητα του σάλιου σε πρωτεΐνες, λευκωματίνη, κάλιο και ουρία δεν παρουσιάζει διαφορές μεταξύ των διαβητικών ασθενών και των μαρτύρων. Ο Steckfus και συν.<sup>5</sup> σε παρόμοια εργασία έδειξαν ότι οι διαβητικοί ασθενείς τύπου II δεν παρουσιάζουν διαφορές όσον αφορά τη συγκέντρωση ηλεκτρολυτών και τη συγκέντρωση ανοσοσφαιρίνης IgA στο σάλιο των διαβητικών σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Παρατήρησαν όμως μία μείωση της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο σάλιο των διαβητικών σε σχέση με τους μάρτυρες. Οι Sharon και συν.<sup>18</sup> έδειξαν ότι η συγκέντρωση ασβεστίου, νατρίου και πρωτεϊνών στο σάλιο διαβητικών και μαρτύρων είναι ανάλογη, ενώ η συγκέντρωση καλίου στο ολικό σάλιο των διαβητικών είναι αυξημένη σε σχέση με τους μάρτυρες. Στην έρευνά μας δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ των διαβητικών και των μαρτύρων. Πιο πρόσφατη όμως έρευνα έδειξε αύξηση του καλίου μόνο σε διαβητικούς ασθενείς τύπου I και όχι σε διαβητικούς ασθενείς τύπου II<sup>3</sup>.

Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε μία αύξηση των ανοσοσφαιρινών IgA και IgG στο

σάλιο των διαβητικών ασθενών σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Τα ευρήματά μας συμφωνούν με τον Margder<sup>19</sup> που αναφέρει μία ασυνήθιστη αύξηση της ανοσοσφαιρίνης IgG στο σάλιο διαβητικών ασθενών τύπου II. Στα βιβλιογραφικά δεδομένα παρόμοια αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί και σε διαβητικούς ασθενείς τύπου I, παρόλο που ο διαβήτης τύπου I και τύπου II έχουν διαφορετικό αιτιοπαθογενετικό μηχανισμό. Έτσι, αναλυτικότερα, οι Ben Agyeh και συν.<sup>3</sup> σε μία ενδιαφέρουσα έρευνα που έκαναν μεταξύ διαβητικών τύπου I και τύπου II ασθενών και μαρτύρων, παρατήρησαν υψηλότερες συγκεντρώσεις ανοσοσφαιρίνης IgA μόνο στο σάλιο ηρεμίας των διαβητικών τύπου I ασθενών. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο σύνολο των ολικών πρωτεϊνών, λακτοφερίνης, λυσοζύμης ή αμυλάσης του σάλιου μεταξύ των τριών ομάδων που εξέτασαν. Έρευνα των Harisson-Bowen<sup>7</sup> σε παιδιά με Σ.Δ. τύπου I έδειξε αύξηση της συγκέντρωσης της ανοσοσφαιρίνης IgA στα διαβητικά παιδιά με ανεπαρκή έλεγχο του διαβήτη τους, ενώ δεν παρατήρησαν τέτοια αλλαγή στα παιδιά με καλά ελεγχόμενο διαβήτη.

Η αυξημένη συγκέντρωση ανοσοσφαιρινών IgA και IgG στο σάλιο των διαβητικών ασθενών αποδίδεται στους παρακάτω παράγοντες:

- i) πιθανή αυξημένη παραγωγή IgA από τους σιαλογόνους αδένες των διαβητικών ασθενών<sup>20</sup>.
- ii) αυξημένη διαπερατότητα των βασικών μεμβρανών των τριχοειδών που παρατηρείται στο Σ.Δ., γεγονός που επιτρέπει αυξημένη διαφυγή ανοσοσφαιρινών διαμέσου των τριχοειδών<sup>15,19,20</sup>.
- iii) μείωση της ροής του σάλιου στους διαβητικούς. Έτσι σε μικρότερο όγκο η συγκέντρωση ανοσοσφαιρινών δείχνει αυξημένη<sup>7</sup>.

Τα ιστολογικά ευρήματα από την εξέταση των σιαλογόνων αδένων έδειξαν κατά τόπους ατροφία και εκφύλιση του παρεγχύματος που συνοδεύονται με αραιή φλεγμονώδη διήθηση. Στη προστιτή σε μας βιβλιογραφία ιστολογικές παρατηρήσεις δεν έχουν γίνει σε σιαλογόνους αδένες ανθρώπων αλλά πολυάριθμες εργασίες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι πειραματικός Σ.Δ. με αλλοξάνη ή στρεπτοζοτοκίνη προκαλεί καθυστέρηση στην αύξηση των αδένων<sup>22</sup>, ενδοκυττάρια συγκέντρωση λιπώδους ιστού στις αδενοκυψέλες και στα κύτταρα των εκφορητικών πόρων των αδένων<sup>22,23</sup> και πάχυνση της βασικής μεμβράνης των τριχοειδών<sup>10,12,21</sup>. Παρόμοια στοιχεία με ατροφία, εκφύλιση και λιπώδη υποκατάσταση

του συνδετικού ιστού παρατηρήθηκαν και στη μελέτη μας.

Η εκφύλιση του παρεγχύματος των σιαλογόνων αδένων που παρατηρήθηκε στις βιοψίες των ασθενών είναι δυνατόν να αποδοθεί στη μειωμένη δράση της ινσουλίνης στους σιαλογόνους αδένες<sup>24</sup>. Παρότι η σχέση της ινσουλίνης και των σιαλογόνων αδένων είναι αμφιλεγόμενη πολλοί συγγραφείς πιστεύουν ότι η ινσουλίνη επιδρά στη παραγωγή πρωτεϊνών μέσω της δράσης της στο τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο και στη συσκευή Golgi<sup>22,25</sup>. Μία άλλη αιτία της εκφύλισης πιθανόν να είναι η μείωση του μιτωτικού δείκτη των κυττάρων των σιαλογόνων αδένων, στοιχείο που έχει παρατηρηθεί στον πειραματικό διαβήτη και πιθανόν στους ανθρώπους<sup>1,22</sup>.

Συμπερασματικά τα ευρήματα αυτής της μελέτης έδειξαν αύξηση της γλυκόζης και των ανοσοσφαιρινών IgA και IgG στο σάλιο των διαβητικών ασθενών και εκφύλιση των σιαλογόνων αδένων. Περαιτέρω διερεύνηση απαιτείται για να διαλευκανθεί αν οι μεταβολές αυτές επηρεάζουν την περιοδοντική και οδοντική υγεία των ασθενών αυτών.

## Summary

**Petrou-Amerikanou C, Markopoulos A, Belazi M, Drakoulakos D, Papanagiotou P. Salivary composition and histological findings from labial salivary glands of patients with type II diabetes mellitus. *Hellen Diabetol Chron* 1995; 2: 138-143.**

Twenty type II diabetic patients and twenty healthy controls were examined in an attempt to characterize the effect of diabetes mellitus on salivary composition. The histological findings of labial salivary glands from the patients and controls were also examined. A significantly higher concentration of glucose was found in the saliva of diabetics compared to the controls and a higher concentration of immunoglobins IgA and IgG in saliva of diabetics. The concentration of proteins, albumin, urea and potassium in saliva did not differ among the two groups. The histological findings of the labial salivary glands biopsies, revealed atrophy and degeneration of their parenchyma. Conclusively the findings of this study showed an increase of glucose and an increase of IgA and IgG in saliva of diabetics. Also degeneration of labial salivary glands occurred. Further research for the clinical significance of

these findings is required.

## Βιβλιογραφία

1. Anderson LC, Johnson DA. Effects of alloxan diabetes on rat parotid gland and saliva. *Comp Biochem Physiol* 1981; 70: 725-730.
2. Conner S, Iranpour B. Alteration in parotid salivary flow in diabetes mellitus. *Oral Surgery* 1970; 30: 55-59.
3. Ben-Arveh H, Serouya R, Kanter Y, et al. Oral health and salivary composition in diabetic patients. *J Diabetes and Complications*, 1993; 7 (1): 57-62.
4. Ben-Aryeh H, Cohen M, Kanter Y, et al. Salivary composition in diabetic patients. *J of Diabetic Complications* 1988; 2 (2): 96-99.
5. Streckfus CF, Marcus S, Welsh S, et al. Parotid function and composition of parotid saliva among elderly edentulous African-American diabetics. *J of Oral Pathology and Medicine* 1994; 23 (6): 277-279.
6. Tenenbo J, Vilkan J, Larjaua H, et al. Composition of whole saliva in insulin-dependent diabetics. *J Dent Res* 1985; 64: 378 (Abstr).
7. Harisson R, Bowen W. Flow rate and organic constituents of whole saliva in insulin-dependent children and adolescents. *Ped Dent* 1987; 9 (4): 287-291.
8. Darwazeh A, McFarlane T, McCuish, et al. Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus. *J Oral Path* 1991; 20: 280-283.
9. Gow BS. Analysis of metals in saliva by atomic absorption spectroscopy. I Calcium. *J Dent Res* 1965; 44: 885.
10. Anderson LC, Shapiro BL. The effect of alloxan diabetes and insulin on the rate of protein synthesis in the rat submandibular gland. *Horm Metab Res* 1980; 12: 47-51.
11. Englander H, Jeffrey A, Fuller J, et al. Glucose concentrations in blood plasma and parotid saliva of individuals with and without diabetes mellitus. *J Dent Res* 1963; 42: 1246.
12. Reuterving C, Reuterving G, Hagg E, et al. Salivary flow rate and salivary concentration in patients with diabetes mellitus. *Diab Metab* 1987; 13: 457-462.
13. Campbell M. Glucose in the saliva of the non-diabetic and the diabetic patients *Arch Oral Biol* 1965; 10: 197-205.
14. Kjellman O. The presence of glucose in gingival exudate and resting saliva of subjects with insulin-treated diabetes mellitus. *Swed Dent J* 1970; 63: 11-19.
15. Murrah V, Crusson J, Sauk J. Parotid gland basement membrane in diabetes mellitus. *J Oral Path* 1985; 14: 236-246.
16. Forbat L, Collins R, Maskell G, Sonksen P. Glucose concentration in parotid fluid and venous blood of patients attending a diabetic clinic. *J.R.Soc Med* 1981; 74: 725-728.
17. Langley L, Gunthorpe C, Beall W. Salivary glucose threshold. *Am J Physiol* 1958; 192: 482-484.

18. Sharon A, Ben-Aryeh H, Itzhak B, et al. Salivary composition in diabetic patients. *J Oral Med* 1985; 40 (1): 23-26.
  19. Marder M, Abelson D, Mandel L. Salivary alterations in diabetes mellitus. *J Periodont* 1975; 46 (9): 567-569.
  20. Tenovou J, Lehtonen O, Viikari J, et al. Immunoglobins and innate antimicrobial factors in whole saliva of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Dent Res* 1986; 65 (1): 62-66.
  21. Murray V. Diabetes mellitus and associated oral manifestations: a review. *J Oral Pathol* 1985; 14: 271-281.
  22. Anderson L. Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on rat parotid gland. *Am J Physiol* 1983; 245: 431-437.
  23. Anderson L. Parotid gland function in streptozotocin-diabetic rats. *J Dent Res* 1987; 66: 425-429.
  24. Liu F, Lin H. Role of insulin in body growth and growth of salivary and endocrine glands in rats. *J Dent Res* 1969; 48: 559-567.
  25. Kuwagawa M, Takuma T, Hosoda S, Nakashimi M. Effects of hormones of differentiation of parotid glands of suckling mice in vitro. *Biochem Biophys Acta* 1978; 554: 53-61.
-