

بررسی تأثیر پرتودرمانی ناحیه سر و گردن بر شاخصهای بیوشیمیایی بزاق

دکتر دنیا صدری^۱ - دکتر علیرضا عبدالهی^۲ - دکتر علی کاظمیان^۳ - دکتر زهرا طهرانی^۴ - دکتر محمدجواد خرازی فرد^۵

۱- دانشیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران

۲- استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- استادیار گروه آموزشی رادیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- دندانپزشک

۵- عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی و مشاور آماری دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: بزاق نقش بارزی در حفظ سلامتی حفره دهان دارد. کاهش بزاق به دنبال پرتو درمانی سر و گردن می‌تواند تغییراتی در

خصوصیات بیوشیمیایی بزاق ایجاد کند. هدف از این مطالعه، مقایسه خصوصیات بزاق قبل و بعد از پرتو درمانی در ۱۸ بیمار می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه نیمه تجربی ۱۸ بیمار مبتلا به انواع سرطان سر و گردن شامل ۱۳ مرد و پنج زن از لحاظ میزان جریان بزاق،

ظرفیت بافری و غلظت آمیلاز، پروتئین IgG، IgA، IgM و آلبومین بزاق قبل و دو هفته بعد از پرتو درمانی ارزیابی شدند. روش ارزیابی

آزمایشگاهی به ترتیب با استفاده از Phmeter - Schirmer test - بیورت - توربیدومتری و اسپکتروفتومتری بود. علائم دهانی ناشی از

پرتو درمانی شامل (خشکی دهان، از دست رفتن حس چشایی مشکل در بلع، غذا خوردن و مشکلات تکلم) با توجه به شکایت بیماران

ثبت شد. جهت تحلیل یافته‌ها از آماره ی *pair t-test* استفاده گردید.

یافته‌ها: تغییرات معنی‌داری در میزان جریان بزاق ($28/27 \pm 7/8$ در مقابل $10/94 \pm 12/24$) میلی‌متر در پنج دقیقه، ظرفیت بافری

($6/47 \pm 0/68$ در مقابل $5/06 \pm 0/52$)، آمیلاز ($2536/5 \pm 707/9$ در مقابل $1053/23 \pm 343/5$) واحد بین المللی در لیتر و غلظت IgM

($0/87 \pm 1/18$ در مقابل $0/04 \pm 0/07$) میلی‌گرم در دسی لیتر قبل و بعد از پرتو درمانی دیده شد. تغییر معنی‌داری در میزان IgA،

Total protein و آلبومین دیده نشد. از لحاظ بالینی خشکی دهان، از دست رفتن حس چشایی مشکل در بلع و غذا خوردن و مشکلات

تکلم به ترتیب در (۱۰۰٪، ۱۰۰٪، ۸۳٪ و ۱۶٪) از بیماران دیده شد.

نتیجه‌گیری: بر پایه نتایج این مطالعه پرتو درمانی سر و گردن موجب کاهش جریان بزاق، قدرت بافری و غلظت آمیلاز و IgM می‌شود.

کلید واژه‌ها: بزاق - پرتودرمانی - آمیلاز - ظرفیت بافری - ایمونوگلوبین - جریان بزاق .

پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۴/۵

اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۲/۱۰

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۶/۷

نویسنده مسئول: دکتر دنیا صدری، گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران

e.mail:Donia1351@yahoo.com

مقدمه

ایجاد کند. عوارض حاد شامل موکوزیت، دیسفاژی خشونت

بافتی، اریتم و دسکومه شدن پوست می‌باشد. (۲)، عوارض

مزمّن در نتیجه صدمه دراز مدت به عروق، غدد بزاقی،

مخاط، بافت همبندی و استخوان می‌باشد که نوع و شدت این

تغییرات به طور مستقیم با دوزیمتری، دوز کلی دریافتی،

میزان تقسیمات تابش اشعه و دوره درمان مرتبط است.

سرطان سر و گردن ششمین سرطان شایع در جهان

می‌باشد که ۲/۸٪ بدخیمیها را تشکیل می‌دهد. با اینکه نقش

شیمی درمانی در درمان بیماران در حال افزایش است، ولی

رادیوتراپی و جراحی درمان عمده به شمار می‌آید. (۱)

رادیوتراپی ناحیه سر و گردن به خاطر اثرات جانبی، بر

روی بافت‌های طبیعی می‌تواند عوارض حاد و طولانی مدتی

۱۲-۱۸ ماه از رادیوتراپی به حالت اولیه برگردد. ولی به طور کلی خشکی دهان به صورت مشکلی غیر قابل برگشت در تمام طول عمر باقی می ماند. (۹-۱۰)

با توجه به تأثیر تابش اشعه یونیزان بر ساختار بافتی غدد بزاقی (۷) این مطالعه با هدف بررسی تأثیر پرتو درمانی بر شاخصهای بیوشیمیایی بزاق انجام گردید.

روش بررسی

مطالعه به روش نیمه تجربی انجام گردید. جهت جمع آوری اطلاعات از روش مصاحبه، مشاوره، تکمیل فرم اطلاعاتی و آزمایشهای لابراتواری استفاده شد. جامعه مورد بررسی شامل ۱۸ بیمار مبتلا به سرطان سر و گردن که در طول مدت تحقیق از تاریخ ۱۳۸۸/۲/۱۶ لغایت ۱۳۸۹/۳/۱۷ به بخش رادیوتراپی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی (ره) مراجعه کرده و کلیه معیارهای ورود به تحقیق را دارا بودند. معیارهای ورود به این مطالعه شامل موارد زیر بود:

۱- ابتلا به یکی از سرطانهای ناحیه سر و گردن
 ۲- قرار گرفتن بیمار تحت رادیوتراپی به طوری که یکی از غدد بزاقی اصلی در محدوده تابش اشعه باشد.

۳- نداشتن سابقه رادیوتراپی

با توجه به پیشینه و انجام مطالعات اولیه (Pilot)، تعداد ۱۸ بیمار به صورت قبل و بعد مورد ارزیابی قرار گرفتند.

در این مطالعه، ۱۸ بیمار مبتلا به سرطان سر و گردن مراجعه کننده به بخش رادیوتراپی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی (ره) بعد از توجیه طرح و تکمیل فرم رضایت نامه وارد مطالعه شدند. بزاق کامل (Whole saliva) بیماران یک بار قبل و مجدداً در آخرین جلسه رادیوتراپی جمع آوری شد (بیماران می بایست یک ساعت قبل از نمونه گیری از خوردن، آشامیدن و مصرف سیگار خودداری می کردند).

(۹)، برای جلوگیری از تغییرات کورتیزول خون نمونه گیری بزاق بین ساعت ۹-۱۱ صبح و در اتاق مجزا در شرایط آرام انجام گرفت. از بیمار خواسته شد بزاق خود را در دهان برای چند دقیقه جمع کرده و آن را داخل ظروف مخصوص تخلیه نماید. این کار تا جمع آوری حداقل دو میلی لیتر از

آسیبهای تأخیری ممکن شامل استئونکروز، فیبروز، تریسموس، از دست رفتن حس چشایی، پوسیدگی و تخریب گوش میانی یا داخلی می باشد. (۳)

خشکی دهان برجسته ترین مشکل در این بیماران است. به این دلیل که معمولاً میزان بالای اشعه، غدد بزاقی را به صورت دو طرفه درگیر می کند (۴)، آسیب غدد بزاقی ناشی از رادیوتراپی باعث تغییر در حجم، غلظت و pH بزاق ترشح شده می شود. این بیماران از ناراحتیهای دهانی یا درد رنج می برند و در صحبت کردن، جویدن و بلعیدن با مشکل مواجه هستند. تغییر در میزان ترشح بزاق و شاخصهای بیوشیمیایی آن (آمیلاز- پروتئین- ایمونوگلوبین ها و ظرفیت بافیری) موجب بروز موکوزیت، افزایش ریسک پوسیدگی و عفونتهای قارچی دهانی شده و می تواند منجر به کاهش دریافت مواد غذایی و کاهش وزن در بیماران تحت درمان گردد. عوارض ناشی از پرتو درمانی نه تنها باعث کاهش کیفیت زندگی در بسیاری از بیماران می شود بلکه مشکلات عمده ای را برای آنها به وجود می آورد. (۵)

خشکی دهان ناشی از پرتودرمانی به سرعت در طی درمان بروز می کند: در هفته اول ۵۰٪-۶۰٪ جریان بزاق کاهش یافته، بعد از هفت هفته جریان بزاق تا ۲۰٪ کاهش می یابد. (۶)

ظاهراً سلولهای تولید کننده بزاق از بین نمی روند بلکه عملکردشان در طی روزهای اول بعد از پرتو درمانی دچار مشکل می شود. Valdez برای شرح نقص عملکردی غدد بزاقی ناشی از تابش اشعه دو مکانیسم جداگانه را پیشنهاد کرد: نخست نقص عملکردی به دنبال تخریب غشایی که باعث اختلال در گیرنده های واسطه ای که مسیر ترشح آب را کدگذاری می کنند به وجود می آید و هیچ گونه مرگ یا لیز سلولی صورت نمی گیرد. از طرفی دیگر سلولهای کشنده و Stem cell ها با متوقف کردن تجدید سلولی و تخریب سلولهای محیطی باعث می شوند سلولهای ترشحی عملکرد مناسب کوتاهی داشته باشند. (۷)، عملکرد بزاقی تا چند ماه بعد از رادیوتراپی روند نزولی خود را طی می کند. (۸)، بسته به مقدار دریافت شده توسط غدد بزاقی و مقدار بافتی از غده که تحت اشعه قرار گرفته، امکان دارد که بعد از گذشت

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۸ بیمار شامل ۱۲ مرد و شش زن با میانگین سنی $57/05 \pm 13/3$ سال مورد ارزیابی قرار گرفتند که ۱۱ نفر به کار سینوم سلول‌های سنگفرشی (SCC) و هفت نفر به سرطانه‌های مختلف حفره دهان مبتلا بودند. پنج نفر معادل $27/8\%$ از بیماران سابقه مصرف سیگار و ۱۴ نفر برابر $77/8\%$ سابقه عمل جراحی را در تاریخچه خود ذکر کردند. میانگین میزان دریافتی کلی اشته $5822/2 \pm 942$ سانتی گری و میانگین تعداد جلسات بین (کمترین، بیست و بیشترین، ۳۵ جلسه) $30/05 \pm 3/7$ بود. در ارزیابی کلینیکی بیماران همگی از خشکی دهان به ویژه در شب به مقدار 100% و از دست رفتن حس چشایی به میزان 100% رنج می‌بردند. سه نفر برابر $16/7\%$ در صحبت کردن و ۱۵ نفر معادل $83/3\%$ در خوردن و بلع غذا با مشکل مواجه شده بودند. طبق جدول ۱، در میزان جریان (Flow rate)، pH، آمیلاز و میزان IgM نمونه‌های بزاقی کاهش معنی‌داری مشاهده شد و در میزان IgA، IgG، Total protein و آلبومین تغییرات معنی‌داری دیده نشد.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که رادیوتراپی بر میزان Flow rate (کمیت) بزاق بیماران تحت درمان اثر می‌گذارد که این امر منجر به خشکی دهان و بروز مشکلات عیدیه ناشی از آن خواهد شد.

در مطالعه انجام شده، میزان جریان بزاق و pH آن به دنبال رادیوتراپی کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۱) که نتایج حاصل از مطالعات دیگر را تأیید می‌کند. (۱۱-۱۲ و ۱۷-۱۸)، کاهش ترشحات بزاقی به دنبال رادیوتراپی به علت روند دژنراتیو غیرقابل برگشت در غدد بزاقی است که باعث فیروز و اتروفی شدید پارانشیم غدد و ضمائم آن مثل عروق و اعصاب می‌شود. سلول‌های عملکردی غدد بزاقی (سلول‌های ترشچی و اسینار) با وجود اینکه به شدت

بزاق ادامه یافت. سپس میزان Flow rate بزاق بیمار با آزمایش Schirmer بر حسب میلی‌متر در پنج دقیقه ثبت شد. (۱۱)، نمونه‌ها به واحد بیوشیمی آزمایشگاه بیمارستان ولیعصر مجتمع بیمارستان امام خمینی (ره) ارسال و در دمای $70-^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد برای ارزیابی سایر شاخصهای بیوشیمیایی ذخیره شدند. نحوه اندازه‌گیری شاخصهای بیوشیمیایی بزاق بدین شرح می‌باشد:

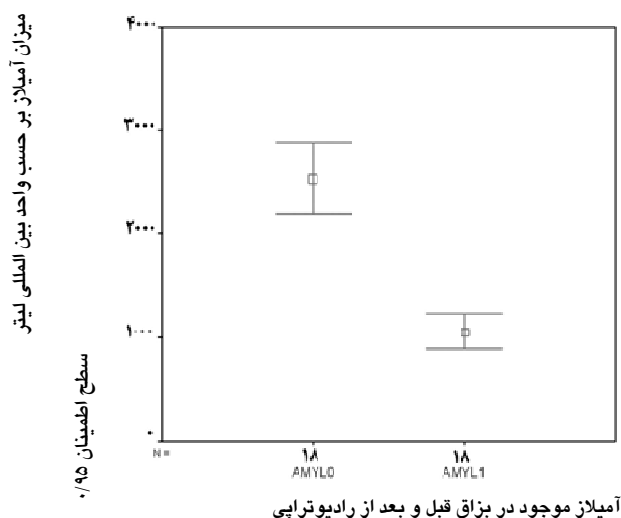
ابتدا نمونه‌ها پنج دقیقه با دور دوهزار و پانصد دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. PH بزاق با PHmeter محاسبه شد. (۱۲)

برای اندازه‌گیری مقدار Total proteins از روش Biuret استفاده گردید. در این روش پروتئین‌ها در محیط قلیایی با یون تارتات و مس تشکیل یک کمپلکس لاجوردی رنگ می‌دهند که شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار Total proteins در نمونه خواهد بود. مقدار آلبومین به روش فتومتریک به این صورت اندازه‌گیری می‌شد که آلبومین موجود در بزاق با Bromo Cresol Green (در PH اسیدی) یک کمپلکس سبز-آبی ایجاد می‌کند. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار آلبومین موجود در نمونه می‌باشد (۱۳-۱۴) میزان IgM، IgG، IgA (با استفاده از کیت Bio system) به روش Turbidimetry اندازه‌گیری می‌شد. (۱۵-۱۶)، کلیه عوامل فوق توسط دستگاه اتو آنالیزور BT3000 (ساخت ایتالیا کمپانی Biotecnica) ارزیابی شد.

برای اندازه‌گیری مقدار amylase نمونه بزاق به نسبت ۱ به ۱۰ با سرم فیزیولوژی رقیق شده و به روش دستی توسط روش اسپکتروفتومتری بر حسب IU/L محاسبه گردید. (۱۷)، در آخرین جلسه رادیوتراپی قبل از گرفتن نمونه بزاق، علائم دهانی با توجه به شکایت بیماران ثبت شده و به صورت درصد بیان شد. برای مقایسه نتایج تغییرات میزان Flow Rate، pH، Total Proteins، Amylase، آلبومین، IgA، IgG و IgM بزاق قبل و بعد از رادیوتراپی از تست آماری pair T-test استفاده شد.

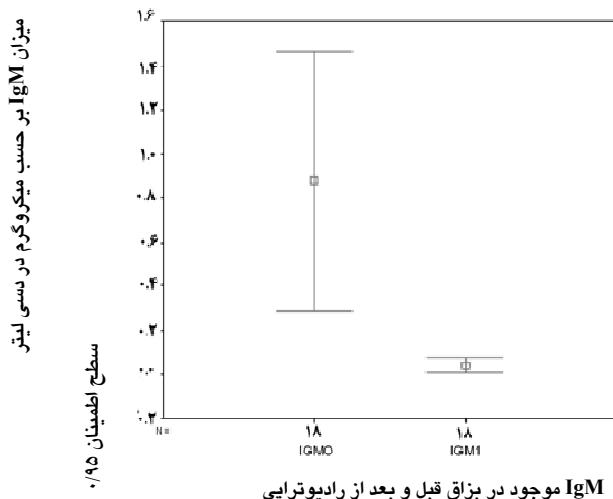
جدول ۱: تغییرات شاخصهای بیوشیمیایی بزاقی در بیماران مورد بررسی به تفکیک قبل و بعد از درمان

عوامل	آلبومین	امیلاز	پروتئین	IgG	IgM	IgA	PH	جریان بزاق
و معیارسنجش (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	(واحد بین‌المللی/لیتر)	(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)		میلی‌متر/پنج دقیقه
قبل از درمان	۰/۰۵±۰/۰۶	۲۵۳۶/۵±۷۰۷/۹	۰/۶۳±۰/۶۴	۰/۵±۱/۱۵	۰/۸۷±۱/۱۸	۲۲/۱۱±۱۱/۶۹	۶/۴۷±۰/۶۸	۲۸/۲۷±۷/۸
بعد از درمان	۰/۰۹±۰/۰۷۲	۱۰۵۳/۲۲±۳۴۳/۵	۰/۹۳±۰/۸۹	۰/۹۴±۱/۱	۰/۰۴±۰/۰۷	۱۶/۲۵±۶/۳۷	۵/۰۶±۰/۵۲	۱۰/۹۴±۱۲/۲۴
	P=۰/۱۲	P<۰/۰۵	P=۰/۲۷	P=۰/۲۸	P<۰/۰۵	P=۰/۰۹	P<۰/۰۵	P<۰/۰۵



آمیلاز موجود در بزاق قبل و بعد از رادیوتراپی

نمودار ۱: میزان تغییرات آمیلاز بزاق در بیماران رادیوتراپی شده قبل و بعد از درمان



IgM موجود در بزاق قبل و بعد از رادیوتراپی

نمودار ۲: میزان تغییرات IgM بزاق در بیماران رادیوتراپی شده قبل و بعد از درمان

متمایز بوده و فعالیت میتوتیک اندکی دارند اما به شدت در مقابل اشعه درمانی حساسند. مطالعات نشان می‌دهد در اولین روزهای پس از پرتو درمانی به دلیل تخریب غشای سلول‌های ترشحی مسیر پیام‌رسانی وابسته به رسپتورها جهت ترشح آب دچار اختلال می‌شود. (۵)، کاهش جریان بزاق منجر به کاهش pH و افزایش تعداد میکروارگانیسم‌های اسیدوفیل در بزاق و پلاک‌های دندان می‌شود و ابتلا به عفونت‌های کاندیدیایی و پوسیدگی‌های دندان را افزایش می‌دهد. (۱۸)، میزان آمیلاز به دنبال رادیوتراپی کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۱). که نتیجه حاصله مشابه مطالعات دیگر بود. (۱۱-۱۲ و ۱۸-۱۹)، آمیلاز یکی از آنزیم‌های بزاقی است که نشانگر قابل اعتمادی برای تعیین عملکرد سلول‌های سرورزی در نظر گرفته می‌شود. از طرفی غده پاراتیوئید بیشتر از سلول‌های سرورزی تشکیل شده و نسبت به رادیوتراپی حساستر از غده بزاقی تحت فکی و زیر زبانی می‌باشد. (۱۹)، بنابراین به نظر می‌رسد، کاهش آمیلاز که در این مطالعه دیده شد، ناشی از نقص عملکرد سلول‌های سرورزی به خصوص در غده پاراتیوئید است. اما مطالعه Takei T کاهش آمیلاز و پروتئین‌های کلی بزاق را به کاهش جذب پروتئین به علت نوع تغذیه بیماران در این دوره مرتبط می‌داند. (۲۰)

در این مطالعه میزان IgA و IgM در نمونه‌های بزاقی به دنبال رادیوتراپی، کاهش یافت اما فقط کاهش IgM نسبت به میزان آن قبل از رادیوتراپی از لحاظ آماری معنی‌دار بود. ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۲)، مطالعات نشان می‌دهد ترشح IgA توسط پلاسماسل‌های مجاری بین‌لبولی غده بزاقی اصلی و

افزایش معنی‌دار بود. احتمالاً این نتیجه به دلیل زمانهای متفاوت نمونه‌گیری بعد از رادیوتراپی و تعدادی بیشتر نمونه‌های مورد مطالعه می‌باشد. (۱۰ و ۱۸)

در مطالعه حاضر زمان نمونه‌گیری بلافاصله پس از آخرین جلسه رادیوتراپی بوده در حالی که در مطالعاتی که افزایش میزان Total Proteins و آلبومین پس از رادیوتراپی معنی‌دار شده شش ماه تا دو سال از اتمام درمان گذشته بوده است. (۱۱ و ۱۸)، با توجه به عوارض حاد پرتودرمانی و موکوزیت ناشی از آن که موجب اختلال در ارتشاح آلبومین از سرم به بزاق می‌شود این تفاوت قابل توجیه است. (۲۲)

در مطالعه حاضر کاهش بزاق باعث خشکی دهان و از دست رفتن حس چشایی در ۱۰۰٪ بیماران و اختلال در بلع و غذا خوردن در ۸۳/۳٪ بیماران و اختلال در تکلم در ۱۶/۷٪ بیماران بعد از پرتو درمانی دیده شد که مشابه مطالعات دیگر بود. (۵، ۱۲ و ۲۳)، خشکی دهان ناشی از آسیب سلول‌های عملکردی غدد بزاقی (اسینار و ترشحات) می‌باشد و کاهش حس چشایی به دنبال کاهش جریان بزاق، تغییرات شیمیایی آن و تخریب پاپی‌های زبان به دنبال پرتو درمانی است.

اختلال در بلع و غذا خوردن ناشی از فیبروز عضلات انقباضی فارتژیال و اختلال در تکلم ناشی از خشکی دهان و آسیب عضلات درگیر می‌باشد. (۲۳-۲۴)

نتیجه‌گیری

از نتایج این بررسی می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که رادیوتراپی سر و گردن موجب کاهش ترشحات بزاقی (به عنوان شاخصهای PH، Flow rate، امیلاز و IgM) می‌باشد و بسیاری از عوارض پرتودرمانی سر و گردن ناشی از تغییرات کمی و کیفی بزاق است.

فرعی و با همکاری سلول‌های لنفوسیت T انجام می‌شود اما در مقادیر بالای اشعه درمانی با آسیب این سلول‌ها ترشح این نوع ایمونوگلوبین دچار اختلال می‌شود. (۲۱) در رابطه با کاهش معنی‌دار IgM با توجه به منشا سرمی آن به نظر می‌آید آتروفی مخاط دهان و نوروپاتی ناشی از اشعه درمانی مانع جذب آن به بزاق می‌شود. (۲۲)، در این مطالعه میزان IgG نسبت به مقدار آن قبل از رادیوتراپی افزایش غیر معنی‌داری داشت با توجه به اینکه سایر مطالعات غلظت سرمی و بزاقی این ایمونوگلوبولین را یکسان می‌دانند افزایش اندک آن را ناشی از انتقال سرمی آن از ناحیه سلکوس و مخاط ملتهب لثه می‌دانند. (۲۰)، در سایر مطالعات به تغییرات IgM و IgG به ندرت پرداخته شده است که بررسی‌های بیشتر را در مطالعات آینده می‌طلبد.

در تحقیق L. Eliason و همکاران در سال ۲۰۰۵، میزان IgA بزاق بیماران بعد از رادیوتراپی افزایش نشان می‌داد. (۱۸)، این اختلاف نظر در نتایج به دست آمده به علت تفاوت در زمان نمونه‌گیری بعد از رادیوتراپی و روش متفاوت اندازه‌گیری میزان ایمونوگلوبولین بوده است.

ایمونوگلوبولین ترشحاتی، مکانیسم دفاع ذاتی را برای محافظت از سطوح مخاطی در برابر نفوذ میکروب‌ها تقویت می‌کنند. ایمونوگلوبولین ترشحاتی (SIg) به واسطه همکاری بین دو سری سلول متفاوت ساخته می‌شود. ابتدا ایمونوگلوبولین توسط پلاسماسل ساخته شده سپس توسط گیرنده‌ی سلول‌های اپی تلیالی وارد سلول شده و بعد از اتصال زنجیره ترشحاتی به آن به داخل لومن ریخته می‌شود. (۲۱)، به نظر می‌رسد به علت تخریب سلول‌های اپی تلیالی مخاط و عروق به دنبال رادیوتراپی، این فرآیند مختل شده و بروز ایمونوگلوبولین ترشحاتی (SIg) در بزاق کاهش می‌یابد.

میزان Total Proteins و آلبومین در نمونه‌های بزاقی بعد از رادیوتراپی در مقایسه با قبل از درمان افزایش یافت ولی از لحاظ آماری معنادار نبود که این نتیجه با مطالعه Cassio de Barros pontes در سال ۲۰۰۴ هماهنگی داشت. (۱۱)، اما در مطالعه‌ای که L. Eliasson و همکارانش در سال ۲۰۰۵ و A. Almstahi و همکارانش در سال ۲۰۰۱ انجام دادند این

REFERENCES

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006Mar-Apr;56(2):106-30.
2. Cooper JS, Fu K, Marks J, Silverman S. Late effects of radiation therapy in the head and neck region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995Mar30;31(5):1141-64.
3. Wijers O, Levendag P, Braaksman M, Boonzaaijer M, Visch LL, Schmitz PI. Patients with head and neck cancer cured by radiation therapy: a survey of the dry mouth syndrome in long-term survivors. *Head Neck* 2002Aug; 24(8): 737-747.
4. Dirix P, Nuyts S, Vanden Bogaert W. Radiation- Induced Xerostomia in patients with head and neck cancer:A literature review. *Cancer* 2006 Dec; 107(11): 2525-34.
5. Franzen L, Funegard U, Ericson T, Henrikson R. Parotid gland function during and following radiotherapy of malignancies in the head and neck: a consecutive study of salivary flow and patient discomfort. *Eur J Cancer.* 1992; 28(2-3): 457-462.
6. Konings A, Coppes R, Vissink A. On the mechanism of salivary gland radiosensitivity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005Jul15; 62(4): 1187-1194.
7. Valdez I. Radiation- induced salivary dysfunction: Clinical course and significance. *Special Care Dent.* 1991Nov-Dec; 11(6): 252-255.
8. Eneroth C, Henrikson C, Jacobson P. Effect of fractionated radiotherapy on salivary gland function. *Cancer* 1972 Nov; 30(5): 1147-1153.
9. Roesink J, Moerland M, Battermann JJ, Hordijk GJ, Terhaard CH . Quantitative dose-volume response analysis of changes in parotid gland function after radiotherapy in the head and neck region. *Int radiat oncol Bio Phys.* 2001Nov15; 5 (4): 938-946.
10. Almstahi A, Wikstrom M, Groenink J. Lactoferrin, amylase and mucine muc5b and their relation to the oral microflora in hyposalivation of different origins. *Oral Microbial Immunol.* 2001Dec;16(6):345-52.
11. De Barros Pontes C, Polizello AC, Spadaro AC. Clinical and biochemical evaluation of the saliva of patients with xerostomia induced by radiotherapy. *Braz Oral Res.* 2004Jan-Mar; 18(1): 69-74.
12. Thomas L. *Clinical laboratory diagnostics: Use and assessment of clinical laboratory results.* 1th ed. 1998 Oct, Publisher: Amer Assn for Clinical Chemistry: 217-22.
13. Johnson Am, Rohlf's Em, silverman Lm. Proteins in: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz textbook of clinical chemistry.* 3rd ed. Philadelphia: W. B Saunders Com; 1999, 477-540.
14. Narayana S. Method-comparison studies on immunoglobulins .*Clin Chem.*1982 Jul; 28(7):1528-37.
15. Lorentz K. Routine-Amylase assay using protected 4-nitrophenyl-1,4- α -D-maltoheptaoside and a Novel α -Glucosidase. *Clin Chem.* 2000;46: 644-649.
16. Moss DW, Henderson AR. *Clinical Enzymology.* In: Ashwood EA, Burtis CA, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry,* 3rd ed. Philadelphia: PA: W.B Saunders Company. Philadelphia. 1999:689-98.
17. Chitra S, Shyamala Devi Cs-Effect of radiation and α -tocopherol on saliva flow rate, amylase activity, total protein and electrolyte levels in oral cavity cancer. *Ind J Dent Res.* 2008 Jan; 19(3): 213-18.

18. Eliasson L, Almstahi A, Lingstrom P, Wikstrom M, Carlen A. Minor gland saliva flow rate and proteins in subjects with hyposalivation due to Sjorgren's syndrome and radiation therapy. *Arch Oral Biol.* 2005 Mar; 50(3): 293-9.
19. Cohen RE., Aguirre A, Neiders ME, Levine MJ, JonesPC, ReddyMS. Immunochemistry and immunogenicity of low molecular weight human salivary mucin. *Arch Oral Biol.* 1991;36(5)345-56.
20. Takei T, Aono W, Nagashima S, Yoshida T, Hashida T, Soube S, etal. Change of salivary IgA secretion and caries development in Irradiation Rats. *J Dent Res.*1994 Sep;73(9):1503-8.
21. Hershkovich O, Nagler R. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in pations with kurning mouth syndrome, xerostomia and / or gustatory disturbances. *Arch Oral Biol.* 2004Jul; 49(7): 515-522.
22. Nagler RM,Nagler A.The effect of pilocarpine on the constituents in saliva in patients with graft V host disease.*Arch Oral Biol.* 2001Aug;46(8):689-95.
23. Fischer Rubira C, Devides N, Torsani L, Bortoluccio Jr A, Roberto Lauris J, Frishcer Rubira-Bullen I,etal. Evaluation of some oral past radio therapy squeal in patients treated for head and neck tumor. *Braz Oral Res.* 2007 May; 21(3): 272-7.
24. Toida M, Nanya Y, Takeda-Kawaguchi T, Baba S, Iida K, Kato K, etal. Oral complains and stimulated salivary flow ratein 1188 adults. *J Oral Pathol Med.* 2010 May;39(5):407-419.