

Investigation of Changes in Aspartate Aminotransferase and Alanine Aminotransferase in Serum and Saliva of Patients with Inflammatory Bowel Disease (IBD)

Mohammad Arbaghaei¹
Iraj Mirzaii-Dizgah²
Peyman Aslani³

¹ Student Research Committee; School of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Associate Professor, Department of Medical Mycology, School of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received May 22, 2024; Accepted August 31, 2024)

Abstract

Background and purpose: Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic, recurrent, and autoimmune disease of the digestive system with intra- and extra-intestinal manifestations. IBD is divided into Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). The prevalence exceeds 3 million people per year and is reported more frequently in industrialized countries than in developing ones. IBD is a lifelong disease that affects the quality of life of sufferers and also increases the risk of colon cancer due to chronic inflammation. Today, the diagnosis and follow-up of this disease is based on history, imaging of the gastrointestinal tract, and pathology findings, which is expensive and has the risk of damage to the gastrointestinal tract, for this reason, the use of new methods has attracted the attention of researchers. Saliva is easy to use, cheap, has no risk of infection, and is always available. The changes of some parameters in the serum and saliva of IBD patients have been investigated, but no study has been done on aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). Studies have shown that AST and ALT can be used as a marker for cell damage and inflammation. This study aimed to investigate the salivary and serum changes of these two markers in patients with inflammatory bowel disease (IBD).

Materials and methods: This cross-sectional study was conducted in 1402 in the gastroenterology clinic of Imam Reza Hospital in Tehran. 30 people with IBD with a definitive diagnosis by pathology as the patient group and 30 healthy people who visited the hospital for an annual checkup participated in the study as the control group. First, the patients were asked to wash their mouths and swallow the remaining liquid, and without actively moving the mouth and tongue, pour the secreted saliva into the sterile falcon tube. Then, by a skilled person, 5 ml of venous blood was taken from the cubital area of the patient and put into the clot tube. Immediately after collection, the samples were centrifuged at 4000 rpm for 5 minutes. Blood serum and non-stimulating saliva supernatant were transferred into a microtube and stored in a freezer at -70 degrees Celsius. Enzyme activity was measured using the photometric method according to the manufacturer's instructions (Pars Azmon-Shiraz) and the data was analyzed by t-test with SPSS version 22 software.

Results: 30 patients with IBD (17 men and 13 women) with an average age of 37.7 ± 2.3 years and 30 healthy subjects (16 men and 14 women) with an average age of 32.5 ± 2.2 years were included in the study. ($P < 0.05$). Data analysis showed that in the patient group, the serum level of AST and ALT in the patient and healthy groups was not significantly different. However, salivary AST level, unlike ALT level, increases significantly in patients.

Conclusion: According to the results of this study, the salivary activity of aspartate aminotransferase (AST) appears to be increased in patients with IBD.

Keywords: inflammatory bowel disease, saliva, serum, Aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (237): 183-188 (Persian).

Corresponding Author: Peyman Aslani - School of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: PeymanAslani@yahoo.com)

بررسی تغییرات سطوح آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز در سرم و بزاق بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده

محمد اربقائی^۱
ایرج میرزایی-دیزگاه^۲
پیمان اصلانی^۳

چکیده

سابقه و هدف: بیماری التهابی روده (IBD) یک بیماری مزمن، عودکننده و خودایمنی سیستم گوارش با تظاهرات داخل و خارج روده‌ای است. IBD به دو دسته بیماری کرون (CD) و کولیت اولسراتیو (UC) تقسیم می‌شود. شیوع آن‌ها بیش از ۳ میلیون نفر در سال بوده و در کشورهای صنعتی بیش تر از کشورهای در حال توسعه گزارش شده است. IBD یک بیماری مادام‌العمر است که بر کیفیت زندگی افراد مبتلا تأثیر می‌گذارد و هم‌چنین به دلیل التهاب مزمن خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ را به همراه دارد. امروزه تشخیص و پیگیری این بیماری با شرح حال، تصویربرداری لوله گوارش و یافته‌های پاتولوژی می‌باشد که هزینه بر و دارای ریسک آسیب به لوله گوارش است، به همین دلیل استفاده از روش‌های جدید مورد توجه محققان قرار گرفته است. استفاده از بزاق آسان، ارزان، فاقد ریسک انتقال عفونت و همیشه در دسترس است. تغییرات برخی پارامترها در سرم و بزاق بیماران IBD بررسی شده است؛ اما تاکنون بر روی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) مطالعه‌ای انجام نشده است. بررسی‌ها نشان داده است AST و ALT می‌توانند به عنوان یک مارکر برای آسیب سلولی و التهاب استفاده شوند. این مطالعه با هدف بررسی تغییرات بزاقی و سرمی این دو مارکر در بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده (IBD)، انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی، در سال ۱۴۰۲ در درمانگاه گوارش بیمارستان امام رضا (ع) تهران انجام گرفت. ۳۰ فرد مبتلا به IBD با تشخیص قطعی به وسیله پاتولوژی به عنوان گروه بیمار و نیز ۳۰ فرد سالم که جهت چکاپ سالیانه به بیمارستان مراجعه کرده بودند به عنوان گروه کنترل در مطالعه شرکت کردند. ابتدا از بیماران خواسته شد تا دهان خود را شسته و مایع باقی مانده درون دهان خود را بلعیده و بدون حرکت فعال دهان و زبان، بزاق ترشح شده را به درون لوله فالکون استریل بریزند. سپس به وسیله یک فرد ماهر ۵ میلی‌لیتر خون وریدی از ناحیه کوبیتال بیمار گرفته و درون لوله لخته ریخته شد. بلافاصله پس از جمع‌آوری، نمونه‌ها با دور ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم خون و مایع روایی بزاق غیر تحریکی به درون میکروتیوب منتقل و درون فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فعالیت آنزیم‌ها با استفاده از روش فنومتریک طبق دستورالعمل شرکت سازنده (پارس آزمون- شیراز) اندازه‌گیری و داده‌ها به وسیله آزمون تی با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: ۳۰ بیمار مبتلا به IBD (۱۷ مرد و ۱۳ زن) با میانگین سنی $37/7 \pm 2/3$ سال و ۳۰ فرد سالم (۱۶ مرد و ۱۴ زن) با میانگین سنی $32/5 \pm 2/2$ سال وارد مطالعه شدند ($P > 0/05$). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در گروه بیمار، سطح سرمی AST و ALT در گروه بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری ندارد. اما سطح AST بزاقی برخلاف سطح ALT آن در بیماران به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

استنتاج: با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد فعالیت بزاقی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در بیماران مبتلا به IBD افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: بیماری التهابی روده، بزاق، سرم، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز

E-mail: PeymanAslani@yahoo.com

مؤلف مسئول: پیمان اصلانی- تهران: خ فاطمی غربی، خ اعتمادزده دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

۲. استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

۳. استادیار، گروه جراحی شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۳/۱۲ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۶/۱۰

مقدمه

استفاده می‌شوند، اما مطالعات اخیر نشان دهنده پتانسیل بالقوه آن‌ها در بررسی آسیب به سلول‌های قلب، پانکراس، ماهیچه‌ها، کلیه‌ها و سایر سلول‌ها است (۱،۹). با توجه به تظاهرات دهانی IBD، مطالعات متعددی بر روی پارامترهای بزاقی این بیماران انجام شده است، اما تاکنون تغییرات AST و ALT بررسی نشده است (۳،۱۳-۱۱). در این مطالعه به بررسی تغییرات سطوح AST و ALT در سرم و بزاق بیماران IBD پرداخته است.

مواد و روش‌ها

کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آجا اصول اخلاقی مطالعه را با کد IR.AJAUMS.REC.1402.130 تایید کرده است رضایت‌نامه کتبی و آگاهانه از تمامی شرکت‌کنندگان گرفته شد. در این مطالعه مقطعی، ۳۰ بیمار که با تظاهرات بالینی مرتبط به درمانگاه گوارش بیمارستان مراجعه و به‌وسیله کولونوسکوپی تحت مشاهده و نمونه‌برداری قرار گرفته و توسط پاتولوژیست تشخیص IBD گذاشته شده بودند، انتخاب شدند. هم‌چنین ۳۰ نفر از داوطلبان سالم که جهت چکاپ سالیانه به بیمارستان مراجعه کرده بودند نیز به‌عنوان گروه کنترل وارد این مطالعه شدند. معیارهای خروج از مطالعه شامل دیابت، هپاتیت حاد یا مزمن، مصرف الکل، کبد چرب، سندرم شوگر و بیماری‌های پریدنتال بود. نمونه‌گیری از همه شرکت‌کنندگان در صبح و به صورت ناشتا انجام شد. داوطلبان ابتدا بزاق درون دهان خود را بلعیده و سپس بزاق ترشح شده را بدون حرکت فعال دیواره دهان درون لوله فالكون استریل جمع‌آوری کردند. سپس توسط یک فرد ماهر ۵ میلی‌لیتر خون وریدی گرفته شد. تمامی نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شده و سرم خون و مایع رویی بزاق به درون میکروتیوب منتقل و در دمای ۷۰- درجه نگهداری شدند. میزان فعالیت AST و ALT سرمی و بزاقی به روش فتومتریک با استفاده از کیت آماده (پارس آزمو/شیراز) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. داده‌ها با

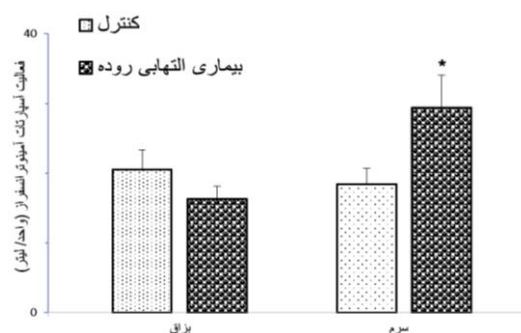
بیماری التهابی روده (IBD) گروهی از بیماری‌های مزمن و عودکننده سیستم گوارش هستند که در اثر عوامل مختلفی مانند ژنتیک، میکروبیوم و عدم تحمل سیستم ایمنی ایجاد می‌شوند و تظاهرات بالینی و پاتولوژیک مشابهی دارند و عمدتاً روده‌ی کوچک و بزرگ را درگیر می‌کنند (۱). دو نوع شایع IBD بیماری کرون (CD) و کولیت اولسراتیو (UC) هستند که در کشورهای صنعتی شایع‌تر از کشورهای در حال توسعه هستند و شیوع آن‌ها بیش از ۳ میلیون نفر در سال را گزارش شده است (۲). IBD یک بیماری مادام‌العمر است که بر کیفیت زندگی افراد مبتلا تأثیر می‌گذارد و هم‌چنین به‌دلیل التهاب مزمن خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ را به همراه دارد. بنابراین تشخیص زود هنگام و پیگیری منظم بیماری برای بیماران ضروری است. امروزه تشخیص و پیگیری این بیماری با شرح حال، تصویربرداری لوله گوارش و یافته‌های پاتولوژی می‌باشد که هزینه بر و دارای ریسک آسیب به لوله گوارش است، به همین دلیل استفاده از روش‌های جدید مورد توجه محققان قرار گرفته است (۳،۴). اخیراً توجه زیادی به استفاده از بزاق برای تشخیص یا پیگیری بیماری شده است (۵). بزاق مایعی شفاف و بیولوژیکی است که اجزای آن توسط سلول‌های غدد بزاقی ترشح و با به‌وسیله انتقال غیرفعال از خون وارد آن می‌شود (۶). استفاده از بزاق مزایای زیادی دارد. روش جمع‌آوری بزاق در مقایسه با خون بی‌خطر، غیرتهاجمی و ارزان بوده، نیازی به متخصص برای جمع‌آوری نمونه ندارد و هم‌چنین می‌توان به‌طور مکرر برای بیماران مورد استفاده قرار داد. در نتیجه، بزاق یک ابزار تشخیصی بالقوه است و استفاده از آن برای پیگیری و تشخیص بیماری‌ها در مراقبت‌های پزشکی و تحقیقات پزشکی بسیار مناسب است (۷،۸). سطوح آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) می‌تواند به پزشکان در تشخیص آسیب بافت کمک کند. اگرچه این دو آنزیم عمدتاً برای آسیب سلول‌های کبدی

استفاده از unpaired Student's t-test نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

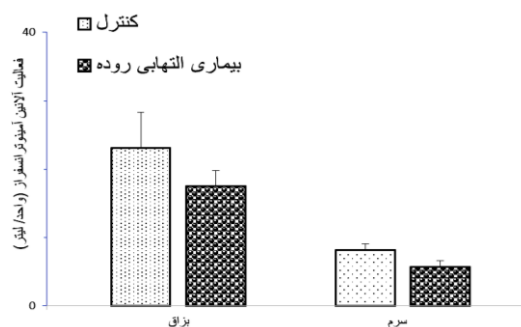
یافته‌ها و بحث

در این مطالعه ۳۰ بیمار (۱۷ مرد و ۱۳ زن) مبتلا به IBD با میانگین سنی 37.7 ± 2.3 سال و ۳۰ فرد سالم (۱۶ مرد و ۱۴ زن) با میانگین سنی 32.5 ± 2.2 سال وارد مطالعه شدند ($P > 0.05$). میانگین فعالیت بزاقی بر حسب واحد بر لیتر (U/L) در بیماران (29.4 ± 4.66) نسبت به گروه سالم (18.44 ± 2.32) به طور قابل توجهی بیشتر بود ($P = 0.041$). میانگین فعالیت بزاقی ALT در بیماران (5.74 ± 0.85) و در گروه کنترل (8.14 ± 0.98) بود.

میانگین فعالیت AST سرمی در بیماران (16.32 ± 1.83) و در گروه کنترل (20.56 ± 2.86) و فعالیت ALT سرمی در بیماران (17.56 ± 2.24) و در گروه کنترل (23.07 ± 5.24) بوده است (نمودار شماره ۱ و نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۱: فعالیت سرمی و بزاقی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه بیماران و گروه کنترل، * $P < 0.05$



نمودار شماره ۲: فعالیت سرمی و بزاقی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در گروه بیماران و گروه کنترل

با توجه به معنی دار شدن میزان AST بزاقی، نقطه برش آن با استفاده از آنالیز ROC curve (receiver operating characteristic curve) برای تفکیک افراد بیمار از سالم، $19/1$ بر حسب U/L با $P < 0.05$ و $AUC = 0.65$ و حساسیت ۶۷ و ویژگی ۶۳ درصد محاسبه گردید.

شانس همراهی (odds ratio) ابتلا به بیماری IBD در کسانی که میزان AST بزاقی بالاتر از $19/1$ دارند، $3/4$ برابر می باشد. بیماری التهابی روده (IBD) یک بیماری التهابی مزمن دستگاه گوارش است و دو فنوتیپ آن بیماری کرون (CD) و کولیت اولسراتیو (UC) می باشد و شیوع آن سالانه در سراسر جهان در حال افزایش است (۱۴). نتایج نشان داد که میزان فعالیت AST سرم و ALT سرم و بزاق و در دو گروه بیمار و کنترل تغییر معنی داری نداشت، اما AST بزاقی در گروه بیماران افزایش معنی داری داشت.

مطالعه‌ای بر روی بیماران دیابتی وابسته به انسولین و غیر وابسته به انسولین نشان داد که سطح AST بزاقی در هر دو گروه بیمار نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. این افزایش می تواند به علت تخریب سلول های غدد بزاقی در اثر نفوذ لنفوسیت ها باشد (۹). مطالعه دیگری در بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد نشان داد که سطح AST در بزاق به دلیل تخریب و نکروز بخشی از میوکارد به طور قابل توجهی افزایش یافته است (۷). هم چنین Dabra و همکاران نشان دادند که سطح AST بزاقی در افراد مبتلا به بیماری پریدنتال به علت التهاب ایجاد شده، به طور قابل توجهی افزایش می یابد (۱۵).

مطالعات قبلی نشان داده اند که غلظت سرمی AST و ALT در پاسخ به آسیب کبدی ناشی از IBD افزایش یافته که برخلاف مطالعه حاضر بود، این ناسازگاری ممکن است به علت استفاده مطالعه ذکر شده از بیماران در فاز فعال و نهفته بیماری باشد؛ در حالی که بیماران مورد مطالعه در مطالعه حاضر در فاز نهفته بوده و در

تا فعالیت AST و ALT قبل از دریافت دارو مشخص شود. پیشنهاد می‌شود سطح سرمی و بزاقی AST و ALT به صورت سریالی اندازه‌گیری شود تا بتوان اثر دارو و یا سیر بیماری را مشخص کرد.

سیاسگزاری

از همکاری صمیمانه تمام عزیزانی که در انجام این مطالعه به ما یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌نمائیم. لازم به ذکر است بین نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافع وجود ندارد.

حال مصرف دارو جهت کنترل بیماری بودند (۱۸-۱۶). اجزای بزاق از خون به صورت انتشار غیر فعال و یا از سلول‌های حفره دهان و غدد بزاقی منشاء می‌گیرند. از آنجایی که سطح آنزیم AST در بزاق بیماران نسبت به سرم افزایش یافته است، منشا خونی آن را نمی‌توان توجیه کرد، بنابراین به نظر می‌رسد التهاب غدد بزاقی به عنوان یک تظاهر خارج روده ای بیماری IBD، می‌تواند باعث آسیب سلولی و آزاد شدن محتویات آن به درون بزاق شده باشد (۲۲-۱۹). یک محدودیت این مطالعه عدم نمونه‌گیری از بیماران هنگام تشخیص اولیه بیماری بود.

References

- Ozin Y, Kilic MZ, Nadir I, Cakal B, Disibeyaz S, Arhan M, et al. Clinical features of ulcerative colitis and Crohn's disease in Turkey. *J Gastrointestin Liver Dis* 2009; 18(2): 157-162. PMID: 19565044.
- Hou JJ, Ma AH, Qin YH. Activation of the aryl hydrocarbon receptor in inflammatory bowel disease: insights from gut microbiota. *Front Cell Infect Microbiol* 2023; 13: 1279172. PMID: 37942478.
- Xu Z, Wei B, Qiu Y, Zhang T. Altered Salivary Alpha-Amylase Secretion in Patients with Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 4203737. PMID: 29977288.
- Olén O, Erichsen R, Sachs MC, Pedersen L, Halfvarson J, Askling J, et al. Colorectal cancer in Crohn's disease: a Scandinavian population-based cohort study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5(5): 475-484. PMID: 32066530.
- Malamud D. Saliva as a diagnostic fluid. *Dent Clin North Am* 2011; 55(1): 159-178. PMID: 21094724.
- Idkaidek N, Qawasmi H, Hanahen A, Abuqatouseh L, Hamadi S, Bustami M. Applicability of Saliva for Evaluation of Some Biochemical Parameters of Kidney and Liver Function in Healthy Individuals. *Mljgoums* 2020; 14(4): 1-6.
- Mirzaii-Dizgah M, Mirzaii-Dizgah M, Mirzaii-Dizgah I. Saliva Aspartate Aminotransferase in Acute Myocardial Infarction. *Ann Mil Health Sci Res* 2019; 17(2): e91971.
- Mirzaii-Dizgah MR, Mirzaii-Dizgah MH, Mirzaii-Dizgah I, Koshkzari R. The Association between Saliva and Vitamin D with Knee Osteoarthritis. *Journal of Nutrition and Food Security (JNFS)* 2023; 8(1): 108-113.
- Musumeci V, Cherubini P, Zuppi C, Zappacosta B, Ghirlanda G, Di Salvo S. Aminotransferases and lactate dehydrogenase in saliva of diabetic patients. *J Oral Pathol Med* 1993; 22(2): 73-76. PMID: 8445546.
- Huang XJ, Choi YK, Im HS, Yarimaga O, Yoon E, Kim HS. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. *Sensors (Basel)* 2006; 6(7): 756-782.
- Pereira MS, Munerato MC. Oral Manifestations of Inflammatory Bowel Diseases: Two Case Reports. *Clin Med Res* 2016; 14(1): 46-52. PMID: 26864508.

12. Nijakowski K, Rutkowski R, Eder P, Simon M, Korybalska K, Witowski J, et al. Potential Salivary Markers for Differential Diagnosis of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Life* 2021; 11(9): 943. PMID: 34575091.
13. Bos V, Crouwel F, Waaijberg P, Bouma G, Duijvestein M, Buitert HJ, et al. Salivary Calprotectin Is not a Useful Biomarker to Monitor Disease Activity in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Gastrointest Liver Dis* 2022; 31(3): 283-289. PMID: 36004414.
14. Hamid O, Alsabbagh Alchirazi K, Eltelbany A, Nanah R, Regueiro M. Increased prevalence of gout in patients with inflammatory bowel disease: A population-based study. *JGH Open* 2023;7(9): 640-644. PMID: 37744707.
15. Dabra S, China K, Kaushik A. Salivary enzymes as diagnostic markers for detection of gingival/periodontal disease and their correlation with the severity of the disease. *J Indian Soc Periodontol* 2012; 16(3): 358-364. PMID: 23162329.
16. Gisbert JP, Luna M, González-Lama Y, Pousa ID, Velasco M, Moreno-Otero R, et al. Liver injury in inflammatory bowel disease: long-term follow-up study of 786 patients. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13(9): 1106-1114. PMID: 17455203.
17. Cheng YW, McLean R, Sewell JL, Huang CY, Khalili M. Inflammatory bowel disease type influences development of elevated liver enzymes. *JGH Open* 2022; 6(12): 846-853. PMID: 36514498.
18. Lama S, Pagano E, Borrelli F, Maisto M, Tenore GC, Nani MF, Chacon-Millan P, Novellino E, Stiuso P. Polyphenol-Rich Extract from 'Limoncella' Apple Variety Ameliorates Dinitrobenzene Sulfonic Acid-Induced Colitis and Linked Liver Damage. *Int J Mol Sci* 2024; 25(6): 3210. PMID: 38542183.
19. Katsanos KH, Torres J, Roda G, Brygo A, Delaporte E, Colombel JF. Review article: non-malignant oral manifestations in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 42(1): 40-60. PMID: 25917394.
20. Vinod KS, Madathil LP, Shetty P, Kaur H, Patel M, Gouraha A. Salivary and serum aspartate aminotransferases and alanine aminotransferases in insulin-dependent diabetes mellitus and normal children: A comparative study. *J Int Soc Prevent Communit Dent* 2018; 8(3): 229-234. PMID: 29911060.
21. Finamore A, Peluso I, Cauli O. Salivary Stress/Immunological Markers in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Int J Mol Sci* 2020; 21(22): 8562. PMID: 33202858.
22. Malicka B, Skoskiewicz-Malinowska K, Kaczmarek U. Salivary lactate dehydrogenase and aminotransferases in diabetic patients. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(47): e5211. PMID: 27893660.