

بررسی سطح بزاقی فولات، فریتین و ویتامین B12 در بیماران مبتلا به زخم های آفتی عودکننده

سولماز پورزارع مهربانی^۱، پریا مطهری^{۱*}، فاطمه ظاهری^۲

^۱ استادیار، گروه بیماریهای دهان، فک و صورت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۲ دندانپزشک، گروه بیماریهای دهان، فک و صورت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۹۸/۱۱/۳ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/۱۹

Evaluation of Salivary Folate, Ferritin, and Vitamin B12 in Patients with Recurrent Aphthous Ulcers

Solmaz Pourzare Mehrabani¹, Paria Motahari^{1*}, Fatemeh Zaheri²

¹ Assistant Professor, Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

² Dentist, Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 23 January 2020; Accepted: 8 June 2020

Introduction: Recurrent aphthous ulcers (RAU) are one of the most common lesions of the oral mucosa affecting at least 10-20% of the general population. Various factors have been reported as predisposing or related factors to RAU. However, the etiopathogenesis of the condition is still unknown, and no definitive medication is available in this regard. This study aimed to compare the levels of the salivary folate, ferritin, and vitamin B12 in patients with RAU versus healthy controls.

Materials and Methods: This cross-sectional study compared 30 patients in the case group and 30 healthy individuals in the control group. Moreover, in selecting the case and control groups, it was tried to match them in terms of age, gender, and to some extent socio-economic status. Folate, ferritin, and vitamin B12 levels were evaluated using specific kits and enzyme-linked immunosorbent assay techniques. The data were analyzed in SPSS software (version17) using descriptive statistics (Mean±SD) Mann Whitney U test, and independent t-tests. A P-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: The results of the Mann-Whitney U test showed that the salivary level of vitamin B12, folate, and ferritin was significantly lower in the patients with RAU, compared to the healthy group ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of this study show that low salivary levels of vitamin B12, folate, and ferritin can be effective in increasing the risk of recurrent oral aphthous ulcers.

Key words: Ferritin, Folate, Recurrent aphthous ulcer, Saliva, Vitamin B12

Corresponding Author: paria.motahari@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2020; 44(3): 209-15.

چکیده

مقدمه: زخمهای آفتی عود کننده (RAU) یکی از شایعترین ضایعات مخاط دهان است که حداقل ۲۰-۱۰ درصد از جمعیت عمومی را تحت تأثیر قرار می دهد. عوامل مختلفی به عنوان فاکتورهای مستعد کننده یا مرتبط با RAU گزارش شده است. با این حال، علت این بیماری هنوز ناشناخته است و هیچ داروی قطعی برای آن در دسترس نیست. هدف از این مطالعه مقایسه مقادیر فولات، فریتین و ویتامین B12 بزاقی در افراد مبتلا به RAU و گروه کنترل سالم بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی با توجه به مطالعات مشابه صورت گرفته، تعداد ۳۰ بیمار برای گروه مورد و ۳۰ نفر فرد سالم به عنوان گروه کنترل انتخاب شد. همچنین در انتخاب گروه بیماران و کنترل سعی شد همخوانی از لحاظ سن و جنس و تاحدامکان از نظر وضعیت اجتماعی- اقتصادی برقرار باشد. میزان فولات، فریتین و ویتامین B12 با استفاده از کیت های مخصوص و تکنیک الایزا بررسی شد و داده های به دست آمده با استفاده از روش های آمار توصیفی (انحراف معیار± میانگین) گزارش گردید. تجزیه و تحلیل داده ها توسط آزمون من ویتنی و t مستقل صورت گرفت. آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۷ انجام شده و سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. **یافته ها:** نتایج آزمون من ویتنی نشان داد که میزان ویتامین B12، فولات و فریتین بزاقی در افراد مبتلا به RAU به صورت معناداری نسبت به گروه سالم پایین بود ($P\text{-value} < 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که سطح پایین بزاقی ویتامین B12، فولات و فریتین می تواند در افزایش ابتلا به زخمهای آفتی عودکننده دهانی موثر باشد.

کلمات کلیدی: زخمهای آفتی عودکننده، بزاق، ویتامین B12، فولات، فریتین. مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۹ دوره ۴۴ / شماره ۳: ۱۵-۲۰۹.

مقدمه

با در نظر گرفتن اینکه زخم های آفتی در بسیاری از افراد باعث ناتوانی در کارهای روزمره زندگی می شود و بسیاری از این ضایعات باعث ترس از ابتلا به سرطان می گردد و کیفیت زندگی بیماران را تحت الشعاع قرار می دهد، یافتن علت این زخم ها و ارائه درمانهای موثر لازم به نظر می رسد. بنابراین با توجه به نتایج متناقض مطالعات گذشته و اینکه نمونه گیری از بزاق روشی ساده و غیرتهاجمی است^(۱۶-۱۴) و تاکنون بررسی میزان فولات، فریتین و ویتامین B12 در بزاق افراد RAU صورت نگرفته و اکثر مطالعات انجام شده به بررسی این عوامل در خون بیماران پرداخته اند، هدف از این مطالعه بررسی سطح بزاقی فولات، فریتین و ویتامین B12 در بیماران مبتلا به RAU و مقایسه آن با افراد سالم بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه مقطعی با توجه به مطالعات مشابه قبلی^(۹-۷) تعداد ۶۰ نفر از مراجعین به بخش تشخیص بیماری های دهان دانشکده دندانپزشکی تبریز جهت مطالعه برای این بررسی انتخاب شدند که در دو گروه افراد سالم و افراد با بیماری RAU قرار گرفتند. با توجه به اینکه زخمهای آفتی بر اساس وجود عامل زمینه ای به دو نوع آفت اولیه (ایدیوپاتیک) و آفت ثانویه (مربوط به مشکلات داخلی، خونی یا سیستمیک) طبقه بندی می شوند؛^(۴-۲) در این مطالعه افرادی که علت زخمهای آفتی آنها مشخص نبود (آفت اولیه) انتخاب شدند. معیارهای ورود به مطالعه در گروه مورد شامل تمایل به شرکت در مطالعه، وجود زخم های آفتی عودکننده و تکرار زخم های آفتی حداقل ۴ بار در سال بود.^(۶-۵) معیارهای ورود به مطالعه در گروه

زخمهای آفتی عودکننده (RAU) یکی از شایعترین ضایعات مخاط دهان است که حداقل ۲۰-۱۰ درصد از جمعیت عمومی را تحت تأثیر قرار می دهد.^(۱) RAU با زخم های مکرر بسیار دردناک که ممکن است یک یا چند عدد باشند مشخص می شود. بهبودی این زخمها در مقایسه با ضایعات تروماتیک کند می باشد.^(۲) عوامل مختلفی از جمله استعداد ژنتیکی، اختلالات ایمنی، عفونت های باکتریایی و ویروسی، آلرژی غذایی، کمبود ویتامین ها، اختلالات هورمونی، صدمات مکانیکی و استرس به عنوان فاکتورهای مستعدکننده یا مرتبط با RAU گزارش شده است.^(۳) با این حال، اتیوپاتوژنز این بیماری هنوز ناشناخته است و هیچ داروی قطعی برای درمان آن در دسترس نیست و درمان افراد مبتلا شامل درمان های علامتی است.

شیوع نقایص خونی در مبتلایان به آفت ۲۸-۱۸ درصد گزارش شده است.^(۴) کمبودهای تغذیه ای مانند کمبود ویتامین B12، فولات، فریتین و آهن علاوه بر آنکه بر سیستم خونی تأثیر می گذارند، اکثرا با آفت دهانی ارتباط دارند.^(۸-۵) در جوامع و مطالعات مختلف کمبودهایی از انواع المان های خونی در افراد مبتلا به RAU گزارش گردیده که در بعضی از این مطالعات سطح سرمی آهن، فریتین و اسیدفولیک در مبتلایان به آفت دهانی نسبت به گروه شاهد کاهشی نداشته و صرفا کاهش ویتامین B12 گزارش گردیده است و در برخی مطالعات متعاقب جایگزینی برخی از المان های خونی عود زخمهای آفتی مشاهده نشده است.^(۱۳-۹)

آزمایشگاه اندازه گیری شود. برای اندازه گیری این المان ها از روش ELISA و کیت های الایزای مونوبایند (NO:28K1AV, Ferritin Human ELISAKit) و (NO:75K1J4, و (NO:76K2C7, Folate ELISA Kit) Vitamin B12 ELISA Kit استفاده گردید.

در ادامه پس از جمع آوری داده ها به آنالیز آماری داده ها پرداختیم. به این صورت که نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف ارزیابی و ملاحظه گردید هیچ کدام از متغیرها دارای توزیع نرمال نبودند، بنابراین برای مقایسه مقادیر فولات، ویتامین B12 و فریتین در دو گروه از آزمون ناپارامتریک من ویتنی استفاده شد. برای مقایسه شاخصها بین زنان و مردان به تفکیک در دو گروه، از آزمون t مستقل (Independent t -test) و جهت مقایسه متغیرهای سن و جنس بین دو گروه به ترتیب از آزمون t مستقل و مجذور کای دو استفاده گردید. آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۷ انجام شده و سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

در هر دو گروه، ۱۶ نفر (۵۳ درصد) از افراد شرکت کننده مرد و ۱۴ نفر (۴۷ درصد) زن بودند که اختلاف معنی دار آماری از نظر جنس وجود نداشت ($P=۰/۳۴$). همچنین میانگین سنی در گروه افراد سالم $۲۲/۸۸ \pm ۱/۹۲$ و افراد مبتلا به افت دهانی $۲۲/۲۵ \pm ۱/۸۹$ بوده که اختلاف معنادار آماری نداشتند ($P=۰/۲۳$). میانگین و انحراف معیار متغیرها در گروه های مورد مطالعه بر حسب میکروگرم بر دسی لیتر در جدول ۱ آورده شده است. ملاحظه می شود که میانگین میزان بزاقی ویتامین B12 در گروه بیمار حدود ۵۱ واحد از گروه افراد سالم کمتر بود. میانگین میزان بزاقی فولات نیز در افراد مبتلا به افت های دهانی حدود ۱۲ واحد کمتر از افراد سالم بود. همچنین میانگین سطح بزاقی فریتین

کنترل شامل تمایل به شرکت در مطالعه و عدم ابتلا به بیماری آفتی بود. معیارهای عدم ورود به مطالعه در هر دو گروه شامل بارداری، سابقه مصرف اسیدفولیک، آهن، فولات و ویتامین B12 به فرم دارویی در ۱۰ هفته اخیر، سابقه مصرف سیگار، الکل یا مواد مخدر، مصرف دارو برای درمان آفت راجعه در دو ماه اخیر، داشتن بیماری سیستمیک، داشتن بیماری زمینه ای مرتبط با آفت از قبیل سندرم بهجت، بیماریهای التهابی گوارشی و کمبود اجزای خونی (اسید فولیک، آهن، فریتین، فولات و ویتامین B12) بر اساس آزمایشات پاراکلینیکی بود.^(۴-۲) در انتخاب گروه بیماران و کنترل سعی شد همخوانی از لحاظ سن، جنس و تا حد امکان از نظر وضعیت اجتماعی- اقتصادی برقرار باشد.

این مطالعه در کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد اخلاقی IR.TBZMED.REC.1396.454 تصویب شده است. از بیماران قبل از ورود به مطالعه رضایت نامه اخلاقی آگاهانه اخذ شد. هیچ گونه مداخله ی درمانی انجام نگرفت و اطلاعات بیماران به صورت محرمانه بود و از بیماران هیچ هزینه ای از بابت آزمایشات دریافت نگردید.

پس از انجام معاینات بالینی، از افراد واجد شرایط ۵ سی سی بزاق غیر تحریکی به روش NAVAZESH گرفته شد.^(۱۷) زمان جمع آوری بزاق برای همه افراد شرکت کننده یکسان و بین ساعات ۹ تا ۱۱ صبح بود و بیماران بایستی ۲ ساعت قبل از نمونه گیری، غذا نخورده و نیاشامیده باشند. افراد، بزاق غیر تحریکی خود را در یک لوله آزمایش استریل شده خالی کردند، سپس بلافاصله نمونه ها به فریزر ۲۰- درجه انتقال داده شد. پس از تکمیل شدن نمونه های لازم، بزاق های فریز شده به آزمایشگاه انتقال داده شد تا میزان فولات، فریتین و ویتامین B12 بزاق این افراد در

بحث

در مطالعه حاضر با وجود اینکه در سرم بیماران مبتلا به آفت میزان ویتامین B12، فولات و فریتین از حد نرمال پایین تر نبود ولی میانگین سطح بزاقی این اجزا در گروه مورد کمتر از افراد سالم گزارش گردید. در این مطالعه از نمونه بزاقی استفاده گردید در حالیکه در مطالعات قبلی بیشتر از سرم استفاده شده بود.^(۱۱-۱۳) بزاق دارای مزایای زیادی در مقایسه با دیگر مایعات بدن و یک ابزار مناسب و ساده تشخیصی است. تست بزاقی یک تست تشخیصی آزمایشگاهی جهت شناسایی مارکرهای هورمونی، ایمونولوژیک، التهابی و عفونی می باشد. هورمون های استروئیدی مانند کورتیزول، مارکر های ژنتیکی همچون RNA، پروتئین هایی مانند آنزیم ها و آنتی بادی ها در بزاق ترشح شده و قابل اندازه گیری است.^(۱۸،۱۹)

در افراد مبتلا به آفت به میزان قابل توجهی و حدود ۹۵ واحد از افراد سالم کمتر بود.

نتایج آزمون من ویتنی نشان داد که بین میزان ویتامین B12، فولات و فریتین در دو گروه افراد سالم و افراد مبتلا به آفت های دهانی عودکننده اختلاف معنادار آماری وجود داشت ($P < 0/05$).

نتایج آزمون *t* مستقل برای مقایسه شاخصها بین زنان و مردان به تفکیک در دو گروه، در جدول ۲ نشان داده شده است. ملاحظه می شود که بین سطح بزاقی فولات، فریتین و ویتامین B12 در زنان و مردان اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت ($P > 0/05$).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار ویتامین B12، فولات و فریتین در گروه های مورد مطالعه

متغیر مورد مطالعه	گروه سالم	گروه RAU	نتیجه آزمون من ویتنی
ویتامین B12	۷۸/۳±۳۹/۵	۲۷/۲±۸/۳	$P < 0/001$
فولات	۱۶/۶±۱۷/۲	۴/۸±۴/۰۲	$P < 0/001$
فریتین	۱۰۷/۸±۹۵/۵	۱۲/۷±۸/۲	$P < 0/001$

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار ویتامین B12، فولات و فریتین در گروه های مورد مطالعه بر حسب جنسیت

گروه سالم	گروه RAU		
۶۳/۷۱±۲۰/۳۶	۲۸/۵۲±۸/۰۱	مذکر	ویتامین B12
۹۲/۹۵±۳۰/۴۱	۲۶/۰۵±۷/۲۳	مؤنث	
$P=0/062$	$P=0/436$		P-value
۱۳±۱۴/۴۲	۵±۴/۱۳	مذکر	فولات
۲۰/۲±۱۸/۲۲	۴/۷±۴/۰۲	مؤنث	
$P=0/329$	$P=0/849$		P-value
۱۰۴/۰۹±۹۰/۳۲	۱۴/۴۲±۱۱/۶۳	مذکر	فریتین
۱۱۱/۶۱±۹۸/۵۳	۱۱±۹/۲۴	مؤنث	
$P=0/849$	$P=0/274$		P-value

کمتر از افراد گروه کنترل می باشد. در این مطالعات فقط کمبود ویتامین B12 از نظر آماری معنی دار بود. در مطالعه دیگر، Nabih و همکاران^(۲۴) عنوان کردند که میزان همانوکریت و سطح سرمی فریتین، فولات و ویتامین B12 در بیماران مبتلا به RAU به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل بود. Burgan و همکاران^(۲۵) نیز نتیجه گرفتند که بیماران با RAU کمبودهای خونی بیشتری به خصوص کمبود ویتامین B12 در مقایسه با گروه کنترل دارند و عنوان کردند که تصحیح این کمبودهای خونی می تواند در کنترل این بیماری مؤثر باشد. همچنین Ogura و همکاران^(۱۲) در تحقیقی که بر روی ۱۱۸ بیمار مبتلا به آفت که سابقه تکرر زخم ها را ۴ بار یا بیشتر در طی یکسال داشتند، به این نتیجه رسیدند که نه تنها کاهش سطح سرمی آهن و ویتامین B12 ممکن است در بیماران آفتی وجود داشته باشد بلکه کاهش کلسیم و ویتامین C نیز در این بیماران مشاهده شده است. در مطالعه دیگر Scully و همکاران^(۱۳)، کمبود اسید فولیک، آهن و ویتامین B12 در ۱۸ تا ۲۸ درصد از موارد کلاسیک آفت مشاهده شد که این میزان در افراد سالم ۸ درصد گزارش گردید. در مطالعه دیگری Arbabi و همکاران^(۳۶) عنوان کردند که میزان سرمی آهن، فریتین، فولات و زینک در بیماران مبتلا به RAU و افراد سالم تفاوت معنی داری ندارد. Sumathi و همکاران^(۲۷) نتیجه گرفتند که غربالگری بیماران با زخم های آفت دهانی برای بررسی آنمی کمبود آهن، با اندازه گیری فریتین سرم اجباری است و همچنین به این بیماران توصیه می شود که مکمل های آهن را بطور منظم به همراه رژیم غذایی غنی از آهن علاوه بر ویتامین ها دریافت کنند. ملاحظه می شود که در اکثر مطالعات، میزان سرمی ویتامین B12، فریتین و اسیدفولیک در بیماران مبتلا به آفت کمتر از گروه شاهد می باشد. در مطالعه ما هم میزان بزاقی این مارکرها در بیماران مبتلا به آفت کمتر بود که با

همچنین نمونه گیری از بزاق تکنیک غیر تهاجمی و آسان بوده و نیازمند مهارت خاصی نیست و برای بیماران قابل تحمل تر است.^(۲۰،۲۱) در مطالعات مختلف به وجود تشابهات فراوانی بین میزان برخی مارکرها در سرم خون با بزاق اشاره شده است و حتی اندازه گیری برخی از این مارکرها در بزاق به عنوان تست تشخیصی و آزمایشگاهی استاندارد، جایگزین سرم شده است.^(۲۱،۲۲)

Canatan و همکاران^(۳۳) در مطالعه ای نشان دادند که سطح سرمی و بزاقی فریتین باهم نسبت مستقیم دارد، بطوریکه در بیماران دارای آهن افزایش یافته، میزان فریتین بزاقی و سرمی بالاست و برعکس در بیماران مبتلا به آنمی فقر آهن، سطح سرمی و بزاقی فریتین پایین است. بنابراین بزاق را به عنوان جایگزین مناسب و غیرتهاجمی برای ارزیابی فریتین پیشنهاد کرده اند. در مطالعات متعددی به اهمیت فریتین، ویتامین B12 و اسیدفولیک و سایر ویتامین ها در مبتلایان به RAU اشاره شده است ولی با این حال نتایج مطالعات ضدونقیض بوده است. به طوریکه در بعضی مطالعات کاهش و حذف ضایعات RAU بدنال درمان جایگزین ترکیبات خونی گزارش شده است، در حالیکه در بعضی مطالعات گزارش شده است که اختلاف آماری معنی داری در پارامترهای هماتولوژیک در گروه RAU و افراد سالم وجود ندارد. Porter و همکارانش^(۱۰) در مطالعه ای نشان دادند که میزان فریتین و ویتامین B12 بیماران مبتلا به آفت های مکرر دهانی نسبت به گروه کنترل، به طور معنی داری پایین است. همچنین در مطالعه دیگر نیز Piskin و همکارانش^(۱۱) نشان دادند که ۱۸ درصد افراد مبتلا به آفت های دهانی در مقایسه با گروه کنترل میزان آهن، فریتین، ویتامین B12، فولات و اسیدفولیک پایین تری داشته اند و در مطالعه ای دیگر نشان دادند که سطح آهن، ویتامین B12 و اسیدفولیک در ۲۶/۲ درصد افراد مبتلا به آفت دهان

های دهانی موثر است که می تواند دلیل عدم ایجاد زخمهای آفتی را در مخاط غیرکراتینیزه توضیح دهد.^(۵۶)

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد محتمل است که سطح پایین بزاقی ویتامین B12، فولات و فریتین در افزایش ابتلا به زخمهای آفتی عود کننده دهانی موثر باشد. که البته تایید این موضوع نیازمند انجام کارآزمایی های بالینی، حجم نمونه بالا می باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان نامه به شماره ۱۶۶۴ بوده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گرفته است که بدین وسیله قدردانی می گردد.

نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد. ویتامین B12 خون برای سنتز DNA ضروری است و کمبود آن باعث پیشرفت آئمی مگالوبلاستیک می شود. اسیدفولیک باعث ترمیم و بازسازی اپی تلیوم دهانی در پاسخ به آسیب شده و همچنین برای سنتز DNA ضروری است. کمبود فولات در بزرگسالان نیز باعث آئمی مگالوبلاستیک می شود.^(۱۱و۲۸)

علت پایین بودن این عناصر در افراد RAU را اینگونه می توان توجیه کرد که کمبود این عناصر در خون به طور مستقیم باعث کاهش میزان آنها در بزاق نیز می شود و به دنبال کاهش آنها در بزاق کاهش ضخامت مخاط دهان شدیدتر می شود. سد مخاطی در جلوگیری از بروز آفت

منابع

1. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11):5721-32.
2. Scully C, Felix DH. Oral medicine--update for the dental practitioner Aphthous and other common ulcers. *Br Dent J* 2005; 199(5):259-64.
3. Slebioda Z, Szponar E, Kowalska A. Etiopathogenesis of recurrent aphthous stomatitis and the role of immunologic aspects: literature review. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2014; 62(3):205-15.
4. Devasagayam TP, Tilak JC, Bolor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004; 52:794-804.
5. Saral Y, Coskun BK, Ozturk P, Karatas F, Ayar A. Assessment of salivary and serum antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with recurrent aphthous ulceration. *Tohoku J Exp Med* 2005; 206(4):305-12.
6. Arikan S, Durusoy C, Akalin N, Haberal A, Seckin D. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Dis* 2009; 15(7):512-5.
7. Carrozzo M, Carbone M, Gandolfo S. Recurrent aphthous stomatitis: current etiopathogenetic and therapeutic concepts. *Minerva Stomatol* 1995; 44(10):467-75.
8. Gallagher BT. Biology and pathology of the oral mucosa. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF, editors. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. 4th ed. New York: McGraw-Hill; 1993. P. 1355-417.
9. Haisraeli-Shalish M, Livneh A, Katz J, Doolman R, Sela BA. Recurrent aphthous stomatitis and thiamine deficiency. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82(6):634-6.
10. Porter SR, Scully C, Flint S. Hematologic status in recurrent aphthous stomatitis compared with other oral diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 66(1):41-4.
11. Piskin S, Sayan C, Durukan N, Senol M. Serum iron, ferritin, folic acid, and vitamin B levels in recurrent aphthous stomatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; 16(1):66-7.
12. Ogura M, Yamamoto T, Morita M, Watanabe T. A case-control study on food intake of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91(1):45-9.
13. Scully C, Porter SR. Recurrent aphthous stomatitis: current concepts of etiology, pathogenesis, and management. *J Oral Pathol Med* 1989; 18(1):21-7.
14. Mandel ID. Salivary diagnosis: More than a lick and a promise. *J Am Dent Assoc* 1993; 124(1):85-7.

15. Mata AD, Marques D, Rocha S, Francisco H, Santos C, Fernanda M, et al. Effects of diabetes Mellitus on salivary secretion and its composition in the human. *Mol Cell Biochem* 2004; 261(1-2):137-42.
16. Khabbazi A, Ghorbanihaghjo A, Fanood F, Kolahi S, Hajjaliloo M, Rashtchizadeh N. A comparative study of vitamin D serum levels in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Egypt Rheumatol* 2015; 37(3):133-7.
17. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 694:72-7.
18. Aardal-Eriksson E, Karlberg BE, Holm AC. Salivary cortisol –an alternative to serum cortisol determinations in dynamic function tests. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36(4):215-22.
19. Venkatapathy R, Govindarajan V, Oza N, Parameswaran S, Dhanasekaran BP, Karthikshree V. Salivary creatinine estimation as an alternative to serum creatinine in chronic kidney disease patients. *Int J Nephrol* 2014; 2014:742724.
20. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis--a review. *J Clin Periodontol* 2000; 27(7):453-65.
21. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004; 343(1-2):1-16.
22. Barany E, Bergdahl IA, Bratteby LE, Lundh T, Samuelson G, Schutz A, et al. Trace element levels in whole blood and serum from Swedish adolescents. *Sci Total Environ* 2002; 286(1-3):129-41.
23. Cantan D, Akdeniz SK. Iron and ferritin levels in saliva of patients with thalassemia and iron deficiency anemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2005; 4(1):e2012051.
24. Khan NF, Saeed M, Chaudhary S. Hematological parameters and recurrent aphthous stomatitis. *J Coll Physicians Surg Pak* 2013; 23(2):124-7.
25. Khan NF, Saeed M, Chaudhary S. Hematological parameters and recurrent aphthous stomatitis. *J Coll Physicians Surg Pak* 2013; 23(2):124-7.
26. Arbabi KF, Nosratzahi T, Sarabadani J, Niazi A, Elham Y. Evaluation of hematologic status in patients with recurrent aphthous stomatitis in an Iranian population. *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 16(7):21-5.
27. Sumathi K, Shanthi B, Palaneeswari MS, Devi AJ. Significance of ferritin in recurrent oral ulceration. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(3):14-5.
28. Madood-ul-Mannan, Anwar M, Saleem M, Wiqar A, Ahmad M. Study of serum vitamin B and Folate levels in patients of megaloblastic anaemia in Northern Pakistan. *J Pak Med Assoc* 1995; 45(7):187-8.