

Kadar Ureum Saliva Sebagai Alat Diagnostik Pada Anak Talasemia Beta Mayor

Putu Gyzca Pradypta¹, Indah Titien², Putri Kusuma³

¹Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gajah Mada

²Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gajah Mada

³Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gajah Mada

Correspondence e-mail to: putugyzca@gmail.com

ABSTRAK

Penderita talasemia mengalami gangguan sintesis salah satu rantai beta gen globin, akibatnya pembentukan hemoglobin berkurang. Penderita talasemia beta mayor membutuhkan transfusi rutin dan pemberian kelasi besi. Kedua hal tersebut menyebabkan gangguan fungsi ginjal. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengetahui hubungan antara jumlah transfusi darah dan jumlah kelasi besi dengan kadar ureum darah dan saliva pada anak penderita talasemia beta mayor. **Metode:** Jenis penelitian adalah observasional dengan rancangan potong lintang. Subyek penelitian adalah pasien anak penderita talasemia beta mayor di RSUD Moewardi Solo. Sampel diambil dengan teknik *consecutive sampling* dari bulan September sampai November 2018. Data jumlah transfusi darah dan jumlah kelasi besi dan kadar ureum darah merupakan data sekunder dari rekam medis. Saliva yang tidak terstimulasi diambil pada pagi hari. Metode pengukuran kadar ureum saliva dengan metode urease. Data dianalisis dengan menggunakan korelasi pearson. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan jumlah transfusi $71,9 \pm 34,3$, jumlah kelasi besi $61,0 \pm 32,1$, kadar ureum darah $4,41 \pm 1,1$ mg/dL, kadar ureum saliva $35,6 \pm 12,5$ mg/dL. Berdasarkan uji statistik terdapat korelasi positif antara jumlah transfusi darah dan jumlah kelasi besi dengan kadar ureum darah dan saliva, terdapat korelasi positif antara kadar ureum darah dan saliva. **Kesimpulan:** penelitian adalah kadar ureum saliva dapat digunakan sebagai alat diagnostic talasemia beta mayor.

Kata kunci: Talasemia beta mayor, Kadar ureum darah, Kadar ureum saliva

PENDAHULUAN

Talasemia adalah suatu kelainan sintesis hemoglobin yang diturunkan secara autosomal resesif akibat pengurangan produksi satu atau lebih rantai globin dan menyebabkan anemia hemolitik yang kronis. Hal tersebut menyebabkan ketidakseimbangan produksi rantai globin, karena gangguan pada sintesis rantai polipeptid yang menyusun molekul globin dalam hemoglobin (Hb). Gangguan pada sintesis ini dapat menyebabkan produksi jumlah sel darah merah yang tidak mencukupi, sehingga jumlah sel darah merah berkurang. Hemoglobin memiliki bentuk tetrametrik yang sama, terdiri dari 2 pasang rantai globin yang terikat dengan heme¹.

Berdasarkan rantai globin yang terganggu, dikenal beberapa jenis talasemia yaitu talasemia α dan β . Di Indonesia yang sering ditemukan adalah talasemia β . Data dari WHO menyebutkan bahwa setiap tahunnya terdapat lebih dari 332.000 kehamilan dan kelahiran yang memiliki kelainan hemoglobin, sekitar 56.000 diantaranya talasemia mayor².

Menurut Riskesdas tahun 2007, 8 provinsi menunjukkan prevalensi lebih tinggi dari prevalensi nasional, antara lain Provinsi Aceh (13,4%), DKI Jakarta (12,3%), Sumatera Selatan (5,4%), Gorontalo (3,1%), Kepulauan Riau (3,0%), Nusa Tenggara Barat (2,6%), Maluku (1,9%), dan Papua Barat (2,2%). Berdasarkan data YTI dan POPTI tahun 2014, dari hasil skrining pada masyarakat umum dari tahun 2008 sampai 2017, didapatkan pembawa sifat sebanyak 699 orang (5,8%) dari 12.038 orang yang diperiksa, sedangkan hasil skrining pada keluarga Thalassemia (ring 1) tahun 2009-2017 didapatkan sebanyak 1.184 orang (28,61%) dari 4.137 orang. Berdasarkan data RSCM, sampai dengan bulan Oktober 2016 terdapat 9.131 pasien thalassemia yang terdaftar di seluruh Indonesia³.

Berdasarkan berat ringannya gambaran klinik, talasemia b diklasifikasikan menjadi : (1) talasemia mayor yang sangat tergantung pada transfusi (2) talasemia minor yang biasanya tanpa gejala dan (3) talasemia intermedia⁴. Talasemia mayor membutuhkan

transfusi darah secara rutin untuk mempertahankan kualitas hidup. Penderita harus mendapatkan transfusi darah seumur hidup untuk mengatasi anemia dan mempertahankan kadar Hb 9-10 gram / dl^{5,6}. Pada penderita talasemia, pemberian transfusi berulang dan peningkatan proses eritropoiesis yang tidak efektif mempunyai dampak yang kurang baik bagi penderita, yaitu terjadinya penimbunan besi yang berlebihan pada berbagai organ tubuh⁵. Penimbunan besi akan memacu timbulnya radikal – radikal superoksida dan meningkatnya jumlah besi di jantung, hati, ginjal dan kelenjar endokrin sehingga mengakibatkan kerusakan dan gangguan fungsi organ¹. Radikal – radikal superoksida ini mengoksidasi lipid membran sel dan protein, serta membran organel, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan sel dan kematian^{7,8}. Manusia tidak memiliki mekanisme untuk mengekskresi kelebihan besi, sehingga diperlukan terapi kelasi besi. Terapi kelasi besi terbukti sangat efektif menurunkan kandungan besi pada penderita talasemia yang mendapat transfusi. Kelasi besi bermanfaat, tetapi berbahaya karena mengandung bahan kimia. Obat kelasi besi diabsorpsi dan bersirkulasi selama beberapa jam. Jangka waktu yang lama akan menambah beban ginjal dalam ekskresi yang dapat mengakibatkan kerusakan ginjal^{7,9}.

Adanya komplikasi dari proses patologis pada penderita talasemia beta mayor dapat mengganggu fungsi dari berbagai organ tubuh, salah satunya adalah ginjal. Keterlibatan ginjal sangat berpengaruh terhadap kadar ureum dalam tubuh. Gangguan fungsi ginjal ditandai dengan adanya protein dalam urin (proteinuria atau albuminuria), darah dalam urin (hematuria) dan kenaikan tingkat ureum dalam darah. Talasemia beta mayor mengalami gangguan fungsi ginjal yang ditandai timbulnya ureum toksik dan dapat dideteksi untuk mengetahui gangguan fungsi ginjal^{10,11}.

Penggunaan darah sebagai alat diagnostik merupakan suatu proses invasif dan biasanya berhubungan dengan stress dan rasa tegang. Adanya transfusi darah yang berulang dan gangguan ginjal membuat pasien memiliki risiko yang tinggi terhadap *blood borne disease*¹².

Saliva merupakan suatu cairan kompleks yang diproduksi oleh kelenjar saliva dan memiliki fungsi mekanik untuk membersihkan dan melindungi rongga mulut melalui berbagai mekanisme fisika dan biokimia. Peran saliva sebagai kapasitas buffer akan menjaga keadaan homeostatis dalam rongga mulut. Kandungan organik lain dalam saliva yang juga memegang peranan penting pada pengaturan pH dan kapasitas buffer saliva adalah ureum¹³.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara jumlah transfusi darah dan jumlah kelasi besi dengan kadar ureum darah dan saliva pada anak penderita talasemia beta mayor, yang mendasari

adalah ketertarikan pada test diagnostik yang cepat dan tidak invasif telah berkembang pada beberapa dekade terakhir. Salah satunya adalah dengan menggunakan saliva sebagai cairan biologis untuk diagnosis klinis. Saliva memiliki keuntungan dibandingkan dengan darah dan urin yaitu lebih mudah dikumpulkan dan memiliki komponen protein yang lebih rendah, sehingga mengurangi kompleksitas dan keragaman komposisi dibandingkan dengan serum¹⁴. Saliva dapat digunakan sebagai pengganti sampel darah untuk tes diagnostik kadar ureum pada pasien dengan gangguan ginjal karena bersifat noninvasif, simpel, murah. Metode ini juga lebih hemat biaya untuk skrining populasi besar¹².

METHODS

Jenis penelitian adalah observasional dengan rancangan potong lintang, teknik pengambilan *consecutive sampling*. Subyek penelitian adalah 27 pasien Talasemia Beta Mayor yang dirawat di RSUD Moewardi Solo yang mendapat transfusi darah dan menerima kelasi besi. Rentang waktu penelitian dari bulan September – November 2018.

Jalan Penelitian

Pengambilan Sampel Saliva

Pengumpulan saliva menggunakan metode spitting. Pengumpulan saliva dilakukan selama 10 menit. Setiap interval 1 menit subyek diminta untuk mengeluarkan saliva yang terkumpul dalam mulut ke dalam tabung pengukur melalui corong gelas ukur¹⁵.

Saliva yang dikumpulkan adalah saliva yang tidak terstimulasi. Pasien diinstruksikan puasa selama 45 menit sebelum pengumpulan saliva supaya tidak terjadi peningkatan derajat keasaman karena efek stimulasi saliva selama pengunyahan makanan dan tidak terjadi peningkatan konsentrasi protein¹⁶. Saliva yang sudah terkumpul dimasukkan ke dalam *Sample Separator Tube* (SST) lalu dibawa langsung ke Laboratorium Patologi Klinik RS Moewardi Solo.

Pemeriksaan Kadar Ureum Saliva

Pengukuran kadar urea saliva dilakukan menggunakan metode urease/ GLDH UV (fixed time). Alat yang digunakan adalah Automatic Analyzer dengan advia 1800 siemens.

Kadar Ureum Darah

Data kadar ureum darah diambil dari rekam medis pasien di RSUD Moewardi.

RESULTS

Penelitian tentang hubungan jumlah transfusi darah dan kelasi besi dengan kadar ureum darah dan kadar ureum saliva pada penderita talasemia beta mayor

Tabel 1. Deskripsi subjek penelitian

Karakteristik	Jumlah	Persentase
Umur		
Balita 0-5 Tahun	5	18,5
Kanak-kanak 6-11 Tahun	12	44,4
Remaja 12-17 Tahun	10	37,0
Jenis Kelamin		
L	15	55,6
P	12	44,4

Tabel 2. Rerata dan standar deviasi jumlah transfusi darah, jumlah kelasi besi, kadar ureum darah dan kadar ureum saliva

Subjek	N	Jumlah Transfusi	Jumlah Kelasi Besi	Kadar Ureum Darah (mg/dl)	Kadar Ureum Saliva (mg/dl)
$\bar{x} \pm SD$					
Talasemia Beta Mayor	27	71,9 $\pm$ 34,3	61,0 $\pm$ 32,1	4,41 $\pm$ 1,1	35,6 $\pm$ 12,5

Tabel 3. Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* pada jumlah transfusi, jumlah kelasi besi, kadar ureum darah, kadar ureum saliva

Uji Normalitas	<i>Shapiro-Wilk</i>	N	Sig.
Jumlah Transfusi	0,939	27	0,118
Jumlah Kelasi Besi	0,951	27	0,228
Kadar Ureum Darah	0,973	27	0,696
Kadar Ureum Saliva	0,908	27	0,060

telah dilakukan pada pasien RSUD Moewardi. Jumlah subyek penelitian sebanyak 27 pasien. Gambaran subjek penelitian disajikan pada tabel 1.

DISCUSSION

Penelitian ini dilakukan pada pasien anak talasemia beta mayor yang dirawat di RSUD Moewardi Solo. Penelitian dilakukan di RSUD Moewardi Solo karena terdapat komunitas POPTI (Perhimpunan Orang Tua Penderita Talasemia Indonesia) dibawah binaan RSUD Moewardi Solo.

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat subjek penelitian sebanyak 27 subjek, kelompok umur dibagi menjadi 3 kelompok yaitu balita (0-5 tahun), kanak – kanak (6-11 tahun), remaja (12-17 tahun). Kelompok umur terbanyak adalah kanak - kanak (6-11 tahun) sebesar 44,4%. Subjek penelitian berdasarkan kelompok jenis kelamin, kelompok laki-laki lebih besar, sebanyak 55,6 % dan perempuan 44,4%. Menurut Depkes RI (2009) usia anak 6-11 tahun termasuk kategori usia kanak –

Tabel 4. Tabel ringkasan uji korelasi pearson

Sumber	r	p
Jumlah Transfusi vs Kadar Ureum Darah	0,749	0,000
Jumlah Transfusi vs Kadar Ureum Saliva	0,773	0,000
Jumlah Kelasi Besi vs Kadar Ureum Darah	0,785	0,000
Jumlah Kelasi Besi vs Kadar Ureum Saliva	0,710	0,000
Kadar Ureum Darah vs Kadar Ureum Saliva	0,775	0,000

Tabel 5. Hasil uji regresi linear berganda dengan metode enter jumlah transfusi dan jumlah kelasi besi terhadap kadar ureum darah

Variabel	Koefisien regresi (B)	p	CI 95%	R ²
(Constant)	2,435	,000	1,83-3,03	
Jumlah Transfusi	,013	,014	,003-0,023	0,702
Jumlah Kelasi Besi	,017	,003	,007-0,028	

Tabel 6. Hasil uji regresi linear berganda dengan metode enter jumlah transfusi dan jumlah kelasi besi terhadap kadar ureum saliva

Variabel	Koefisien Regresi (B)	p	CI 95%	R ²
(Constant)	13,331	,001	5,95-20,71	
Jumlah Transfusi	,196	,003	,074-0,319	0,660
Jumlah Kelasi Besi	,134	,045	,003-0,264	

kanak. Penderita talasemia beta mayor akan tampak normal saat lahir, namun di usia 3-18 bulan akan mulai terlihat adanya gejala anemia. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa gejala klinis talasemia sudah terlihat pada usia 2 tahun, tetapi penderita talasemia melakukan pengobatan pada usia 4-6 tahun karena semakin pucat sehingga mengakibatkan penderitanya memerlukan transfusi secara berkala¹⁷.

Pada tabel 4 hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi positif dengan tingkat korelasi kuat antara jumlah transfusi darah dengan kadar ureum darah dan kadar ureum saliva. Transfusi darah bertujuan untuk menekan eritropoiesis tetapi dapat meningkatkan penimbunan besi. Tingkat kelangsungan hidup pada penderita talasemia beta mayor bergantung

transfusi darah setiap 2-5 minggu sekali seumur hidup untuk mengatasi anemia dan mempertahankan kadar Hb 9-10 gr/dl. Deposit besi akibat hiperhemolisis eritrosit hasil dari eritropoiesis dan transfusi darah secara kronis merupakan penyebab utama kegagalan ginjal pada penderita talasemia beta mayor. Pada transfusi darah setiap 1 ml dari sel darah merah akan meningkatkan beban besi dalam tubuh sebesar 1 mg. Gangguan fungsi ginjal ditandai dengan adanya protein dalam urin (proteinuria atau albuminuria), darah dalam urin (hematuria) dan kenaikan tingkat ureum dalam darah. Talasemia beta mayor mengalami gangguan fungsi ginjal yang ditandai timbulnya ureum dan dapat digunakan untuk mengetahui gangguan fungsi ginjal. Organ ginjal berfungsi untuk menyaring produk sisa pencernaan protein dalam darah terutama ureum yang akan dikeluarkan melalui urin dan saliva^{4,10,11,18,19,20}.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi positif dengan tingkat korelasi kuat antara jumlah kelasi besi dengan kadar ureum darah dan kadar ureum saliva. Tujuan terapi kelasi besi adalah mengurangi toksisitas simpanan besi dalam jaringan, mencegah organ kelebihan besi, dan memindahkan besi dari membran sel darah merah. Kelasi besi akan mengatasi akumulasi besi yang dapat menyebabkan disfungsi jantung, liver dan sistem endokrin. Perawatan dengan menggunakan terapi kelasi besi dapat memberikan efek toksik pada ginjal²¹. Terapi kelasi besi yang berlebihan menyebabkan vakuolisasi pada sel proksimal ginjal dan penumpukan komponen nefrotoksik yang menyebabkan toksisitas langsung pada ginjal. Adanya peningkatan ureum pada darah dihubungkan dengan adanya kelainan pada ginjal terutama bagian glomerulus dan tubular. Analisis ureum pada saliva dengan penyakit ginjal merefleksikan level ureum pada darah dihubungkan dengan adanya kelainan pada ginjal terutama bagian glomerulus dan tubular. Analisis ureum pada saliva dengan penyakit ginjal merefleksikan level ureum pada darah^{21,22}.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi positif dengan tingkat korelasi kuat antara kadar ureum darah dan kadar ureum saliva. Mekanisme ureum darah bermigrasi ke saliva melalui 3 jalur. Jalur pertama yaitu difusi pasif, melewati 5 lapisan yaitu dinding kapiler, ruang interstitial, membran sel basal dari sel acinus atau sel duktus, sitoplasma asinus atau sel duktus, dan membran sel luminal. Jalur kedua yaitu ureum darah masuk ke dalam saliva dengan cara transport aktif melalui sel sekretori kelenjar. Jalur ketiga yaitu pengangkutan dari aliran darah ke saliva melalui ruang antara sel-sel acinus dan duktus. Ureum tidak memiliki muatan listrik dan larut dalam lemak sehingga dapat berdifusi secara mudah melalui membran biologis dengan distribusi melalui cairan tubuh. Difusi antara kompartemen intraselular dan ekstraseluler hanya memerlukan waktu beberapa menit. Keseimbangan tercapai lebih cepat pada

membran yang memiliki transporter ureum seperti sel darah merah, hepatosit dan sel epitel^{23,24}. Hasil penelitian menunjukkan korelasi positif dan kuat antara kadar ureum darah dan kadar ureum saliva, berarti analisis kadar ureum saliva dapat digunakan sebagai biomarker diagnostik gangguan ginjal pada talasemia beta mayor. Saliva dapat digunakan sebagai pengganti sampel darah untuk tes diagnostik kadar ureum pada pasien dengan gangguan ginjal pada talasemia beta mayor. Penggunaan darah sebagai alat diagnostik merupakan suatu proses yang invasif dan biasanya berhubungan dengan stress dan rasa tegang.

Hasil uji regresi linear berganda untuk mengetahui kontribusi jumlah transfusi dan jumlah kelasi besi terhadap kadar ureum darah menghasilkan persamaan garis $y = 2,435 + 0,013 \times (\text{jumlah transfusi}) + 0,017 \times (\text{jumlah kelasi besi})$ (tabel 6). Hasil penelitian ini berarti bahwa setiap peningkatan transfusi 1 kali akan meningkatkan kadar ureum darah 0,013, begitu pula setiap peningkatan kelasi besi 1 kali akan meningkatkan ureum darah 0,017. Tabel 5 menunjukkan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,702 yang berarti besarnya pengaruh kedua variabel terhadap kadar ureum darah sebesar 70,2%, sisanya 29,8% dipengaruhi faktor lain diluar penelitian.

Hasil uji regresi linear berganda untuk mengetahui kontribusi jumlah transfusi dan jumlah kelasi besi terhadap kadar ureum saliva menghasilkan persamaan garis $y = 13,331 + 0,196 \times (\text{jumlah transfusi}) + 0,134 \times (\text{jumlah kelasi besi})$ (tabel 6). Hasil penelitian ini berarti bahwa setiap peningkatan transfusi 1 kali akan meningkatkan kadar ureum darah 0,196, begitu pula setiap peningkatan kelasi besi 1 kali akan meningkatkan ureum 0,134. Tabel 6 menunjukkan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,660 yang berarti besarnya pengaruh kedua variabel terhadap ureum sebesar 66,0%, sisanya 34,0% dipengaruhi faktor lain diluar penelitian.

CONCLUSION

Kadar ureum saliva dapat digunakan sebagai alat diagnostik pada anak talasemia beta mayor.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Permono - Ugrasena. 2005. *Buku Ajar Hematologi-Onkologi Anak*, Badan Penerbit IDAI : Jakarta, halaman 242-243.

2. Moncada G., 2015. Salivary Urease and ADS Enzymatic Activity as Endogenous Protection Against Dental Caries in Children , *J Clin Pediatr Dent* , 39 (4).
3. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia tahun 2018. Jakarta.
4. Ali S. M., Ahmed S., 2016. Oral and Maxillofacial Manifestations in 50 β – Thalassemic Patients a Clinical Study, *The Professional Medical Journal* , 36 (2) : 179-184.
5. Saxena A., 2003. Growth retardation in Thalassemia Major Patient. *Int J Hum Genet* , 3(4):237-46.
6. Pooya A., Karimi M., Immanich., 2004. Growth Retardation in Children with Thalassemia Major. *Haematology* , 7 (4) :493-6.
7. Rund D., Rachmilewitz E., 2005. B Thalassemia. *N Engl J Med* , 353 : 1135-46.
8. Laksmiawati D., Handayani S., Udyaningsih S., Kurniati V., Adhiyanto C., Hidayat J, 2003. Iron Status and Oxidate Stress in Beta Thalassemia Patients in Jakarta. IOS Press ; 53-62.
9. Al-jobouri, H. S., 2011. Selected Salivary Constituents Among 16-18 Years Patients with β Thalassemia Major in Relation to Oral Disease, *J Bagh College Dentistry* , 23 (2) : 31-34.
10. Madhok S., 2014 . Dental Considerations in Thalassemic Patients, *Journal of Dental and Medical Sciences* ; 13 (6) : 57-62.
11. Dhote V., Thosar N., Baliga S., 2015. Evaluation of Oral Hygiene Status and Salivary Biochemistry of Patients with Thalassemia Major : a clinical study , *J of Dental and Medical Science* , 14 (12) : 98-102.
12. Lasisi T.J., Raji Y.R., Salako B.L., 2016. Salivary Creatinine and Urea Analysis in Patients with Chronic Kidney Disease : a case control study. *BMC Nephrol* : 1-6.
13. Casamassimo P.S., Fields H.W., McTigue D.J., Nowak A.J., 2013. Pediatric Dentistry : Infancy Through Adolescence. Elsevier Saunders.
14. Alessandro, S. N., Sayeeda M., Omana S., 2015. Clinical and Diagnostic Utility of Saliva as a Non Invasive Diagnostic Fluid : a systematic review, *J of Croation Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine* : 25 (2) : 177 – 92.
15. Fathi FH, Ahmed Y, Alhially H, Yahya A, Bashi D.2013. Evaluation of Conventional Renal Test in Patients with β Thalassemia Major Using Deferasirox , *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences* , 11 (2) : 1- 9.
16. Goli S., Alaparthi R.K., Yalamanchili S., Nunsavathu P.N., Ambaldhage V.K., 2014. Analysis of blood and salivary urea levels in patients undergoing haemodialysis and kidney transplant , *J Clin Diagn Res* , 8:18–20.
17. Gemella N., Illahi, Rudin T., Rasmidar S. 2016. Concentration of Total Protein and Degree of Acidity (pH) of Saliva when Fasting and After Breakfasting, *J of Dentomaxillofacial Science* , 1 : 36-38.
18. Mallat N.S., Mallat S.G., Musallam K.M., 2013. Potential Mechanisms for Renal Damage in Beta Thalassemia , *JNephrol* , 26 (10) : 821-828.
19. Dubey S., 2008. Perdarahan Gastrointestinal Atas. Dalam : Greenberg M, *Teks Atlas Kedokteran Kedaruratan*. Greenberg Vol I. Jakarta : Penerbit Erlangga ; 275.
20. Hockenberry M.J., Wilson D., 2009. *Essential of Pediatric Nursing*. St. Louis Missouri : Mosby.
21. Greenberg M.S., Glick M., Ship J.A., 2008. *Burket's oral medicine*. 11th ed. Hamilton : BC Decker Inc , h.97.
22. Dubourg L., Laurain C., Ranchin B *et al.*, 2012. Deferasirox Induced Renal Impairment in Children : An Increasing Concern For Pediatricians , *Pediatr Nephrol* , 2115 – 2122.
23. Pfaffe T., Cooper-White J., Beyerlein P., Kostner K., Punyadeera C., 2011. Diagnostic Potential of Saliva: Current State and Future Applications. *Clin Chem* , 57 : 675–87.
24. Zuniga M.E., Estremadoyro L.O., Leon C.P., Huapaya J.A., Cieza J.A., 2012. Validation of The Salivary Urea Test as a Method to Diagnose Chronic Kidney Disease , 25 : 431-436.