

# Capacidad buffer de la saliva en niños y adolescentes con cáncer: Variaciones inducidas por la administración de Metotrexate o Ciclofosfamida

## *Capacity buffer of the saliva in children and adolescents with cancer: Variations induced by the administration of Metotrexate or Cyclophosphamide*

Thais Rojas-Morales <sup>(1)</sup>, Zulecnys Lugo <sup>(2)</sup>, Yrma Santana <sup>(3)</sup>, Rita Navas <sup>(3)</sup>, Olga Zambrano <sup>(1)</sup>, Ninoska Viera <sup>(4)</sup>, Isaura García <sup>(5)</sup>

(1) Dra. en Odontología. Instituto de Investigaciones, Área de Clínica y Patología Bucal. Facultad de Odontología. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. Miembro de la Asociación Internacional de Investigación Odontológica (IADR) y de la Sociedad Venezolana de Odontopediatría

(2) Odontopediatra. Ejercicio Privado de la Profesión

(3) Magíster en Administración de Salud. Instituto de Investigaciones, Área de Sistema y Práctica Odontológica. Facultad de Odontología. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. Miembro de la Asociación Internacional de Investigación Odontológica (IADR)

(4) Magíster en Biología, mención Inmunología Básica. Instituto de Investigaciones, Área Biología Oral. Facultad de Odontología. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. Miembro de la Asociación Internacional de Investigación Odontológica (IADR)

(5) Farmacéutica. Fundación Hospital de Especialidades Pediátricas. Servicio de Oncología. Miembro de la Sociedad Latinoamericana de Oncología Pediátrica

### Correspondencia:

Rojas de Morales, Thais.

Calle 65 equina con Av.19. Edificio Ciencia y Salud. 3er piso.

Maracaibo. Zulia. Venezuela 400

Teléfono 58-0261-7597346. Fax 58-0261-7597347.

E-mail: moralesrojas@cantv.net

Recibido / Received: 19-08-2004 Aceptado / Accepted: 30-04-2005

### Indexed in:

-Index Medicus / MEDLINE / PubMed  
-EMBASE, Excerpta Medica  
-Indice Médico Español  
-IBECS

Rojas-Morales T, Lugo Z, Santana Y, Navas R, Zambrano O, Viera N, García I. Capacity buffer of the saliva in children and adolescents with cancer: Variations induced by the administration of Metotrexate or Cyclophosphamide. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005;10 Suppl2:E103-8.

© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - ISSN 1698-4447

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar las variaciones en los niveles de capacidad buffer de la saliva en niños y adolescentes con cáncer que reciben Metotrexate o Ciclofosfamida. **Materiales y Métodos:** Se realizó un ensayo clínico, aleatorio-controlado. La muestra estuvo conformada por 24 niños en edades entre 2 y 16 años, con diagnóstico de Leucemias y Linfomas que acuden al Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo y Hospital de Especialidades Pediátricas. Se conformaron dos grupos a los cuales se les tomó una muestra de saliva antes y después de la quimioterapia; doce pacientes fueron aleatoriamente ubicados en el G1: pacientes que recibieron Metotrexate y doce en el G2: pacientes que recibieron Ciclofosfamida. Para la determinación de la Capacidad Buffer, se utilizó el CRT® Buffer IVOCLAR VIVADENT. **Resultados:** La capacidad buffer salival no mostró diferencias significativas antes y después de la administración de los agentes citostáticos en estudio. **Conclusiones:** En este estudio, la administración de metotrexate o ciclofosfamida no modificó la capacidad buffer salival en pacientes pediátricos con cáncer.

**Palabras clave:** Saliva, niños y adolescentes, metotrexate, ciclofosfamida, capacidad buffer.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the variations in the levels of capacity buffer of the saliva in children and adolescents with cancer that receiving Metotrexate or Cyclophosphamide. **Materials and Methods:** A clinical, random-controlled assay was carried out. The sample was composed by 24 children, ages between 2 and 16 years, with diagnostic of Leukemia and Lymphomas attending to The Autonomous Service of University Hospital of Maracaibo and Hospital of Pediatric Specialties. Two groups were conformed to which a sample of saliva was taken before and after the chemotherapy; twelve patients were randomly placed in the G1: patient receiving Metotrexate and twelve in the G2: patient receiving cyclophosphamide. In order to determine the capacity buffer, the CRT® Buffer IVOCLAR VIVADENT was used. **Results:** The capacity salivary buffer did not show significant differences before and after the administration of the cytostatic agents studied. **Conclusions:** In this study, the Metotrexate or cyclophosphamide administration does not modify the salivary buffer capacity in pediatric patient with cancer.

**Key words:** Saliva, children and adolescents, Metotrexate, cyclophosphamide, capacity buffer.

## INTRODUCCION

En el campo odontológico, cada día se reconoce con más énfasis la importancia de la saliva en el mantenimiento del equilibrio ecológico de la cavidad bucal; de igual modo es utilizada para el diagnóstico de enfermedades bucales y sistémicas por su fácil recolección a través de métodos no invasivos (1-3). Olofsson y Bratthall (4), señalan que la presencia de enfermedades sistémicas o la administración de fármacos pueden producir cambios cuali-cuantitativos en la saliva, en cuanto a la capacidad buffer, donde el sistema Bicarbonato/Ácido Carbónico es el más importante (5), podría ser dependiente del equilibrio ácido base sistémico.

En un estudio para determinar las condiciones de salud bucal de niños recibiendo hemodiálisis, Ertugrul y cols. (6) reportaron una alta capacidad buffer en la mayoría de los pacientes, debido probablemente al incremento de urea en la saliva de niños con enfermedad renal terminal. Al-Nowaiser y cols (7), al evaluar 25 niños con insuficiencia renal crónica, encontraron diferencias altamente significativas en la capacidad buffer y los niveles de urea salival al compararlos con pacientes sistémicamente sanos.

En el caso del paciente con cáncer, el tratamiento con antagonistas del ácido fólico, está representado por el Metotrexate (Mtx), agente citostático capaz de inhibir la producción del ácido formal-tetra-hidrofólico que es el donante fundamental de grupos formilo requeridos para la síntesis de purinas y pirimidinas. El Mtx es una sustancia ácida que cuando se administra en dosis superior a 2 g/m<sup>2</sup> requiere la administración de bicarbonato de sodio antes y durante 72 horas para mantener la hiperhidratación y obtener diuresis alcalina (8).

Por el contrario, la ciclofosfamida (Ctx) es un agente citostático de la clase de agentes alquilantes, que por la presencia de un grupo amida en su estructura química es de naturaleza básica o alcalina. La Ctx es activada por el sistema citocrom P450, vía metabólica del hígado; se transforma en primer término en 4-hidroxiciclofosfamida y aldofosfamida, esta última en presencia de células tumorales se desdobla espontáneamente generando cantidades de mostaza de fosforamida, la cual posee efectos antitumorales (8). La identificación de este agente en fluidos corporales, tales como, heces y orina, es mínima después de la administración intravenosa, debido a la hiperhidratación forzada (9).

El agregado o la formación de ácidos o bases inducidas por la administración sistémica de Mtx o Ctx pudieran ocasionar variaciones en la capacidad buffer de la saliva; estas consideraciones sirvieron de base a este estudio, cuyo propósito fue determinar las variaciones en los niveles de capacidad buffer de la saliva en pacientes que reciben Mtx o Ctx para considerar en futuros estudios este indicador como un factor de riesgo a caries dental en pacientes pediátricos con cáncer.

## MATERIALES Y METODOS

### Pacientes

La población estuvo constituida por los niños y adolescentes que acudieron a la Unidad de Oncología Pediátrica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM) y a

## INTRODUCTION

In the dentistry field, every day it is recognized with more emphasis the importance of the saliva in the maintenance of the ecological balance of the oral cavity; in a same way, it is used for the diagnosis of oral and systemic illnesses because of their easy gathering through non invasive methods (1-3). Olofsson and Bratthall (4) point out that the presence of systemic illnesses or drugs administration may produce qualitative and quantitative changes in the saliva. The salivary buffer capacity depends mainly on the bicarbonate/ carbonic acid buffer system (5) and this; in turn, could depend on the systemic acid-base balance.

In a study to determine the conditions of children's oral health receiving hemodialysis, Ertugrul et al. (6) reported a high capacity buffer in most patients, due probably to the increment of urea in the saliva of children with terminal kidney disease. Al-Nowaiser et al. (7), evaluating 25 children with chronic kidney dysfunction, they found highly significant differences in the capacity buffer and the levels of salivary urea when comparing them with patient systemically healthy.

In the case of the patient with cancer, the treatment with antagonistic of the folic acid, it is represented by the Metotrexate (Mtx), a cytostatic agent able to inhibit the production of the acid formal-tetra-hydrofolic that is the major donor of groups formyl required for the purine and pyrimidine synthesis. The Mtx is a sour substance, when administered in a superior dose to 2 g/m<sup>2</sup>; it requires the administration of bicarbonate of sodium before and over 72 hours to maintain the hyperhydration and to obtain alkaline diuresis (8).

On the contrary, the cyclophosphamide (Ctx), it is a cytostatic agent of the kind of alkylant agents that by the presence of a group amide in their chemical structure is either basic or alkaline nature. The Ctx is activated by the cytochrome system P450, metabolic via of the liver; firstly, it transforms in 4-hydroxycyclophosphamide and aldophosphamide, the latter in presence of tumor cells is spontaneously unfolded, generating quantities of phosphoramidate mustard, which possesses antitumor effects (8). There is a minimum identification of these agents in corporal fluids, such as, feces and urine after the intravenous administration, due to the forced hyperhydration (9).

The added or the formation of acids or bases induced by the systemic administration of Mtx or Ctx could cause variations in the capacity buffer of the saliva; these considerations were the baseline to this study whose purpose was to determine the variations in the levels of capacity buffer of the saliva in patients receiving Mtx or Ctx for considering this indicator in future studies, as a factor of risk to dental cavity in pediatric patient with cancer.

## MATERIALS AND METHODS

### Patient

The population consisted by the children and adolescents attending to the Unit of Pediatric Oncology of the Autonomous Service of University Hospital of Maracaibo (SAHUM) and to the Oncohematology Unit of the Hospital of Pediatric Specialties (HEP), state Zulia-Venezuela, from august of the year 2002 to June 2003. The sample was composed by 24 patients randomly

la Unidad de Oncohematología del Hospital de Especialidades Pediátricas (HEP), estado Zulia-Venezuela, entre el mes de agosto del año 2002 y junio del 2003. La muestra la conformaron 24 pacientes seleccionados aleatoriamente de la población objeto de estudio. Como criterio de inclusión se consideraron diagnósticos de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) o Linfomas No Hodgking (LNH) según los criterios de la French – American – Bristish (FAB) Cooperative Working Group o los criterios de Working Formulation for clinical Usage, respectivamente, cuyos protocolos de tratamiento incluyen la administración de altas dosis de Metotrexate e hiperhidratación con bicarbonato de sodio y Ciclofosfamida. Se consideró como criterio de exclusión la presencia de cavidades cariosas activas. Este estudio fue aprobado por el comité de ética del SAHUM y HEP, cada padre o representante firmó un informe de consentimiento una vez explicado el propósito del mismo.

De los 24 pacientes admitidos al estudio, 14 eran del sexo masculino (58.3%) y 10 (41.7%) del femenino, con un rango de edad de 2 a 16 años, una media de 8,38 SD  $\pm$ 4,84. Veintidós pacientes con diagnóstico de LLA y 2 con LNH.

#### *Procedimiento experimental*

Se realizó un ensayo clínico aleatorio controlado, conformándose dos grupos de pacientes: el grupo 1 (G1) recibió Mtx y el grupo 2 (G2) Ctx. Todos los pacientes fueron evaluados antes y después de la quimioterapia. Para la recolección de la primera muestra de saliva, el paciente no debió haber recibido citostático ni antibioterapia por lo menos durante 15 días, fue realizada una hora antes de iniciar la quimioterapia y se utilizó como control o medición basal de la capacidad buffer salival; la segunda muestra se realizó en el momento de máxima concentración en plasma de los agentes citostáticos en estudio, doce a quince horas para el G1 y cinco a diez minutos para el G2 (9)

#### *Administración de la quimioterapia*

Los pacientes con LLA recibieron el protocolo Total XIII St Jude Children's Research Hospital. El G1: recibió Bicarbonato de Sodio (NAHCO<sub>3</sub>) 12 mEq/m<sup>2</sup> por vía endovenosa (IV) antes y durante 72 horas de suministrarse el Mtx; una hora después se le administró por IV 500 mg/m<sup>2</sup> de Mtx en bolo, seguido de 1500 mg/m<sup>2</sup> diluido en dextrosa al 5% durante tres horas. El G2: recibió 300 mg/m<sup>2</sup> de Ctx en bolo.

#### *Determinación de la capacidad buffer*

La recolección de las muestras de saliva se realizó en las primeras horas del día, con el paciente en ayunas, sin cepillarse los dientes, en postura recta y relajada estimulando la producción salival mediante la masticación de una cápsula de parafina. Para la determinación de la Capacidad Buffer se utilizó la prueba colorimétrica comercial CRT® Buffer IVOCLAR VIVADENT, siguiendo las instrucciones de la casa fabricante. La capacidad buffer alta, media y baja es indicada por los colores azul, verde y amarillo respectivamente.

#### *Análisis estadístico*

Todos los datos fueron procesados y analizados con el programa estadístico SPSS versión 7.5, utilizando la prueba no paramétrica para muestras dependientes de Wilcoxon para rangos con signo de pares comparados.

selected from the population in study. As inclusion criterion, the diagnostic of Acute Lymphoblast Leukemia (ALL) or Non Hodgking Lymphomas (NHL), according to the French-American-British (FAB) Cooperative Working Group criteria or the Working Formulation for clinical Usage criteria; respectively, whose treatment protocols include the administration of high dose of Metotrexate and hyperhydration with bicarbonate of sodium and Cyclophosphamide. It was considered as exclusion criterion the presence of active hole cavities. This study was approved by the committee of Ethics of the SAHUM and HEP, each relative or legal representative signed a consent report once explained the purpose of this study.

Of the 24 patients admitted to the study, 14 were male (58.3%) and 10 female (41.7%), ranging 2 to 16 years old and a mean 8,38 $\pm$  4,84. Twenty-two patients diagnosed with ALL and 2 patients with NHL.

#### *Experimental procedure*

A controlled random clinical essay was carried out. Two groups of patients were composed: the group 1 (G1) received Mtx and the group 2 (G2) received Ctx. All the 24 patients were evaluated before and after the chemotherapy. For collecting the first sample of saliva, the patient should have received neither cytostatic nor antibiotic therapy at least during 15 days, the evaluation was carried out one hour before starting the chemotherapy and it was used as control or basal measuring of the salivary buffer capacity; the second sample was performed at the moment of maximum plasma concentration of the cytostatic agents in study, from twelve to fifteen hours for the G1 and five to ten minutes for the G2 (9).

#### *Administration of the chemotherapy*

The patients with ALL received the XIII Total protocol St Jude Children's Research Hospital. The G1: they received Bicarbonate of Sodium (NAHCO<sub>3</sub>) 12 mEq/m<sup>2</sup> via endovenous (IV) before and during 72 hours of being given the Mtx; one hour later was administered by IV 500 mg/m<sup>2</sup> of Mtx in bolus, followed by 1500 mg/m<sup>2</sup> diluted in dextrose to 5% during three hours. The G2: they received 300 mg/m<sup>2</sup> of Ctx in bolus.

#### *Determination of the capacity buffer*

The collecting of the samples of saliva was carried out in the first hours of the day, with the patient in fasting, without brushing the teeth, in a relaxed posture stimulating the salivary production by masticating a capsule of paraffin. For determining the Capacity Buffer, the commercial colorimetric test CRT Buffer IVOCLAR VIVADENT was used, following the directions of the manufacturing. The capacity buffer high, half and low were indicated by the colors blue, green and yellow respectively.

#### *Statistical analysis*

All the data were processed and analyzed with the statistical program SPSS version 7.5, using the non parametric test for dependent samples of Wilcoxon for ranges with sign of compared pairs.

## **RESULTS**

A total of 48 evaluations were completed, 24 evaluations were carried out before the administration of the chemotherapy, 12

**RESULTADOS**

Un total de 48 evaluaciones fueron completadas, de las cuales 24 se realizaron antes de la administración de la quimioterapia, 12 después de haber recibido Metotrexate e hiperhidratación con bicarbonato de sodio y 12 después de la Ciclofosfamida.

Los niveles de capacidad buffer de la saliva, antes y después de la administración de la quimioterapia, sin considerar el tipo de agente citostático utilizado, mostraron que el mayor número de casos se ubica en la capacidad buffer media en ambos momentos de la medición. Al aplicar la prueba estadística de Wilcoxon para rangos con signo de pares comparados no se evidenciaron diferencias significativas entre los momentos evaluados ( $p>0,05$ ).

La Tabla 1, muestra las variaciones de los niveles de capacidad buffer antes y después en el grupo G1, observándose un aumento en el porcentaje de casos con capacidad buffer media (58,3%). Al aplicar la prueba estadística de Wilcoxon para rangos con signo de pares comparados no se evidenciaron diferencias significativas entre los momentos evaluados, ( $p>0,05$ ).

En el grupo G2 (Tabla 2), se observa la aparición de niveles de capacidad buffer baja en el 16,7% de los casos evaluados. Al aplicar la prueba estadística de Wilcoxon para rangos con signo de pares comparados no se evidenciaron diferencias significativas entre los momentos evaluados, ( $p>0,05$ ).

of them, after receiving Metotrexate and hyperhydration with bicarbonate of sodium and 12 after the Cyclophosphamide administration.

The levels of capacity buffer of the saliva, before and after the administration of the chemotherapy, without considering the type of cytostatic used agent showed that the highest number of cases is located in the media capacity buffer in both moments of the measuring. Applying the statistical test of Wilcoxon for ranges with sign of compared pairs, significant differences they were not evidenced among the evaluated moments ( $p>0,05$ ).

Table 1 shows the variations of the levels of capacity buffer before and after in the group G1, an increase in the percentage of cases with half capacity buffer (58,3%) was noted. When applying the statistical test of Wilcoxon for ranges with sign of compared pairs, significant differences were not evidenced among the evaluated moments, ( $p>0,05$ ).

In the group G2 (Table 2), the presentation of levels of low capacity buffer was observed in 16,7% of the evaluated cases. When applying the statistical test of Wilcoxon for ranges with sign of compared pairs, significant differences were not evidenced among the evaluated moments ( $p>0,05$ ).

**Tabla 1.** Variaciones en los niveles de Capacidad Buffer antes y después de la administración de Metotrexate.

Capacidad Buffer	Antes		Después	
	N	%	N	%
Alta	6	50,0%	5	41,7%
Media	6	50,0%	7	58,3%
Baja	0	0,0%	0	0,0%
Total	12	100,0%	12	100,0%

**Table 1.** Level Variations of Capacity Buffer before and after the Metotrexate administration.

Capacity Buffer	Before		After	
	N	%	N	%
High	6	50,0%	5	41,7%
Half	6	50,0%	7	58,3%
Low	0	0,0%	0	0,0%
Total	12	100,0%	12	100,0%

**Tabla 2.** Variaciones en los niveles de Capacidad Buffer antes y después de la administración de Ciclofosfamida.

Capacidad Buffer	Antes		Después	
	N	%	N	%
Alta	5	41,7%	5	41,7%
Media	7	58,3%	5	41,7%
Baja	0	0,0%	2	16,7%
Total	12	100,0%	12	100,0%

**Table 2.** Level Variations of Capacity Buffer before and after the cyclophosphamide administration

Capacity Buffer	Before		After	
	N	%	N	%
High	5	50,0%	5	41,7%
Half	7	50,0%	5	41,7%
Low	0	0,0%	2	16,7%
Total	12	100,0%	12	100,0%

## DISCUSION

El presente estudio evaluó la capacidad buffer salival antes y después de la administración de altas dosis de Mtx y Ctx, en 24 pacientes pediátricos con LLA y LNH. Los resultados no mostraron variaciones significativas después de la administración de los agentes citostáticos. La acción amortiguadora del bicarbonato de sodio utilizado antes y durante la administración de altas dosis de Mtx, probablemente permitió mantener la capacidad buffer salival en niveles medio-alto, apoyando la tesis de que el bicarbonato es el sistema buffer más importante de la saliva (10). De igual forma, como sugiere Smith (11), cuando las concentraciones de bicarbonato de sodio en plasma son elevadas, este exceso puede ser excretado por las glándulas salivales, probablemente por las células acinares.

A pesar de no evidenciarse diferencias significativas después de la administración de Ctx, la presencia de la capacidad buffer baja en dos pacientes podría estar relacionada con la características básicas de este agente citostático al contener en su estructura química un grupo amida (9), lo cual pudo ocasionar modificaciones en la homeostasis ácido-base fisiológica, provocando una disminución del sistema buffer sistémico y por ende de la capacidad buffer salival.

Los resultados de esta investigación, contrastan con lo señalado por Olofsson y Bratthall (4) quienes plantean que los fármacos administrados de forma terapéutica en algunas enfermedades, como las de tipo neoplásico, pueden producir cambios en la capacidad buffer de la saliva.

En conclusión, en este estudio, la administración de Mtx o Ctx no modificó la capacidad buffer salival en pacientes pediátricos con cáncer. Finalmente, se recomienda continuar la realización de investigaciones ampliando el tamaño de la muestra, así como, la evaluación del flujo salival, del pH y capacidad buffer en sangre y saliva después de la administración de agentes citostáticos.

## AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. CONDES. Universidad del Zulia, por su aporte financiero y a la Unidad de Oncología Pediátrica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo y a la Unidad de Oncohematología del Hospital de Especialidades Pediátricas por su valioso apoyo durante esta investigación.

## DISCUSSION

The present study evaluated the buffer salivary capacity before and after the administration of high doses of Mtx and Ctx, in 24 pediatric patients with ALL and NHL. The results did not show significant variations after the administration of the cytostatic agents. It is possible that the attenuating action of the bicarbonate of sodium used before and during the administration of high dose of Mtx allowed to maintain the capacity salivary buffer in half-high levels, supporting the thesis that the bicarbonate is the most important buffer system of the saliva (10). In the same way, as Smith suggests (11), when the concentrations of bicarbonate of sodium in plasma are high, this excess can be excreted by the salivary glands, probably by the acinar cells.

Although the evidence showed no significant differences after the administration of Ctx, the presence of the low capacity buffer in two patients evaluated could be related to the basic characteristic of this cytostatic agent when containing in its chemical structure an amide group (9), which might cause modifications in the acid-base physiologic homeostasis, causing a decrease of the systemic buffer system and so, of the capacity salivary buffer. The results of this investigation, contrast with that pointed out by Olofsson and Bratthall (4) who stated that the drugs administered in a therapeutic way, in some illnesses as those of neoplastic type can produce changes in the capacity buffer of the saliva.

In conclusion, in this study, the administration of Mtx or Ctx it did not modify the capacity salivary buffer in pediatric patient with cancer. Finally, it is recommended to continue doing investigations in order to widen the size of the sample, as well as, the evaluation of the salivary flow, of the pH and capacity buffer in blood and saliva after the administration of cytostatic agents.

## ACKNOWLEDGMENTS

To the Council of Scientific and Humanistic Development. CONDES. The University of Zulia, for their financial contribution and to the Unit of Pediatric Oncology of the Autonomous Service of University Hospital of Maracaibo and the Unit of Oncohematology of the Hospital of Pediatric Specialties for their valuable support during this investigation.

**BIBLIOGRAFIA/REFERENCES**

1. Seif RT. Saliva: Su rol en salud y enfermedad. En: Seif RT, editor. Cariología. Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental. Venezuela: Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica, C. A; 1997. p. 219-37
2. Banderas-Tarayay J, González-Begné M, Sanchez-Garduño A, Millán-Cortéz E, López-Rodríguez A, Vilchis-Velázquez A. Flujo y Concentración de Proteínas en Saliva Total Humana. Salud Pública Mex 1997;39:433-71
3. Medina Madrid R, Morán López E, Regalado M, Bergado B. La saliva como medio diagnóstico de VIH. Rev Cubana Estomatol 2000;37:146-56
4. M. Olofsson, D. Bratthall. Malmo University. Faculty of Odontology. Department of Cariology. Diagnostic Dental Caries. Collecting Relevant Background Data. 2001 February. Disponible en <http://www.db.od.mah.se/car/data/basic.html>
5. Liébana J, Castillo A, Garcia-Mendoza A. Determinantes ecológicos orales . En: Liébana J, editor. Microbiología Oral . México: Mc Graw - Hill Interamericana; 1997. p. 409-45
6. Ertugrul F, Elbek-Cubukcu C, Sabah E, Mir S. The oral health status of children undergoing hemodiálisis treatment. Turk J Pediatr 2003;45:108-13.
7. Nowaiser A, Roberts GJ, Trompeter RS, Wilson M y Lucas VS. Oral health in children with chronic renal failure. Pediatr Nephrol 2003;18:39-4
8. Calabresi P, Chaber BA. Quimioterapia de las enfermedades neoplásicas. En: Hardman JG, Limbird LE, editores. Las bases farmacológicas de la terapéutica. México: McGraw-Hill Interamericana; 1998. p. 1320-5.
9. Brock N and Pohl J. Prevention of urotoxic side effects by regional detoxification with increased selectivity of oxazaphosphorine cystostatics. Sci Publ 1986;78:269-79.
10. Dawes C. Factors influencing salivary flow rate and composition. En: Edgar WM, Mullane DM, editors. Saliva and oral health. London: British Dental Association; 1996. p. 27-41
11. Smith PM. Mechanisms of secretion by salivary glands. En: Edgar WM, Mullane DM, editors. Saliva and oral health. London: British Dental Association; 1996. p. 9-25