



Del av den nordiska artikelserien Diagnostik och terapiplanering.
Översiktsartikel, accepterad för publicering 3 november 2014.
Artikeln är översatt från danska av Nordisk Oversættergruppe, Köpenhamn.

Saliv som diagnostiskt redskap – möjligheter och begränsningar

Det finns många fördelar med att kunna använda saliv i stället för blod vid diagnostik, upptäckt av sjukdomar och övervakning av sjukdomsprogression och behandlingseffekt. Det är enkelt, billigt, säkert och icke-invasivt att samla in saliv, och med den snabba utvecklingen inom OMIK-teknikerna, som kan öka validiteten hos salivbiomarkörerna, kommer saliv utan tvekan att i framtiden användas som diagnostiskt redskap i betydligt större omfattning i kliniken.

Det finns många fördelar med att kunna använda saliv i stället för blod för upptäckt av sjukdomar, diagnostik och övervakning av sjukdomsprogression och behandlingseffekt. Blodets sammansättning återspeglas till viss del i saliven, saliv är enkelt att samla in, förvara och transportera, uppsamlingen kräver inte specialutbildad personal och infektionsrisken är mindre än vid hantering av blodprover. Hos barn och patienter med nålskräck är det en stor fördel att kunna ta ett salivprov i stället för ett blodprov. Det är lättare att ta upprepade salivprover, till exempel under ett dygn, och det är en kostnadseffektiv metod som lämpar sig för screening av större befolkningsgrupper.

Under i synnerhet de senaste tio åren har det skett en snabb utveckling inom molekylärbiologiska tekniker som har bidragit till att öka sensitivitet och specificitet för några genetiska, biokemiska och cellulära markörer som kan påvisas i saliv. Detta har naturligtvis ökat intresset betydligt för möjligheten

att använda saliv som diagnostiskt redskap. Det råder inget tvivel om att utvecklingen, i synnerhet inom områdena proteomik och genomik, kommer att göra det möjligt att i framtiden använda saliv som biomaterial för att påvisa genetisk sjukdomsdisposition, biomarkörer vid sjukdomsutredning och -progression, samt för att kontrollera behandlingseffekten i långt större omfattning än i dag. Det bör understrykas att det finns omständigheter som begränsar användningen av saliv och att man måste testa sensitivitet och specificitet för flera av de biomarkörer som har påvisats i ett större biomaterial, till exempel från biobanker och på större populationer i prospektiva studier, och jämföra med blod, innan det kan bli en realitet att tandläkaren tar ett salivprov för screening av patientens allmänna hälsotillstånd i samband med en vanlig tandundersökning.

Denna artikel är en genomgång av de potentiella biomarkörer som påvisats vid en rad orala och allmänna sjukdomar och av hur saliv kan användas för att påvisa droger och mäta hormonnivåer, bland annat vid stress.



Författare

Anne Marie Lyng Pedersen, lektor, tandl, PhD, Sektion for Oral Medicin, Klinisk Oral Fysiologi, Oral Patologi & Anatomi, Odontologisk Institut, Det Sundhedsfaglige Fakultet, Københavns Universitet, Danmark.
E-post: amlp@sund.ku.dk

VARFÖR ÄR SALIV ANVÄNDBART SOM DIAGNOSTISKT REDSKAP?

Saliven som utsöndras till munhålan innehåller flera olika proteiner. Dessa kan utsöndras direkt i saliven av spottkörtlarnas celler, passera från blodet genom spottkörtlarna och ut i saliven genom olika transportmekanismer, eller komma från avstötta

epitelceller i spottkörtlarna eller munslemhinnan [1]. Transport av substanser från blod till saliv kan ske transcellulärt eller paracellulärt genom passiv eller aktiv transport, och beror bland annat på substansernas pH, laddning, proteinbindning samt vatten- och fettlöslighet [2]. Man förutsätter att de flesta lågmolekylära proteiner kan passera fritt genom spottkörtlarna. Det ser alltså ut att finnas goda möjligheter att använda saliv för att ta fram metoder som kan användas i kliniken för tidig upptäckt av sjukdomar, optimerad diagnostik, sjukdomsprevention och behandling. Utvecklingen går mycket snabbt och det finns redan i dag identifierade biomarkörer i saliv som används inom diagnostik och behandling. En biomarkör definieras som en effekt eller egenskap som kan mätas och utvärderas objektivt som en indikator på normala biologiska processer, patogena processer eller farmakologisk respons på terapeutiska interventioner [3].

Många av de proteiner/molekyler som finns i saliv kan vara potentiella markörer för

- vår genetiska disposition för sjukdomar som till exempel cancer och autoimmuna sjukdomar
- sjukdoms- eller miljömässigt betingade förändringar i våra gener
- vad som har gått fel i "proteinsystemen" när en sjukdom har uppstått
- hur sjukdomen utvecklas
- hur kroppen reagerar på en viss behandling.

Det är utvecklingen på OMIK-området som har medfört att intresset för att använda saliv för att påvisa olika biomarkörer har ökat. OMIK är tekniska metoder som omfattar genomik, epigenomik, transkriptomik, proteomik och metabolomik [4]. Figur 1 visar vad dessa olika OMIK-tekniker kan användas till.

BEGRÄNSNINGAR FÖR ANVÄNDNING AV SALIV

Merparten av de biomarkörer vi känner till i dag finner man i blodprover och inte i saliv. Våra kunskaper om sambandet mellan olika sjukdomar och förändringar i uttrycket av olika molekyler baseras främst på studier där man använder blodprover. Dessa samband kan inte nödvändigtvis påvisas när man använder salivprover. Dessutom avspeglar saliven i högre grad än blodet kroppens aktuella tillstånd, eftersom salivens sekretionshastighet och sammansättning varierar betydligt under ett dygn och vissa substansers förekomst i saliven i hög grad är beroende av sekretionshastigheten [2].

Förutom dygnsvariationerna i salivens biokemiska sammansättning kan själva uppsamlingsmetoden och hanteringen av salivprovet ha stor betydelse för tolkningen av resultatet och därmed för påvisandet av en giltig biomarkör [1, 5]. Hos patienter med starkt nedsatt salivsekretion kan det vara svårt att samla in tillräckligt mycket saliv för en analys, särskilt

Genomik – används för att kartlägga våra gener och undersöka cellernas arvs massa, DNA. Kan användas för att bestämma om man har en genetisk disposition för en viss sjukdom.

Epigenomik – används för att påvisa DNA-förändringar som uppstått vid DNA-metylering eller histonmodifiering. Dessa förändringar kan orsakas av yttre faktorer (mutagener), som kost och föroreningar, och medföra ökad risk för sjukdomsutveckling.

Transkriptomik – DNA transkriberas via olika RNA-molekyler. På så sätt kommer aktuellt DNA till uttryck. Används för att påvisa till exempel mikroRNA som biomarkör för sjukdom.

Proteomik – DNA transkriberas via RNA, och mätningar pågår av proteiners struktur och funktion, som kan vara förändrad på grund av sjukdom, till exempel cytokinprofilen.

Metabolomik – används för att analysera metaboliter, det vill säga molekyler som är en följd av metabolismen i kroppen. Det kan till exempel vara aminosyror och kolhydrater.

ostimulerad helsaliv. Det kan också vara viktigt att kunna samla in saliv selektivt från till exempel parotiskörteln för att följa sjukdomens effekter i vissa bestämda spottkörtlar, till exempel vid Sjögrens syndrom [6]. I samband med påvisandet av biomarkörer i saliv (och jämförelse med motsvarande fynd i blodprover), måste man använda standardiserade metoder för uppsamling av ostimulerad och tuggstimulerad helsaliv [2, 5]. Den vanligaste metoden är att mäta det ostimulerade salivflödet [2]. Om saliv ska användas i framtiden för mer omfattande diagnostik och screening av större befolkningsgrupper, till exempel i utvecklingsländer, är det viktigt att man kan använda helsaliv som är lätt att samla in framför saliv från vissa specifika spottkörtlar, eftersom den senare tekniken är svårare. Det är också viktigt att salivproverna hanteras och förvaras på rätt sätt, det vill säga placeras på is och snabbast möjligt fryses ner för att förhindra enzymatisk nedbrytning av vissa molekyler. Vid proteom- och transkriptomanalys krävs ofta tillsättning av enzymhämmare som proteas och ribonukleas för att vissa instabila komponenter ska kunna påvisas i saliven, till exempel mikroRNA [5].

Figur 1. Olika OMIK-tekniker och vad de kan påvisa i bland annat saliv.

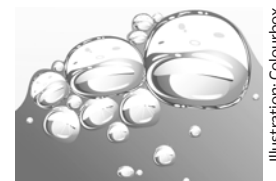


Illustration: Colourbox

"Hos barn och patienter med nålskräck är det en stor fördel att kunna ta ett salivprov i stället för ett blodprov."

**Tabell 1.** Exempel på potentiella biomarkörer i saliv.

Biomarkörtyyp	Exempel
Mikroorganismer	Bakterier, virus, svampar, protozoer
Celler	Epitelceller, neutrofila granulocyter
Organeller	Mikropartiklar (0,1–1 µm), exosomer (< 0,1 µm)
Muciner	MUC5B och MUC7 MUC1 och MUC4 (membranbundna)
Proteiner	Prolinrika proteiner, cystatin S, katellicidin, alfa-defensiner
Mindre proteiner/peptider	Nedbrytningsprodukter från histatiner, staterin och prolinrika proteiner
Antikroppar	Sekretoriskt immunglobulin A, immunglobulin G
Enzymer	Kolsyreanhydras 6, amylas, kallikrein
Peptidhormoner och cytokiner	Epitelial tillväxtfaktor, leptin, melatonin, interleukiner bland annat IL-8 och IL-6
DNA	Humant och bakteriellt
mRNA och miRNA	Humant cellulärt och cellfritt (exosomalt); bakteriellt
Steroider	DHEA (dehydroepiandrosteron), kortisol; östrogen, progesteron
Lipider	Glycerofosfolipider, kolesterol
Elektrolyter/joner	Hypotona koncentrationer av natrium och klorid, kalcium-mättnad, bikarbonat, nitrat, tiocyanat

Utvecklingen av känsliga molekylärbiologiska analysmetoder har varit, och är fortfarande, av avgörande betydelse för att man med hög känslighet och specificitet ska kunna påvisa biomarkörer, och på det hela taget för möjligheten att kunna påvisa molekyler vars koncentration i saliv kan vara flera hundra gånger lägre än i blod, till exempel vissa proinflammatoriska cytokiner. Påvisande av förändrad cytokinprofil vid en bestämd systemisk sjukdom, till exempel Sjögrens syndrom, kan för övrigt påverkas av att patienten har andra inflammatoriska sjukdomar, såsom marginal parodontit, vilket naturligtvis måste beaktas vid tolkningen av analysresultaten. Även användning av *high throughput* DNA-sekvensering för karaktärisering av orala mikroorganismer och det humana orala mikrobiomet är ett viktigt framsteg (för ytterligare information, se online-databas: www.homd.org). Karaktärisering av det humana salivproteomet har visat att det finns över 3 000 proteiner (se online-databas: www.hspp.ucla.edu).

BIOMARKÖRER I SALIV OCH DERAS KLINISKA ANVÄNDNING

Saliven innehåller en mängd olika potentiella biomarkörer (tabell 1). Användningen av dessa biomarkörer för diagnos av specifika sjukdomar beskrivs nedan.

Marginal parodontit, ischemisk hjärtsjukdom och diabetes

Marginal parodontit (MP) är en bakterieorsakad, kronisk inflammatorisk sjukdom [7]. Sjukdomsmönstret präglas av perioder med exacerbationer och remission, med sjukdomsaktivitet respektive -inaktivitet. MP är en multifaktoriell sjukdom där genetiska och miljömässiga faktorer spelar in [7]. Genom att identifiera mikrobiella och genetiska biomarkörer samt markörer för värdrespons kan man underlätta identifiering, prognostisering och övervakning av patienter med risk för allvarlig sjukdomsprogression, patienter som inte svarar på konventionell behandling och patienter som är i riskzonen för att utveckla komplicerande systemiska sjukdomar.

Det inflammatoriska tillståndet i den parodontala vävnaden och nedbrytningen av benvävnad utlöser ökad produktion av en rad molekyler som kan påvisas i såväl tandköttsfickans vätska som i helsaliv. Dessa är cytokiner (interleukin-) IL-1b, IL-6, (tumörnekrosfaktor-α) TNF-α och prostaglandiner, samt (matrixmetalloproteinaser) MMP-8, -9 och -13, alkaliskt fosfat, osteokalcin och osteonektin [8, 9]. Några av dessa markörer (IL-1b, osteoprotegerin och MMP-8) finns i ökad mängd hos patienter med MP och står i korrelation till sjukdomens svårighetsgrad [10].

En undersökning har visat att det vid en kombination av mikrobiella markörer (förhöjda värden av *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* och *Campylobacter rectus*) och värdresponsmarkörer (osteoprotegerin, MMP-8, MMP-9 och IL-1b) är möjligt att gruppera patienterna efter sjukdomsprogression [11]. På samma sätt har man funnit att förhöjda värden av *Porphyromonas gingivalis*, IL-1b och MMP-8 är relaterade till sjukdomens svårighetsgrad [12]. MP resulterar också i en mätbar systemisk inflammatorisk respons som ökar mängden cirkulerande C-reaktivt protein och IL-6. Parodontal behandling har en gynnsam effekt på detta [8]. Dessa observationer visar att det sannolikt finns ett orsakssamband mellan den systemiska inflammationen utlöst av MP och risken för hjärt-kärlsjukdom.

Salivbaserade biomarkörer för akut hjärtinfarkt är C-reaktivt protein, myoglobin och myeloperoxidase [13]. Man har påvisat förhöjda värden av MMP-8 i saliven hos patienter med akut hjärtinfarkt [14], och förhöjt CPK (kreatinfosfokinase, en markör för akut hjärtinfarkt) är korrelerat till cirkulerande nivåer av CPK i blodet 24 och 48 timmar efter en infarkt [15].

Man har kunnat påvisa ett samband mellan MP och diabetes [16] och även ett antal gemensamma biomarkörer. MMP-8 och osteoprotegerin finns till exempel i saliven hos diabetiker, oavsett om patienten har MP eller inte [17]. Hos patienter med typ 2-diabetes men ingen gingivit har man

påvisat uppreglering av proteinashämmarna α -2-makroglobulin, α -1-antitrypsin och cystatin C [18]. Hos barn med typ 1-diabetes har man funnit uppreglering av α -defensiner men nedreglering av staterin och besläktade peptider [19].

Oral lichen planus

Oral lichen planus (OLP) är en kronisk inflammatorisk munslemhinne- och hudsjukdom. Etiologin är ännu okänd. Man antar att autoreaktiva cytotoxiska CD8+-T-celler utlöser keratinocyt-apoptos och produktion av cytokiner, vilket har betydelse för sjukdomsaktiviteten [20]. Man har tidigare visat att patienter med erosiv OLP har förhöjda nivåer av IFN- γ (interferon-gamma), TNF- α och TNF-receptor-2 i saliven i jämförelse med friska kontrollpersoner. Värdena faller markant efter systemisk behandling med prednison [21]. I andra studier har man också funnit förhöjda nivåer av saliv-TNF- α hos patienter med OLP samt förhöjda nivåer av IL-1 α , IL-6 och IL-8 [22, 23]. Dessutom tyder undersökningsresultaten på att förändringen av dessa NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer* av aktiverade B-celler)-beroende cytokiner i helsaliv delvis kan avspegla den ökade risken för malign transformation av OLP, och att mätning av dessa cytokiner i framtiden kan användas vid monitorering av behandlingsresponsen [23].

Oral cancer, bröst- och pankreascancer

Oral skivepitelcancer (OSCC) är den vanligaste cancerformen i munhålan. Som vid andra cancerformer är tidig diagnos viktig för snabb behandling och därmed bättre prognos. Åtskilliga undersökningar har visat att saliv från patienter med skivepitelcancer innehåller förhöjda halter av IL-1, IL-6, IL-8, CD44, carcinoembryonalt antigen (CEA), α -defensin-1 och TNF- α [24–28], men även fibronectin-cytokeratin 19-fragment, vävnadspolypeptidantigen (*tissue polypeptid antigen*, TPA), endotelin-1, Cyfra 21-1, cancerantigen CA125, M2BP, MRP14, profilin, CD59 och katalas, som samtliga anses vara potentiella markörer för oral cancer [23–29].

Patienter med orala premaligna tillstånd har lägre nivå av TNF- α , IL-1- α , IL-6 och -8 i saliven än patienter med skivepitelcancer, men högre nivå av dessa proinflammatoriska cytokiner än friska kontrollpersoner [23, 25, 30]. Med hjälp av mikroarray-baserade analyser och kvantitativ polymeraskedjereaktion (qPCR) har man visat att DUSP1, H3F3A, IL-1 β , IL-8, OAZ1, SAT och S100P är förhöjda hos patienter med skivepitelcancer jämfört med hos friska kontrollpersoner [31]. Sensitiviteten och specificiteten är hög om man kombinerar dessa biomarkörer [31]. Dessa biomarkörer verkar också vara oberoende av etnicitet [32]. Studier tyder på att salivtranskriptomet bättre kan påvisa oral cancer än serumtranskriptom

och en rad salivtranskriptom-biomarkörer håller just nu på att testas och valideras i större befolkningsgrupper [33]. Analyser av mikroRNA i saliv har visat lägre nivåer av miR-125a och miR-200a hos patienter med skivepitelcancer än hos friska kontrollpersoner [34]. Dessutom har man funnit MMP-1 och MMP-3 i högre koncentrationer i saliven hos patienter med skivepitelcancer än hos friska kontrollpersoner. Koncentrationerna stiger i takt med sjukdomens progression [35].

Tidigare studier tyder på att mätning av CA 125 och epidermal tillväxtfaktor (EGF) i saliv kan användas vid diagnostik av ovarial- [36] och bröstcancer [37]. Tumörmarkörerna c-erbB-2 och cancerantigen 15-3 i saliv är signifikant högre hos kvinnor med bröstcancer än hos kvinnor med godartade tumörer och hos friska kontrollpersoner [38]. Omvänt är halten av tumörsuppressorproteinet och onkogenproteinet 53 (p53) i saliv lägre hos kvinnor med bröstcancer än hos kvinnor med godartade tumörer [38]. Äter andra mikroRNA-biomarkörer och proteinbiomarkör har validerats och visat en sensitivitet på 83 procent och specificitet på 97 procent på ett prekliniskt valideringsmaterial [39].

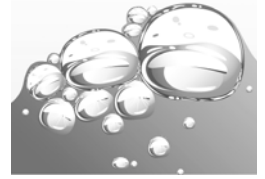
I en senare undersökning identifierades fyra mRNA-biomarkörer (KRAS, MBD3L2, ACRV1 och DPM1), som möjliggjorde åtskillnad mellan patienter med pankreascancer, kronisk pankreatit och friska kontrollpersoner (sensitivitet 90 procent och specificitet 95 procent) [40].

Virusinfektioner

Salivtest med mätning av hiv-specifika IgG-antikroppar är en erkänd och väletablerad metod för att diagnostisera hiv (humant immunbristvirus). Sensitiviteten och specificiteten är hög (mellan 95 procent och 100 procent) och ligger i nivå med serumtest [41–43]. Användning av helsaliv för att diagnostisera hiv-infektion har uppenbara fördelar, bland annat den betydligt lägre infektionsrisken för vårdpersonalen och underlättad diagnostik hos barn och i stora befolkningsgrupper. Dessutom är det möjligt att diagnostisera hepatit A, B och C med hjälp av antikroppsanalyser i saliv, samt att analysera vaccininducerad immunitet. Specificiteten och sensitiviteten är hög (mellan 98,7 procent och 100 procent) och på nivå med serumtester [44, 45]. Antikroppar mot röda hund, mässling och påssjuka kan också påvisas i saliv med stor noggrannhet [46–48].

Sjögrens syndrom

Sjögrens syndrom (SS) är en kronisk, inflammatorisk autoimmun bindvävssjukdom som karaktäriseras av närvaro av lymfocytinfiltrat i exokrina körtlar. Det är främst tår- och spottkörtlar som är drabbade och nedsatt tår- och salivsekretion anses ha samband med en progredierande lymfocytmedierad nedbrytning av körtelparenkymet [49].



”Användning av helsaliv för att diagnostisera hiv-infektion har uppenbara fördelar, bland annat den betydligt lägre infektionsrisken för vårdpersonalen ...”



Sialokemiska undersökningar har visat att patienter med primärt SS har höga koncentrationer av natrium och klorid, men låg koncentration av fosfat i helsaliv, parotissaliv och saliv från *gll. submandibularis/sublingualis* trots låga sekretionshastigheter [50, 51]. Detta tyder på en dysfunktion i de duktala cellernas förmåga att resorbera salter, vilken kan bero på förändrade signaleringsmekanismer och/eller förändrad förekomst av involverade transportproteiner [51]. Dessutom har man funnit högre koncentrationer av MMP-9 och dess viktigaste hämmare TIMP-1 i saliven hos patienter med SS än hos friska kontrollpersoner, men sambandet med symtomens intensitet och sjukdomsdurationen är ännu oklart [52]. En rad cytokiner har också undersökts och man har funnit att IL-10 och IL-6 förekommer i högre koncentration i saliven hos patienter med SS än hos friska kontrollpersoner. IL-6 har befunnits ha samband med både mun- och ögontorrhet [53]. Det har dessutom visats att 16 olika peptider i helsaliv uttrycks på ett signifikant avvikande sätt hos patienter med SS än hos friska kontrollpersoner [54]. Senare studier visar att användning av en kombination av proteinmarkören beta-2-mikroglobulin och mRNA-biomarkörerna *myeloid cell nuclear differentiation antigen* och *guanylatbindande protein-2* inte bara gör det möjligt att mycket noggrant skilja ut SS-patienter från friska kontrollpersoner utan även från patienter med systemisk lupus erythematosus [55, 56].

Hormoner

Mätning av hormonnivåer i saliv har använts länge i kliniska sammanhang. Kartläggning av dygns- eller månadsvariationer i hormonnivåerna kräver att flera prover tas med bestämda intervall. Salivprover är här enklare att använda än blodprover då det kan ske utan besvär för patienten och kan göras i hemmet. De flesta hormoner, till exempel steroider, är fettlösliga och passerar alltså från blodet ut i saliven genom passiv diffusion. Hormonnivån i blodet, det vill säga den fria andelen hormon i blodet, avspeglas direkt i saliven. Eftersom fritt hormon är identiskt med biologiskt aktivt hormon kan användning av saliv ha högre diagnostiskt värde än blod. Mätning av kortisol i saliven har längre använts som en stressmarkör [57]. Kortisol frisätts via HPA-axeln (hypotalamus-hypofys-binjure-axeln) och mätning av kortisol kan alltså visa på en dysfunktion i HPA-axeln, något som kan förekomma vid långvarig stress, beteenderubbningar och vissa endokrina sjukdomar. Monitorering av könshormoner som östradiol, östrogen, progesteron och testosteron i saliven används allmänt för bedömning av bland annat fertilitet, ägglossning, fostertillväxt, prediktion av för tidig förlossning, idrottsprestationer, missbruk av anabola steroider samt tillväxt- och beteenderubbningar hos barn [58].

Monitorering av läkemedel och droger

Storleken på ett läkemedelsintag kan också bestämmas i saliv och avspeglar, precis som för hormonerna, den fria, icke-proteinbundna andelen av läkemedlet i blodet. Eftersom den fria, icke-proteinbundna andelen av läkemedlet kan vara beroende av pH-värdet, kommer resultatet av mätningen att bero på sekretionshastigheten och därmed ändringar i salivens pH, vilket kan medföra variationer i saliv-/plasmaförhållandet och minska det diagnostiska värdet av salivtestet.

Saliv är däremot lämpligt att använda vid mätning av droger eftersom det då ofta handlar om att man behöver kontrollera om en viss drog finns i kroppen eller inte. Saliv används alltså för att avslöja missbruk av cannabis, kokain, opioider och även alkoholintag [59].

SLUTSATS

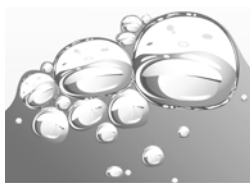
Under det senaste årtiondet har intresset ökat för att använda saliv som ett diagnostiskt redskap. Saliv har en del uppenbara fördelar jämfört med blod i och med att det kan samlas upp icke-invasivt och upprepade gånger, av personal som inte behöver specialutbildning. Dessutom är det en kostnadseffektiv metod för screening av stora befolkningsgrupper. Den snabba utvecklingen inom OMIK-teknikerna ger nya möjligheter och ökar validiteten hos många av de nya biomarkörer som kan påvisas i saliv. Detta gör saliv till ett användbart redskap för tidig diagnos, övervakning av sjukdomsprogression och behandlingsutvärdering vid en lång rad orala sjukdomar och allmänsjukdomar. Det krävs dock ytterligare vetenskaplig validering av många av de påvisade biomarkörerna innan de kan användas i klinisk praxis.

ENGLISH SUMMARY

Saliva as a diagnostic tool – possibilities and limitations
Anne Marie Lynge Pedersen

Tandläkartidningen 2015; 107 (2): 66–72

Saliva has been for a long time considered an important diagnostic fluid. Unlike blood and other body fluids, the use of saliva for diagnostics offers an easy, inexpensive and painless method for early diagnosis, monitoring disease progression, and the effect of therapeutic intervention. However, the use of salivary diagnostics has been hindered by the lack of sensitive and specific methods, lack of correlation between biomolecules in blood and saliva, and circadian and flow dependent variations of saliva. Over the last decade, omic technologies have improved, especially with regard to genomics and proteomics but also metabolomics. Consequently, the use of salivary diagnostics in clinical settings is becoming a reality. The most significant landmark in salivary diagnostics has been to identify disease biomarkers and to transfer them from the laboratory to clinical practice. ●



"Monitorering av könshormoner ... i saliven används allmänt för bedömning av bland annat fertilitet, ägglossning, fostertillväxt ..."

Referenser

- Ekström J, Khosravani N, Castagnola M, Messana I. Saliva and the control of its secretion. In: Dysphagia. Ekberg O (ed). Springer Verlag Berlin Heidelberg 2012; p.19–40.
- Bardow A, Pedersen AML, Nauntofte B. Saliva. In: Miles TS, Nauntofte B, Svensson P (eds): Clinical oral physiology. Copenhagen: Quintessence Publishing Co Ltd. 2004, p.17–51.
- De Gruttola VG, Clax P, DeMets DL, Downing GJ, Ellenberg SS, Friedman L, Gail MH, Prentice R, Wittes J, Zeger SL. Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials. Summary of a National Institutes of Health workshop. Control Clin Trials 2001; 22: 485–502.
- Horgan RP, Kenny LC. SAC review βOmic' technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. The Obstetrician & Gynaecologist 2011; 13: 189–95.
- Veerman ECI, Vissink A, Wong DT, van Amerongen AN. Processing and storage of saliva samples. In: Wong DT (ed). Salivary diagnostics. Wiley-Blackwell 2008; p 69–76.
- Pedersen AM, Bardow A, Nauntofte B. Salivary changes and dental caries as potential oral markers of autoimmune salivary gland dysfunction in primary Sjögren's syndrome. BMC Clin Pathol 2005; 5(1): 4.
- Hansen GM, Holmstrup P, Tolker-Nielsen T, Kølsgaard T, Nielsen CH, Givskov M, Hansen PR. Mulig sammenhæng mellem marginal parodontitis og iskæmisk hjertesygdom. Ugeskr Læger 2014; 176: V01140065.
- Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. Periodontol 2009; 50: 52–64.
- Kinney JS, Ramseier CA, Giannobile WV. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. Oral-Based Diagnostics 2007; 1098: 230–51.
- Sexton WM, Lin YS, Kryscio RJ, Dawson DR, Ebersole JL, Miller CS. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. J Clin Periodontol 2011; 38: 434–41.
- Kinney JS, Morelli T, Braun T, Ramseier CA, Herr AE, Sugai JV, Shelburne CE, Rayburn LA, Singh AK, Giannobile WV. Saliva/ pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. J Dent Res 2011; 90: 752–8.
- Gursoy UK, Kononen E, Pussinen PJ, Tervahartiala T, Hyvärinen K, Suominen AL, Uitto VJ, Paju S, Sorsa T. Use of host- and bacteria-derived salivary markers in detection of periodontitis: A cumulative approach. Dis Markers 2011; 30: 299–305.
- Floriano PN, Christodoulides N, Miller CS, Ebersole JL, Spertus J, Rose BG, Kinane DF, Novak MJ, Steinhilb S, Acosta S, Mohanty S, Dharshan P, Yeh CK, Redding S, Furmaga W, McDevitt JT. Use of saliva-based nano-biochip tests for acute myocardial infarction at the point of care: A feasibility study. Clin Chem 2009; 55: 1530–8.
- Buduneli E, Mantyla P, Emingil G, Tervahartiala T, Pussinen P, Baris N, Akilli A, Atilla G, Sorsa T. Acute myocardial infarction is reflected in salivary matrix metalloproteinase-8 activation level. J Periodontol 2011; 82(5): 716–25. Erratum in: J Periodontol 2011; 82(8): 1219.
- Mirzaii-Dizgah I, Jafari-Sabet M. Unstimulated whole saliva creatine phosphokinase in acute myocardial infarction. Oral Dis 2011; 17: 597–600.
- Deschner J, Haak T, Jensen S, Kocher T, Mehnert H, Meyle J, Schumm-Draeger PM, Tschöpe D. Diabetes mellitus and periodontitis. Bidirectional relationship and clinical implications. A consensus document. Internist 2011; 52: 466–77.
- Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SLS, Grisi MFM, Novaes AB, Taba M. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8 and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. J Periodontol 2010; 81: 384–91.
- Rao PV, Reddy AP, Lu X, Dasari S, Krishnaprasad A, Biggs E, Roberts CT, Nagalla SR. Proteomic identification of salivary biomarkers of type-2 diabetes. J Proteome Res 2009; 8: 239–45.
- Cabras T, Pisano E, Mastinu A, Denotti G, Pascuddu PP, Inzirata R, Fanali C, Nemolato S, Castagnola M, Messana I. Alterations of the salivary secretory peptidome profile in children affected by type 1 diabetes. Mol Cell Proteomics 2010; 9: 2099–108.
- Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, Seymour GJ, Bigby M. The pathogenesis of oral lichen planus. Crit Rev Oral Biol Med 2002; 13(4): 350–65.
- Ghalla NA, el-Wakeel N, Shaker OG. Levels of salivary IFN-γ, TNF-α and TNF receptor-2 as prognostic markers in (erosive) oral lichen planus. Mediators Inflamm 2010; E-pub. doi:10.1155/2010/847632.
- Zhang Y, Lin M, Zhang S, Wang Z, Jiang L, Shen J, Bai J, Gao F, Zhou M, Chen Q. NF-κB-dependent cytokines in saliva and serum from patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese population. Cytokine 2008; 41(2): 144–9.
- Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Miller L, Ho V, Ondrey F. The feasibility of monitoring NF-κB associated cytokines: TNF-α, IL-1α, IL-6 and IL-8 in whole saliva for the malignant transformation of oral lichen planus. Mol Carcinog 2005; 44(2): 77–82.
- Chen YC, Li TY, Tsai MF. Analysis of the saliva from patients with oral cancer by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. Rapid Commun Sectrom 2002; 16: 364–9.
- St John MA, Li Y, Zhou X, Denny P, Ho CM, Montemagno C, Shi W, Qi F, Wu B, Sinha U, Jordan R, Wolinsky L, Park NH, Liu H, Abemayor E, Wong DT. Interleukin 6 and interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2004; 130(8): 929–35.
- Rhodus NL, Ho V, Miller CS, Myers S, Ondrey F. NF-κB dependent cytokine levels in saliva of patients with oral preneoplastic lesions and oral squamous cell carcinoma. Cancer Detect Prev 2005; 29(1): 42–5.
- Franzmann EJ, Reategui EP, Pedrosa F, Pernas FG, Karakullukcu BM, Carraway KL, Hamilton K, Singal R, Goodwin WJ. Soluble CD44 is a potential marker for the early detection of head and neck cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007; 16(7): 1348–55.
- Mizukawa N, Sugiyama K, Fukunaga J, Ueno T, Mishima K, Takagi S, Sugahara T. Defensin-1, a peptide detected in the saliva of oral squamous cell carcinoma patients. Anticancer Res 1998; 18(6B): 4645–9.
- Shpitzer T, Hamzany Y, Bahar G, Feinmesser R, Savulescu D, Borovoi I, Gavish M, Nagler RM. Salivary analysis of oral cancer biomarkers. Br J Cancer 2009 6; 101(7): 1194–8.
- Brailo V, Vucicevic-Boras V, Cekic-Arambasin A, Alajbeg IZ, Milenović A, Lukac J. The significance of salivary interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with oral leukoplakia. Oral Oncol 2006; 42(4): 370–3.
- Li Y, St John MA, Zhou X, Kim Y, Sinha U, Jordan RC, Eisele D, Abemayor E, Elashoff D, Park NH, Wong DT. Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. Clin Cancer Res 2004 15; 10(24): 8442–50.
- Brinkmann O, Kastratovic DA, Dimitrijevic MV, Konstantinovic VS, Jelovac DB, Antic J, Nesic VS, Markovic SZ, Martinovic ZR, Akin D, Spielmann N, Zhou H, Wong DT. Oral squamous cell carcinoma detection by salivary biomarkers in a serbian



”Storleken på ett läkemedelsintag kan också bestämmas i saliv ...”





Referenser

- population. *Oral Oncol* 2011; 47(1): 51–5. Epub 2010 Nov 24.
33. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis* 2011; 17: 345–54.
 34. Park NJ, Zhou H, Elashoff D, Henson BS, Kastratovic DA, Abemayor E, Wong DT. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5473–7.
 35. Stott-Miller M, Houck J, Lohavanichbutr P, Mendez E, Upton M, Futran N, Schwartz SM, Chen C. Tumor and salivary matrix metalloproteinase levels are strong diagnostic markers of oral squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011 Sep 29 [Epub ahead of print].
 36. Chen DX, Schwartz PE, Li FQ. Saliva and serum CA 125 assays for detecting malignant ovarian tumors. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 701–4.
 37. Navarro MA, Mesia R, Diez-Gilbert O, Rueda A, Ojeda B, Alonso MA. Epidermal growth factor in plasma and saliva of patients with active breast cancer and breast cancer patients in follow-up compared with healthy women. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 42: 83–6.
 38. Streckfus C, Bigler L. The use of soluble, salivary c-erbB-2 for the detection and post-operative follow-up of breast cancer in women: the results of a five-year translational research study. *Adv Dent Res* 2005; 18(1): 17–24.
 39. Zhang L, Xiao H, Karlan S, Zhou H, Gross J, Elashoff D, Akin D, Yan X, Chia D, Karlan B, Wong DT. Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non-invasive detection of breast cancer. *PLoS One* 2010 31; 5(12): e15573.
 40. Zhang L, Farrell JJ, Zhou H, Elashoff D, Akin D, Park NH, Chia D, Wong DT. *Gastroenterology* 2010; 138(3): 949–57.
 41. Tamashiro H, Constantine NT. Serological diagnosis of HIV infection using oral fluid samples. *Bull World Health Organ* 1994; 72: 135–43.
 42. Emmons W. Accuracy of oral specimen testing for human immunodeficiency virus. *Am J Med* 1997; 102: 15–20.
 43. Malamud D. Oral diagnostic testing for detecting human immunodeficiency virus-1 antibodies: a technology whose time has come. *Am J Med* 1997; 102: 9–14.
 44. Ochnio JJ, Scheifele DW, Ho M, Mitchell LA. New, ultrasensitive enzyme immunoassay for detecting vaccine- and disease-induced hepatitis A virus-specific immunoglobulin G in saliva. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 98–101.
 45. Thieme T, Yoshihara P, Piacentini S, Beller M. Clinical evaluation of oral fluid samples for diagnosis of viral hepatitis. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1076–9.
 46. Perry KR, Brown DW, Parry JV, Panday S, Pipkin C, Richards A. Detection of measles, mumps, and rubella antibodies in saliva using antibody capture radioimmunoassay. *J Med Virol* 1993; 40: 235–40.
 47. Brown DW, Ramsay ME, Richards AF, Miller E. Salivary diagnosis of measles: a study of notified cases in the United Kingdom, 1991–3. *BMJ* 1994; 308: 1015–7.
 48. Thieme T, Piacentini S, Davidson S, Steingart K. Determination of measles, mumps, and rubella immunization status using oral fluid samples. *JAMA* 1994; 272: 219–21.
 49. Pedersen AM, Nauntofte B. Primary Sjögren's syndrome: oral aspects on pathogenesis, diagnostic criteria, clinical features and approaches for therapy. *Expert Opin Pharmacother* 2001; 2: 1415–36.
 50. Kalk WWI, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Nieuw Amerongen AV, Kallenberg CGM. Sialometry and sialochemistry: a non-invasive approach for diagnosing Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 137–44.
 51. Pedersen AM, Bardow A, Nauntofte B. Salivary changes and dental caries as potential oral markers of autoimmune salivary gland dysfunction in primary Sjögren's syndrome. *BMC Clin Pathol* 2005; 1: 4.
 52. Asatsuma M, Ito S, Watanabe M, Takeishi H, Nomura S, Wada Y, Nakano M, Gejyo F, Igarashi A. Increase in the ratio of matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in saliva from patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Chim Acta* 2004; 345: 99–104.
 53. Boras VV, Cikes N, Lukac J, Cekic-Arambasin A, Virag M, Bosnjak A. The significance of salivary and serum interleukin 6 and basic fibroblast growth factor levels in patients with Sjögren's syndrome. *Coll Antropol* 2004; 28 Suppl 2: 305–9.
 54. Hu S, Wang J, Meijer JM, leong S, Xie Y, Yu T, Zhou H, Henry S, Vissink A, Pijpe J, Kallenberg CG, Elashoff D, Loo JA, Wong DT. Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2007; 56(11): 3588–3600.
 55. Hu S, Gao K, Pollard R, Arellano M, Zhou H, Zhang L, Elashoff D, Kallenberg CG, Vissink A, Wong DT. Preclinical validation of salivary biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010a; 62(11): 1633–8.
 56. Hu S, Vissink A, Arellano M, Kallenberg CG, Wong DT. Identification of autoantibody biomarkers for primary Sjögren's syndrome using protein microarrays. *Proteomics* 2010b; 11(8): 1499–507.
 57. Törnåge CJ. Salivary cortisol for assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Neuroimmunomodulation* 2009; 16(5): 284–9.
 58. Oh J-A, Shin H-S. Rapid determination of natural steroid hormones in saliva for the clinical diagnoses. *Chemistry Central Journal* 2012; 6: 22.
 59. Garg U, Presley L. Role of saliva in detection of substance abuse. In: Wong DT (ed) *Salivary diagnostics*. Wiley-Blackwell 2008; p 169–79.



”Det krävs dock ytterligare vetenskaplig validering av många av de påvisade biomarkörerna innan de kan användas i klinisk praxis.”



Social?

Följ Tandläkartidningen på Facebook, Twitter och Instagram