

FÖRFATTARE: se nedan

Saliv

Status och möjligheter

© Ny kunskap om salivens funktioner samt nya molekylärbiologiska teknologier har skapat möjligheter att i högre grad än tidigare kunna utnyttja saliv för att skilja mellan sjukt och friskt. I den odontologiska kliniken kan saliv användas för upptäckt och övervakning samt förebyggande av sjukdom, diagnostik, behandling och prognos.

De nya kunskaperna inom området handlar bland annat om salivens skyddande funktion mot karies och erosionsskador, Sjögrens syndrom samt möjligheterna att identifiera biomarkörer i saliv. Några av de nya forskningsområdena, till exempel salivens effekt på tänder och slemhinnor, har i första hand odontologisk betydelse medan andra är av mer generell karaktär.

ANJA WEIRSØE DYNESEN, PhD-stipendiat, cand odont och cand scient i näringslära, avdelningen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Odontologiska institutet, Det sundhelsesvidenskabelige fakultet, Köpenhamns universitet, Köpenhamn, Danmark

SIRI BEIER JENSEN, PhD-stipendiat, tandläkare, avdelningen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Odontologiska institutet, Det sundhelsesvidenskabelige fakultet, Köpenhamns universitet, Köpenhamn, Danmark

LARS HOLTEN-ANDERSEN, PhD-stipendiat, cand scient, avdelningen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Odontologiska institutet, Det sundhelsesvidenskabelige fakultet, Köpenhamns universitet, Köpenhamn, Danmark

THORBJÖRG JENSÐÓTTIR, företags-PhD-stipendiat, MSc (nutrition) avdelningen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Odontologiska institutet, Det sundhelsesvidenskabelige fakultet, Köpenhamns universitet, Köpenhamn, Danmark, TOMS-gruppen A/S

ANNE MARIE LYNGE PEDERSEN, lektor, tandläkare, PhD, avdelningen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Odontologiska institutet, Det sundhelsesvidenskabelige fakultet, Köpenhamns universitet, Köpenhamn, Danmark

ALLAN BARDOW, adjunkt, tandläkare, PhD, avdelningen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Odontologiska institutet, Det sundhelsesvidenskabelige fakultet, Köpenhamns universitet, Köpenhamn, Danmark

BIRGITTE NAUNTOFTE, professor, tandläkare, dr odont, avdelningen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Odontologiska institutet, Det sundhelsesvidenskabelige fakultet, Köpenhamns universitet, Köpenhamn, Danmark

REFERENTGRANSKAD. ACCEPTERAD FÖR PUBLICERING 29 OKTOBER 2005

Saliven är en väsentlig skyddande faktor för tänder och slemhinnor. Patienter med nedsatt salivsekretion har ökad risk för sjukdom i munhålan; till exempel karies, erosion och slitage på tänder samt svamp och sår. Dessutom kan muntorrhet försämra patientens livskvalitet betydligt.

Trots att många systemiska sjukdomar och deras behandling orsakar reduktion i den salivmängd som tillförs munhålan ses de mest uttalade spottkörteldysfunktionerna och de orala konsekvenserna hos patienter med primärt Sjögrens syndrom, hos patienter som fått strålbehandling i huvud-halsregionen samt hos patienter som tar medicin som interfererar med spottkörtlarnas sekretionsprocesser.

I den odontologiska kliniken har förebyggande av följdtilstånd i munhålan i samband med nedsatt salivsekretion hög prioritet. Den symtomlindrande behandling som i dag kan erbjudas muntorra patienter är vanligtvis lokal. Systemisk farmakologisk behandling med så kallade sekretagoger (exempelvis pilokarpin (Salagen), en icke-specifik muskarinagonist med svag beta-adrenerg agonistaktivitet och det mera specifika Cevimelin, som specifikt aktiverar M3-receptorer) används mer sällan [1].

I laboratoriet för oral fysiologi vid Odontologiska institutet har vi de senaste åren haft fokus på forskning om spottkörtelfunktion och saliv samt dess betydelse både under normala och patofysiologiska förhållanden. Vårt område täcker grundforskningsmässiga aspekter av salivens bildande, translationell forskning där den kunskapen överförs till den kliniska vardagen och slutligen klinisk forskning på bestämda patientgrupper. Detta forskningsfält (som inbegriper spottkörtelfunktionen) genomgår en snabb utveckling. Vi har valt att presentera utdrag ur några av de forskningsteman inom salivforskningen som är aktuella just nu. Vi redogör för status (vad vi vet) och de framtida möjligheter området erbjuder. Vi tittar i synnerhet på saliv och tänder (karies och erosion), spottkörtelfunktion och saliv hos patienter med cancer och Sjögrens syndrom samt markörer i saliv – biokemiska, cellulära och genetiska – när det gäller mottaglighet och progression av sjukdomar och behandlingseffektivitet.

Spottkörtlarna och nya biologiska behandlingsmetoder

Att man genom kanylering av den stora exkretoriska utförsången på de stora spottkörtlarna lätt kan komma åt spottkörtlarna gör dem lämpliga som målorgan för nya behandlingsmetoder som baseras på retrograd infusion av läkemedel. Dessutom har spottkörtlarna både exokrin sekretion via utförsångssystemet för saliven och endokrin sekretion av proteiner till blodbanan. Den riktning som proteinerna utsöndras i till saliven och/eller blodet beror på aktivering av bestämda signalproteiner i spottkörtelcellen. Denna

dubbelfunktion gör spottkörtlarna till intressanta organ för genterapi för behandling av orala och systemiska sjukdomar men inte minst för sjukdomar som kan relateras till felfunktion i en enskild gen.

Vid genterapi i spottkörtlar tillförs en gen som kan få spottkörtelcellerna att producera den transplanterade genens proteinprodukter på normalt fysiologiskt sätt: det vill säga att patienterna kan fås att syntetisera och utsöndra proteiner som de i utgångsläget saknar. Sekretionsvägen styrs av bestämda signalproteiner. Ett av de största problemen är dock att kontrollera uttrycket av den transplanterade genen när den väl är på plats i cellen. Denna kontroll är avgörande när det gäller att säkerställa att den transplanterade genen inte ”släcks” eller att det sker en överproduktion som genen kodar för. Förutom att det ställs krav på att generna ska ha långtidsuttryck efter leveransen ska genmaterialet också överföras med en vektor – ett virus – som endast får ge upphov till minimala immunsvaret hos värden om behandlingen ska fungera.

De första vetenskapliga rapporterna om överföring av DNA till spottkörtlar kom i mitten av 1990-talet. Sedan dess har man utfört lyckade djurexperimentella studier med genterapi [2, 3]. Principiellt sett har denna terapiform också potential hos människan.

Även den regenerativa medicinen har gjort sitt intåg inom spottkörtelområdet. Det är en behandlingsform med stor potential även om det också här är lång väg kvar till kliniska tester på människor. Många forskare har riktat uppmärksamheten mot utveckling av behandlingsformer där man kan skapa ”vävnad” som ska kunna ersätta dysfunktionella vävnader så att funktionen biologiskt sett kan återupprättas. Stamcellsterapi, där ospecialiserade grundceller (antingen embryonala eller vuxna från en utvecklad organism) styrs till att utvecklas till spottkörtelceller är en behandlingsform som kan ha relevans inom spottkörtelområdet. Målet är att friska celler som utvecklats från stamceller ska ersätta de sjuka eller defekta cellerna och överta deras funktion.

Saliv och karies

Det är väl känt att karies är förlust av hård tandvävnad till följd av bakteriell syraproduktion i tandbeläggningar och att saliven är en betydande faktor för denna process [4]. Således ses väsentligt ökad kariesaktivitet hos individer där spottkörtlarna tas bort [5]. De egenskaper hos saliven som påverkar kariesutvecklingen omfattar bland annat den orala clearance, salivens mättnadsgrad när det gäller hydroxylapatit samt dess betydelse för sammansättningen av den orala mikrofloran.

Den tid det tar att avlägsna ett födoämne från munhålan beror hos den enskilda individen på sa-

livens sekretionshastighet och sväljningsfrekvensen [6]. När salivens sekretionshastighet minskas tar det längre tid att skölja ut födoämnet från munhålan. Vid en ostimulerad sekretionshastighet på 0,1 ml/min (cut off-värdet för diagnosen hyposalivation) kan det ta nästan fem gånger längre tid att skölja ut en given mängd socker från munhålan än vid en normal ostimulerad sekretionshastighet på omkring 0,5 ml/min [7]. En minskning av den orala clearance ökar naturligtvis den tid det tar att skölja bort syra från tandbeläggningar. Den surare miljön som uppstår i den dentala placken framkallar ett ekologiskt byte till fördel för syraproducerande och syratolerande bakteriestammar [8]. Konsekvensen blir att patienter med nedsatt sekretionshastighet (speciellt patienter med hyposalivation) utvecklar karies snabbare än individer med normal sekretion [9–12]. Forskarna är dock ännu inte eniga om hur mycket saliv som behövs för att undvika en snabb kariesutveckling, men teoretiska beräkningar har visat att den orala clearance är väsentligt nedsatt redan när den ostimulerade sekretionshastigheten är mindre än 0,2 ml/min [7]. Kliniska studier har alltså bekräftat att kariesutvecklingen ökat hos individer med ostimulerade salivsekretionshastigheter under detta värde [13, 14].

Karies är en konsekvens av en pH-inducerad undermättnad av hydroxylapatit i plackens vätskefas. De direkta effekterna av saliv med den mättnadsgraden i den orala miljön kan delas upp i 1) salivens förmåga att bevara ett tandvänligt pH i munhålan via sin bufferkapacitet och 2) salivens förmåga att bevara övermättnad via innehållet av kalcium och fosfat [15]. När det gäller den första punkten har man visat att individer med en hög bufferkapacitet är bättre skyddade mot utveckling av karies än individer med låg bufferkapacitet [16]. Bufferkapaciteten i saliv är emellertid så nära korrelerad med den hastighet som saliven bildas med [17] att det från klinisk synvinkel är diskutabelt om mätningar av bufferkapaciteten kan bidra med ytterligare väsentlig information för bedömning av en patients kariesrisk utöver vad som kan fastställas med enkel sialometri.

När det gäller salivens innehåll av kalcium och fosfat har några studier visat att speciellt ett högt fosfat innehåll tycks ha en skyddande effekt mot karies [18, 19]. Men i den samlade litteraturen är dessa sammanhang långt ifrån entydiga. En bidragande orsak är att salivens innehåll av kalcium och fosfat inte är konstant hos de enskilda individerna [20]. En jämförelse av salivens innehåll av kalcium och fosfat med en given kariesförekomst försvåras därför om salivens sammansättning inte är parallell med kariesutvecklingen.

Utöver effekten av sekretionshastigheten har salivens organiska sammansättning betydelse för mikrofloran i den dentala placken eftersom saliven innehåller peptider och proteiner som både specifikt och

ospecifikt kan påverka de mikrobiella tillväxtbetingelserna [20, 21]. En stor del av salivens proteiner ingår i bildandet av det proteinlager som bekläder tandytorna [23]. Proteinsammansättningen i pelliceln har betydelse för vilka bakterier som initialt koloniserar tandytan och det är därför möjligt att salivens proteinsammansättning via pelliceln har betydelse för kariesutvecklingen. Kliniska studier antyder att vissa av salivens proteiner kan ha betydelse för kariesutveckling [19, 24].

Området där salivens biokemi och fysiologi samt kariologin möts är ur forskningssynpunkt fortfarande i sin linda men kommer otvivelaktigt att ge oss ny insikt särskilt om riskbedömning för karies på individnivå.

Saliv och erosion

Erosion (förlusten av hård tandvävnad till följd av en kemisk process utan inblandning av mikroorganismer [25]) är som bekant en vanlig biverkning i samband med för högt intag av sura födoämnen (exogen syrapåverkan), läskedrycker, godis och sura frukter samt vid endogen syrapåverkan på grund av reflux eller självframkallad uppkastning hos personer med åttörningar. Dessutom tyder de senaste undersökningarna på att förekomsten av erosion ökar bland barn och ungdomar [26, 27]. Salivens betydelse för erosionsprocessen kan relateras till 1) salivsekretionshastighetens effekt på den orala clearance av syra, 2) salivens mättnadsgrad av hydroxylapatit och 3) salivens proteiner.

I samband med erosion är salivens förmåga till clearance av syra av avgörande betydelse eftersom bortförandet av syran från munhålan är avgörande för återupprättandet av en miljö som är övermättad av hydroxylapatit [28]. Både regionala skillnader i clearancehastigheten [29] och orsaken till syrapåverkan (endogen/exogen) [30] kan bidra till att förklara intraorala variationer i erosionsförekomst.

Generellt kan man säga att risken för erosion är fem gånger större hos patienter med hyposalivation med ett ostimulerat salivflöde som är mindre än 0,1 ml/min jämfört med individer med normal sekretionshastighet [31]. Många muntorra personer med låg sekretionshastighet försöker ofta lindra känslan av muntorrhet genom att äta syrligt godis [32] och ökar då risken för erosion ytterligare.

Utöver salivens förmåga att transportera bort syra är dess bufferkapacitet också viktig för att motverka syrans erosiva effekt på tandsubstansen. Det är speciellt salivens innehåll av bikarbonat som är av betydelse [33]. Däremot har mängden kalcium och fosfat i saliven inte någon skyddande effekt vid de mycket sura pH-värden där erosioner i tanduppsättningen utvecklas [31, 33].

Nyligen har det kommit ny kunskap som visat på salivproteinernas förmåga att via pellikelbildningen utöva en skyddande verkan mot de syraangrepp tänderna hela tiden exponeras för. En tjock pellikel skyddar bättre än en tunn [34] men tandytorna skyddas endast mot syraangrepp i några få minuter [35, 36]. Sedan måste pellikeln förnyas med färska proteiner från saliven [37, 38]. Detta kan kanske förklara varför upprepade exponeringar för sura läskedrycker är en väsentlig riskfaktor.

Mer kunskap om dynamiken mellan tändernas demineralisering på grund av syraexponering och salivens mängd och innehåll är önskvärd och fordrar en tvärvetenskaplig forskningsinsats mellan kliniker och experter med djup insikt i oorganisk kemi, inte minst proteinkemi.

Saliv och Sjögrens syndrom

Sjögrens syndrom (ss) är en autoimmun bindvävsjukdom som karaktäriseras av närvaro av lymfocytära infiltrat i de exokrina körtlarna. Huvudsakligen tår- och spottkörtlar påverkas och nedsatt tår- och salivsekretion relateras till en tilltagande lymfocytförmedlad nedbrytning av körtelparenkymet [39]. Symtomen vid ss domineras av den exokrina dysfunktionen men också icke-exokrina sjukdomsmanifestationer är vanligt förekommande [40]. ss kan uppträda som en primär, självständig sjukdom, primärt ss, eller sekundärt till andra inflammatoriska reumatiska sjukdomar, oftast reumatoid artrit, sekundärt ss) [41]. 90 procent av patienterna är kvinnor. Sjukdomen kan förekomma i alla åldersgrupper, men diagnostiseras oftast i 40–50-årsåldern. Enligt en svensk epidemiologisk undersökning förekommer primärt ss med en prevalens på cirka 3 procent [42]. Orsaken till sjukdomen är inte känd men antas vara multifaktoriell [43].

Man har ännu inte kunnat påvisa sjukdomsspecifika kliniska eller laboratoriemässiga markörer för ss. Diagnosen baseras i stället på en kombination av frågor om ögon- och muntorrhet, kliniska test av tår- och spottkörtelfunktionen, läppspottkörtelbiopsi samt serologisk undersökning av serumautoantikropparna anti-SSA/-SSB [44]. De histopatologiska förändringarna i läppspottkörtelvävnaden viktas högt i klassifikationskriterier för ss. De karaktäriseras av närvaro av fokala, inflammatoriska infiltrat (huvudsakligen lymfocyter) som är organiserade kring utförgångarna [45].

Flera nyare studier tyder på att den nedsatta exokrina funktionen hos patienter med ss snarare beror på störningar i den neurogena regleringen än på nedbrytningen av de exokrina körtlarnas parenkym [43, 46]. Antagande underbyggs av att graden av lymfocytär infiltration i läppspottkörtlarna i flera

fall inte stämmer överens med graden av nedsatt salivsekretion [47] och att man i läppspottkörtelbiopsier har funnit skenbart morfologiskt intakta sekretoriska ändstycken (*acini*) och utförgångar i utkanten av de lymfocytära infiltraten trots att dessa patienter har betydligt nedsatt salivsekretion [48]. Dessutom har immunhistokemiska undersökningar av läppspottkörtelvävnad från patienter med primärt ss visat brist på immunreaktiva nervfibrer i centrala områden av stora lymfocytära infiltrat medan det i utkanten av infiltraten finns samma rikliga innervation som hos friska kontrollpersoner [49]. Resultaten indikerar att glandulär atrofi och inflammation snarare är en följd av funktionell hämning av den nervösa kontrollen av spottkörtlarna än själva orsaken till densamma [49]. I vårt *in vitro*-modellsystem har vi tidigare visat att spottkörtelceller från patienter med primärt ss som *in vivo* inte utsöndrar saliv har funktionella receptorer för neurotransmittorer/neuropeptider [49]. Våra fynd är även förenliga med en kompensatorisk ökning av antalet muskarinerga receptorer på acinuscellernas ytmembran eller ökad känslighet för acetylkolin jämfört med spottkörtelvävnad från kontrollpersoner [49]. En nyare immunhistokemisk studie har visat en uppreglering i antalet muskarinerga M₃-receptorer på läppspottkörtelacini hos patienter med primärt ss [50]. I en dosresponsstudie på spottkörtelacini från patienter med primärt ss var dock känsligheten för acetylkolin reducerad [51]. Andra undersökningsresultat antyder att salivsekretionen hos patienter med primärt ss är hämmad på grund av att cirkulerande autoantikroppar blockerar de muskarinerga M₃-receptorerna på spott- och tårkörtelcellernas ytmembran [52, 53]. Betydelsen av autoantikroppar för ss stöds ytterligare av att man har visat på förekomsten av anti-SSA- och -SSB-antikroppproducerande celler i läppspottkörtlar hos patienter med primärt ss med cirkulerande antikroppar [54].

Vid diagnostik av ss används dessutom mätning av den ostimulerade helsalivsekretionshastigheten ("avloppsmetoden"). Ett värde på $\leq 1,5$ ml/15 min anses vara förenligt med hyposalivation [13]. Testet har visat hög upprepbarhet [55] och relativt hög diagnostisk specificitet (60–81 %) för primärt ss [56]. Känsligheten varierar från 46 till 82 procent [55]. Mätning av den tuggstimulerade helsalivsekretionshastigheten (som anses patologiskt låg vid värden på $\leq 3,5$ ml/5 min) har relativt låg diagnostisk känslighet (66 %) och specificitet (56 %), och ingår inte i klassifikationskriterierna [57]. Detta test är dock ofta användbart i bedömningen av spottkörtlarnas funktionella kapacitet hos enskilda patienter och i den fortlöpande kontrollen av sjukdomsutvecklingen. Man har visat att patienter med primärt ss med en ostimulerad helsalivsekretion på $< 0,05$ ml/min har en mer uttalad upplevelse av mun- och ögontorrhet,

större grad av lymfocytär infiltration i läppspottkörtlarna och förekomst av serumautoantikroppar, fler systemiska sjukdomsmanifestationer samt i högre grad uppfattar sig ha sämre hälsa jämfört med patienter med helsalivsekretion över 0,05 ml/min [58]. Selektiv mätning av salivproduktionen från *gl. parotis* och/eller *gl. submandibularis/gl. sublingualis* ingår inte i rutindiagnostiken av ss men används i ökande utsträckning med syfte på selektiv sialokemi. Mätning av den stimulerade parotissekretionen har en diagnostisk känslighet på 47–63 procent [56]. Mätning av den stimulerade salivsekretionen från *gl. submandibularis/gl. sublingualis* antas vara lämpligare för tidig diagnostik av ss jämfört med mätning av parotissekretionen [59].

Sialokemi ingår ännu inte i rutindiagnostiken av ss men flera undersökningar tyder på att salivens sammansättning speglar den inflammatoriska autoimmuna processen i spottkörtelvävnaden [59, 60]. Sialokemiska undersökningar har visat att patienter med primärt ss har högre koncentrationer av natrium och klorid men låga koncentrationer av fosfat i helsaliv, parotissaliv och saliv från *gl. submandibularis/gl. sublingualis* trots låga sekretionshastigheter [59, 60]. Fynden antas visa på dysfunktion i de dukkala cellernas förmåga att reabsorbera salter. Dysfunktionen kan bero på ändrade signaleringsmekanismer och/eller ändrad förekomst av involverade transportproteiner [60].

De högsta saltkoncentrationerna i hel- och parotissaliv har man funnit hos de patienter med primärt ss som har serumautoantikroppar och uttalad inflammation i läppspottkörtelvävnaden, lägsta salivsekretionshastigheterna och högsta DMFS-tal jämfört med patienter med normala saltkoncentrationer i saliven [60]. Dessa kvantitativa och kvalitativa förändringar i saliven samt DMFS-talen antas vara användbara som potentiella markörer för graden av autoimmunmedierad spottkörteldysfunktion hos patienter med primärt ss [60]. Det har dessutom visats att patienter med primärt ss har lägre hel- och parotissekretion, högre DMFS-tal, lägre pH och lägre bufferkapacitet i saliven än friska kontrollpersoner [60].

Sialokemiska fynd tyder på att den acinära funktionen är intakt. Man har alltså inte kunnat påvisa avvikelser i koncentrationerna av kalium, totalt kalcium, totalt protein och amylasaktiviteten i hel- och parotissaliv eller i koncentrationen av prolinrika proteiner och staterin i stimulerad parotissaliv jämfört med friska kontrollpersoner. Detta tyder på att de funktionella acini som finns kvar kan bilda och utskilja en primärsaliv med normal sammansättning trots den lymfocytära infiltrationen och de strukturella förändringarna i spottkörtelvävnaden [60–62]. Det har visats att den proteolytiska aktiviteten av matrixmetalloproteinaser som riktas mot extracellulär matrix har ökat i läppspottkörtlar hos ss-pa-

tienter. Det antas medföra strukturella förändringar i körtelvävnaden och ändringar i kvantiteten och kvaliteten hos muciner som bildas och utskiljs från dessa körtlar [63]. Brist på muciner kan bidra till att förklara den uttalade muntorrhets känslan hos ss-patienter särskilt i de tidiga sjukdomsstadierna där *gl. submandibularis/gl. sublingualis* är mer påverkade än de serösa spottkörtlarna [59]. Metalloproteinaser MMP-9 och dess viktigaste hämmare TIMP-1 i saliven har rapporterats förhöjd hos ss-patienter jämfört med friska kontrollpersoner men man har inte kartlagt relationen till symtomens intensitet och sjukdomslängden [64]. En rad cytokiner har också jämförts mellan ss-patienter och andra populationer och man har funnit interleukin-10 och interleukin-6 i förhöjda koncentrationer i saliv hos patienter med ss jämfört med friska kontrollpersoner. IL-6 har visats vara korrelerat till både mun- och ögontorrhet [65].

Kvantitativa och kvalitativa undersökningar av salivsekretionen har väsentlig betydelse för förståelsen för de patofysiologiska mekanismerna hos ss och därmed betydelse för avgränsningen av orsaksförhållande och nya interventionsmöjligheter.

Man ser en ökad användning av glandulär sialometri (från *gl. parotis* och *gl. submandibularis/gl. sublingualis*) och sialokemi. Dessa tycks ha högre specificitet och sensitivitet än helsalivanalyser. De är därför användbara som diagnostiska redskap och kan ersätta mer invasiva diagnostiska test. Dessutom tycks både glandulär sialometri och sialokemi vara lämpliga för monitorering av sjukdomsaktivitet och sjukdomsprogression.

Cancerbehandling och påverkan på spottkörtelfunktionen

Hypofunktion hos spottkörtlarna och ändrad salivsammansättning som ett resultat av en behandling är relativt vanliga följdtilstånd hos cancerpatienter, speciellt efter strålbehandling i huvud-halsregionen, men också hos patienter som är under behandling eller har behandlats med kemoterapi [66].

Strålbehandling i huvud-halsregionen

Vid strålbehandling mot huvud-halscancer ligger en eller flera av spottkörtlarna ofta i strålfältet. Generellt bestrålas tumörer inom en radie av 2 cm från tumörvävnaden med en total stråldos på 45–70 gray (Gy, 1 Gy=100 rad) fördelad på dagliga doser på 2,0 Gy i 5–6 dagar i veckan i 5–7 veckor.

Med moderna strålarapparater och planeringsutrustning (skannrar och datorer för planering av strålfält och stråldoser) träffas tumören med stor precision samtidigt som strålfältet blir så litet som möjligt. På så sätt kan man minimera biverkningarna på den

normala vävnaden [67]. Oftast används en teknik som gör att de kontralaterala spottkörtlarna inte bestrålas i samma grad som de ipsilaterala. Joniserande strålning framkallar celldöd genom att skada DNA direkt (genom jonisering eller excitering) eller indirekt (genom att bilda fria radikaler som kan skada DNA). Vävnad med snabb tillväxt, som tumörvävnad, är mest strålkänslig. Spottkörtelceller är högt specialiserade med långsam celldelning. Trots den långsamma celldelningen är spottkörtelceller överraskande känsliga för joniserande strålning och de serösa acinuscellerna är mer strålkänsliga än de mukösa. Graden av biverkningar som nedsatt salivsekretionshastighet och känsla av muntorrhet beror på hur stort strålfältet varit och hur mycket spottkörtelvävnad som har blivit bestrålat samt inte minst den totala stråldos som vävnaden fått. Akuta histopatologiska förändringar är infiltration av inflammationsceller samt degeneration, fibros och nekros av spottkörtelvävnaden. Förändringarna sker i huvudsak hos de serösa celltyperna. Duktusvävnaden är morfologiskt sett relativt opåverkad med utvidgning av insticksbitar och interlobulär duktusvävnad [68]. Hypofunktionen hos spottkörtelvävnaden anses vara ett reversibelt tillstånd vid doser på 30–50 Gy medan högre doser ofta orsakar irreversibla förändringar. Sådana histopatologiska långtidseffekter är bland annat nedbrytande och irreversibla förändringar i körtelvävnaden som framskrider i månader efter avslutad strålbehandling och omfattar nedbrytning av serösa acinusceller, inflammatorisk cellinfiltration, utvidgning av duktus, fibros, fettavlagringar och atrofi [69].

Strålningens akuta påverkan på spottkörtlarna är en drastisk nedgång i salivsekretionen under den första veckan av behandlingen som sedan pågår under hela behandlingsperioden [70]. Den initiala nedsättning av salivsekretionen följs ofta av en kortvarig återställning av körtelfunktionen som dock avtar kraftigt igen och förblir låg eller upphör helt vid höga stråldoser [71]. Salivens pH och bufferkapacitet blir lägre eftersom både bikarbonat- och fosfatkoncentrationerna minskas [72]. Däremot har det visats att koncentrationerna av natrium och klorid hos patienter som fått stora stråldoser stiger i både helsaliv, parotissaliv och submandibulär/sublingual saliv vilket tyder på att det sipprar ut interstitialvätska från den skadade körteln till saliven och/eller på en skada på duktscellernas reabsorptionsmekanismer [73]. Dessutom ses förändringar i salivens koncentrationer av proteiner [74] och viskositeten ökar [75].

Läkarvetenskapen har förbättrat sina resultat när det gäller patientöverlevnad efter cancer i huvudhalsregionen under senare år. Samtidigt har man satt stort fokus på att minska biverkningar av strålbehandling på spottkörtlarna så att patienternas tand- och munhälsa påverkas så lite som

möjligt. Därmed kommer problemen med muntorrhet, inklusive ät- och talbesvär, att minska i framtiden. Uppmärksamheten på behovet av odontologisk intervention både före och efter behandlingen samt möjligheten att få ekonomiskt stöd från det offentliga till förebyggande åtgärder och tandbehandling har också skärpts. Resultaten av forskningen på fältet har redan bidragit stort till patienternas livskvalitet.

Kemoterapi

Kemoterapi verkar primärt på celler med snabb celldelning. Det betyder att kemoterapeutika inte enbart påverkar maligna tumörceller utan också normala celler med snabb celldelning (exempelvis benmärg, slemhinneepitel och hårfolliklar). Detta medför ofta biverkningar beroende på både dos och längd på terapin. Det kan emellertid också uppstå biverkningar på celler med långsammare proliferationshastighet till exempelvis spottkörtelvävnad. De flesta kemoterapeutika inverkar på celler i delningsfasen av cellcykeln eller på cellernas ämnesomsättning.

Flera undersökningar har visat att kemoterapi kan medföra akuta förändringar i spottkörtelfunktionen under behandlingen. Det är dock svårt att dra slutsatser eftersom undersökningarna sällan är jämförbara på grund av olika cancer typer, kemoterapeutika och doser samt undersökningsmetoder. Histopatologiskt har det bland annat påvisats utvidgning av duktus och degeneration av acini i de små spottkörtlarna [76].

Några undersökningar har visat att salivens sekretionshastighet minskar under behandling med kemoterapi [77]. Andra undersökningar har visat oförändrad sekretionshastighet [78]. Det är emellertid vitt skilda cancerdiagnoser och kemoterapeutika som ligger till grund för respektive undersökning. Den nedsatta sekretionshastigheten de första dagarna efter kemoterapin kan dock delvis tillskrivas den behandling mot kräkning som ordineras vid kemoterapin och som ofta har en antikolinerg verkan [79]. Kemoterapi medför dessutom en systemisk immunosuppression. Orala humoral försvarsmekanismer som salivens koncentration av immunoglobuliner (speciellt sekretorisk IgA) kan därför vara markant nedsatta under behandlingen [77] vilket kan öka risken för infektioner i munhålan. Andra har dock visat att sekretionshastigheterna av sekretorisk IgA och sekretorisk IgM från spottkörtlarna är oförändrade under kemoterapi [80]. Även förändringar i salivens elektrolytsammansättning har observerats under kemoterapi. Salivens bufferkapacitet faller signifikant (troligen på grund av en nedsatt sekretion av bikarbonat) [78] och det har visats att även salivens pH är lägre [81]. Det är ännu inte klarlagt om saltkoncentrationerna i saliven ändras på grund av för-

ändringar i primärsaliven. Det har rapporterats om nedsatt natriumkoncentration i saliv från *gl. parotis* [82] medan det har funnits en ökad koncentration av natrium i helsaliv [83].

Ändringar i mängden och sammansättningen av saliv vid kemoterapi kan i likhet med andra läkemedelsinducerade förändringar i salivsekretionen vara till stort besvär för patienten och öka risken för sjukdomar i munhålan. Därför ställs ofta krav på särskilda profylaktiska och behandlingsmässiga åtgärder hos patienter som har genomgått kemoterapi.

Varje år diagnostiseras cirka 32 000 nya fall av cancer i Danmark. En stor del av dessa behandlas med kemoterapi. Det danska Folketinget införde i april 2001 en lag [84] som berättigar cancerpatienter med betydande dokumenterade tandproblem på grund av kemoterapi till ett särskilt ekonomiskt tillskott till tandbehandling från amtsrådet (landstinget). Huruvida det uppstår permanenta följder i munhålan efter kemoterapi är fortfarande en öppen fråga men en enstaka undersökning har visat att salivens innehåll av sekretorisk IgA var signifikant nedsatt fem år efter kemoterapi [85]. Vetenskaplig dokumentation som kan visa om det endast handlar om övergående förändringar eller om kemoterapi kan leda till permanent nedsatt salivsekretion, smakerändringar, slemhinnesjukdomar, ändring av munhålefloras sammansättning, karies, tandköttsinflammation och/eller parodontit är önskvärd.

Markörer i saliv

Nya tekniker inom speciellt det molekylärbiologiska området har banat väg för en lång rad möjligheter att kunna skilja mellan sjukt och friskt. Den stora mängd arbete som i dag ägnas åt studier inom det humana arvsmaterialet (genomik) och proteiners struktur och funktion (proteomik) kommer att ge ny insikt i den molekylära komplexitet som är förbunden med sjukdomsutveckling. Insikten kommer att leda till utveckling av nya kliniska verktyg för detektion och monitorering, förebyggande av sjukdom, diagnostik, behandling och prognos. Ett exempel är biologiska markörer, de så kallade biomarkörerna, varav flera i dag redan är identifierade och integrerade i diagnostik och behandling.

En biomarkör definieras som en effekt eller karaktäristik som kan mätas och bedömas objektivt och användas som en indikator för normala biologiska eller patogena processer alternativt farmakologiska svar på terapeutiska insatser [86]. Med få undantag har man funnit alla kända biomarkörer i blodprov och inte i saliv. Kunskap om att blodets sammansättning i någon mån reflekteras i saliv tillsammans med fördelarna med att använda salivprov (non-invasiv uppsamlings-teknik med minimal infektionsrisk) framför blodprov, har ökat intresset för möjligheterna att kunna använda saliv för sjukdomsspårning och diagnostik. Intresset

speglas i det stigande antalet vetenskapliga rapporter som behandlar biomarkörer i saliv.

Sökandet efter potentiella markörer i saliv sker dels i molekyler som utsöndras direkt till saliven av spottkörtlarnas celler, dels i molekyler som har transporterats från blodet genom spottkörtlarnas celler till själva saliven och slutligen i de cellrester från spottkörtlarnas eller munhålan epitel som finns i saliven. Partikeltransport från blod till saliv kan ske transcellulärt eller paracellulärt med passiv eller aktiv transport och är beroende av en rad fysisk-kemiska omständigheter; exempelvis partiklarnas löslighet i fett och vatten, pH, dess laddning och proteinbindning. Forskarna anser i dag att de flesta lågmolekylära proteiner passerar fritt genom körtelcellerna.

En väl etablerad markör inom salivbaserad diagnostik är det specifika antikroppssvaret mot infektion med hiv (Human Immunodeficiency Virus). Mätningar av antikroppar mot hiv i saliv (på samma sätt som ett serumtest) har visat en sensitivitet och specificitet mellan 95–100 procent [87–90]. Förutom den enklare provtagningen är den största fördelen med ett salivbaserat test jämfört med ett serumtest att infektionsrisken för personalen eliminerar tack vare testets icke-invasiva procedur.

En rad andra virusinfektioner har också visat sig möjliga att diagnostisera via antikroppsanalyser i salivprov, bland annat hepatit A, B och C med specificitet respektive sensitivitet på mellan 98,7–100 procent jämfört med serumtest [91, 92]. Mäsling, påssjuka och röda hund visar också liknande höga korrelationer mellan saliv och serumantikropps nivåer [93–96].

Ett annat och säkert ännu större område för biomarkörer i saliv är molekyler som kan berätta om eventuella sjukliga tillstånd hos individen. Markörer med hög sensitivitet och specificitet för speciellt de tidiga asymtomatiska stadierna är av stort värde vid screenings eftersom tidig upptäckt och möjlighet till tidig behandling av en cancer ofta är utslagsgivande för patientens överlevnad. Man räknar också med att cancerspecifika biomarkörer kommer att kunna användas vid monitorering av behandlingens effekt samt för att följa patienten och kunna sätta in ny behandling vid ett återfall. Ännu finns det inget salivbaserat test för maligna sjukdomar på marknaden men en rad markörer som först funnits och validerats i blodprov har också utvärderats i salivprov.

Antikroppar mot den inaktiverade formen av tumörsuppressorproteinet p53 har hittats i serum från patienter med olika former av cancer [97]. Som markör i ett salivtest har antikroppar mot p53 hittills endast använts för detektion av lokal malignitet. Tavassoli et al [98] har mätt antikropparna i saliv från patienter med oralt planocellulärt carcinom och föreslagit att man använder salivtest för screening och tidig upptäckt av sjukdomen. Dessutom har analyser av mRNA i saliv hos patienter med oralt planocellulärt carcinom

visat lovande resultat för möjligheterna att peka ut cancerrelaterade biomarkörer i saliv [99].

Proteinet c-erbB-2 (också känt som Her2/neu) används som bröstcancermarkör i analyser av vävnadsbiopsier från kvinnor som diagnostiserats med maligna tumörer. Det har rapporterats att det skulle kunna vara möjligt att använda mätningar av den markören i saliv vid inledande detektion samt vid patientobservation för återfall [100, 101].

En av de stora fördelarna med biomarkörer för cancerscreening är att de tidigt i sjukdomsförloppet kan ge en fingervisning om sjukdom. I bästa fall kan det ske medan patienten ännu är symptomfri när de bästa möjligheterna för att effektivt behandla och eventuellt bota patienten finns. Mot den bakgrunden undersöker vi i laboratoriet nu möjligheten att identifiera och mäta biomarkörer som är specifika för colorectal cancer med hjälp av saliv. Vid tidig diagnostik av den sjukdomen kan man effektivt bekämpa primärtumörer genom att ta bort en del av tarmen och förhindra en spridning av tumörceller till andra organ. Som en sidovinst tänker man sig att biomarkörer på sikt kan komma att användas som ett verktyg i samband med skräddarsydd individuell patientterapi.

Medan fokus på cancerrelaterade markörer är förhållandevis nytt har mätning av hormonnivåer i saliv länge använts som komplement i kliniken vid utredning av endokrinologiska funktioner.

Kartläggningen av hormonella dygns- och måndsvariationer kräver att man samlar upp många prov. Saliv har här en rad fördelar jämfört med blod. Att samla saliv kan ske utan besvär för patienten och rent praktiskt kan salivprov ofta samlas upp i hemmet. De flesta hormoner är fettlösliga (till exempel steroidhormonerna) och passerar därför från blodet ut i saliven via passiv diffusion.

Mätningarna av en rad hormoner i saliv har klinisk relevans eftersom det finns ett direkt samband mellan hormonnivån i saliv och blod. I blod finns hormoner i två former; som fritt hormon och proteinbundet. Den hormonnivå som mäts i saliv speglar den fria andelen hormon i blod. Eftersom det fria hormonet är identiskt med det biologiskt aktiva hormonet kan kunskaper om salivens hormonnivå i vissa fall ha högre diagnostiskt värde än den hormonnivå som mäts i blod. Fortlöpande kontroll av en lång rad hormoner i saliv har därför använts för olika kliniska problemställningar och det tillkommer hela tiden fler. Man har till exempel funnit samband mellan cortisol och stress [102, 103], östrogen och nedsatt fosterväxt [104] samt prematur födsel [105], progesteron och tidpunkten för ägglossning [106] samt testosteron och beteendeutveckling hos barn [107]. (En detalje-

rad litteraturoversikt över användningen av saliv för utredning av endokrinologisk funktion, med fokus på steroidhormonerna, kan läsas på internet. http://www.salivatest.com/journals/saliva_ref.html.)

Fler hormoner än steroidhormonerna har kartlagts när det gäller förhållandet saliv/blod. Bland annat har man kunnat visa på ett samband mellan insulin i saliv och blod med en oral glukostoleranstest hos grupper av patienter med typ 2-diabetes, icke-diabetiska feta personer och friska kontrollpersoner [108]. Vi undersöker för närvarande salivnivåer av olika hormoner som är involverade i aptitregleringen i syfte att hitta möjliga markörer för ätstörningen bulimi. Eftersom skador på tändernas emalj (till exempel erosion) och svullna spottkörtlar i många fall är de enda synliga tecknen på bulimi har tandläkaren som ser sina patienter regelbundet ofta bättre möjligheter att upptäcka tecken på sjukdom jämfört med andra yrkesgrupper inom sjukvården. Men att ställa diagnos mot bakgrund av de existerande kriterierna är svårt och ligger utanför tandläkarens kompetens. Utvecklingen av biologiska markörer i saliv kan därför tillsammans med den orala kliniska bilden ge tandläkaren ytterligare möjlighet att klarlägga orsaken till dentala erosioner och därmed bidra till att förebygga och behandla skadorna på lämpligaste sätt. Till detta ska läggas möjligheten till tidig icke-invasiv diagnostik av bulimi som kan leda till ett tidigare psykologiskt och odontologiskt ingripande [109].

Saliv har också visat sig användbart för fortlöpande kontroll av medicin. En förutsättning för att använda saliv är att förhållandet mellan koncentrationen i blod och saliv är känt, vilket är fallet för en lång rad ämnen [110]. Medicinnivån i saliv avspeglar, precis som för hormoner, den fria icke-proteinbundna mängden medicin i blod. I några fall ger det salivnivån ett högre terapeutiskt värde än den totala blodnivån. Det är dock viktigt att känna till att koncentrationen av den fria mängden medicin i saliv för en del ämnen är pH-beroende. Det betyder att variationen i salivsekretionshastighet och i salivens pH i några fall kan resultera i variationer i saliv-plasmaförhållandet och därmed begränsa salivens diagnostiska användbarhet.

Problematiken är mindre uttalad när det gäller mätning av euforiserande ämnen där det i högre grad handlar om att påvisa snarare än att kvantifiera ett ämne. Saliv har till exempel använts för att avslöja missbruk av kokain [111] och marijuana [112, 113] samt intag av alkohol [114, 115]. Mätning av alkohol i saliv förutsätter dock att provet tas tidigast 20 minuter efter intaget, när kroppen hunnit absorbera och distribuera alkoholen. På så sätt kan man undvika registrering av falska höga värden på grund av den direkta "kontamineringen" av munhålan [114]. Mätning av kotinin (en nikotinmetabolit) i saliv är en lämplig metod att validera självrapporterade rökvanor

[116]. Kotininmätning kan också ge en indikation om passiv rökning eftersom det har observerats en nära korrelation mellan nivån av kotinin i saliv och antalet cigaretter som röks i ett hushåll [117].

I takt med utvecklingen av bättre metoder för upprensning och bestämning av DNA-profiler har saliv även fått en betydande roll som rättsmedicinsk markör. Genom att extrahera DNA ur cellrester från den orala slemhinnan i helsaliv kan man få fram karaktäristik för den aktuella genprofilen som kan användas vid identifiering av såväl offer som gärningsman. Saliv isolerad från till exempel bitmärken [119], frimärken och kuvert eller efterlämnade cigarettfimpar [119, 120] har vid flera tillfällen varit viktigt bevismaterial i kriminalfall. Ett exempel är den tjuv som fälldes på grund av att han ätit av en cheddarost på gärningsplatsen. Hans saliv isolerades från ostbiten och DNA-profilbestämde [121].

Med individuellt anpassade instrument är det i dag möjligt att samla saliv från alla större och mindre körtlar i munhålan och genom att man har visat att de olika typerna av saliv har specifika profiler i sin proteinsammansättning [123] kan man dra slutsatsen att det inte är utan betydelse vilken typ av saliv man tänker använda för sina analyser. Det har föreslagits att saliv som samlats upp från enskilda körtlar lämpar sig bäst för detektion av körtelspecifik patologi medan helsaliv är att föredra för bedömning av systemiska sjukdomar [124]. Ett av de snabbast växande områdena inom salivforskning är därför kartläggningen av salivens proteom. Med kartläggningen av den stora gruppen proteiner har man skapat en gedigen grund för det framtida sökandet efter och identifikation av markörer som kan ge specifik information om patientens hälsotillstånd, oralt såväl som systemiskt. Proteomprojektet kommer också att leda till utveckling av nya diagnostiska system baserade på nanoteknik, till exempel utveckling av ett chip som kan utföra multianalys på helsaliv och erbjuda screening av patientens fysiologiska status i "realtid" när patienten är kvar i tandläkarkliniken.

English summary

Saliva – Status and possibilities

Anja Weirsøe Dynesen, Siri Beier Jensen, Lars Holten-Andersen, Thorbjörg Jensdóttir, Anne Marie Lynge Pedersen, Allan Bardow and Birgitte Nauntofte

Tandläkartidningen 2006; 98 (2): 58–67

New knowledge and new techniques within the molecular biological field have expanded the possibilities for using saliva as one of the diagnostic tools when discriminating between health and disease. This opens the possibility for using saliva in detection and monitoring in relation to disease prevention, diagnostics, treatment and prognosis. The new knowledge within the field concerns the protecting effects of saliva on the oral tissues, salivary gland function and saliva from patients suffering from Sjogrens syndrome and patients with cancer, as well as identification of new biomarkers. Some of these new areas within salivary research are primarily of dental interest, such as the orally protective effects of saliva, while others are of more general interest and application. Thus, the advantages of using saliva as a medium for non-invasive sampling with minimal infection risk compared to blood sampling has increased the interest for the use of saliva as a "handy chair side tool" also within systemic disease screening and diagnostics.

Referenser

1. Fox PC. Salivary enhancement therapies. *Caries Res* 2004; 38: 241–6.
2. Baum BJ, O'Connell BC. In vivo gene transfer to salivary glands. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10: 276–83.
3. Wang J, Voutetakis A, Zheng C, Baum BJ. Rapamycin control of exocrine protein levels in saliva after adenoviral vector-mediated gene transfer. *Gene Ther* 2004; 11: 729–33.
4. Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997; 25: 5–12.
5. Hallett KB, Lucas JO, Johnston T, Reddihough DS, Hall RK. Dental health of children with cerebral palsy following sialodochoplasty. *Spec Care Dent* 1995; 15: 234–8.
6. Lagerlöf F, Oliveby A, Ekstrand J. Physiological factors influencing salivary clearance of sugar and fluoride. *J Dent Res* 1987; 66: 430–5.
7. Dawes C. A mathematical model of salivary clearance of sugar from the oral cavity. *Caries Res* 1983; 17: 321–34.
8. Hofer E, Jensen SB, Pedersen AML, Bardow A, Nauntofte B. Oral microflora in patients with salivary gland hypofunction. *Oral BioSci Med* 2004; 2: 77–92.
9. Risheim H, Arneberg P, Birkhed D. Oral sugar clearance and root caries prevalence in rheumatic patients with dry mouth symptoms. *Caries Res* 1992; 26: 439–44.
10. Papas AS, Joshi A, MacDonald SL, Maravelis-Splagounias L, Pretara-Spanedda P, Curro FA.

- Caries prevalence in xerostomic individuals. *J Can Dent Assoc* 1993; 59: 171–4, 177–9.
11. Rundegren J, van Dijken J, Mornstad H, von Knorring L. Oral conditions in patients receiving long-term treatment with cyclic antidepressant drugs. *Swed Dent J* 1985; 9: 55–64.
 12. Bardow A, ten Cate JM, Nauntofte B, Nyvad B. Effect of unstimulated saliva flow rate on experimental root caries. *Caries Res* 2003; 37: 232–6.
 13. Navazesh M, Christensen C, Brightman V. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. *J Dent Res* 1992; 71: 1363–9.
 14. Bardow A, Nyvad B, Nauntofte B. Relationships between medication intake, complaints of dry mouth, salivary flow rate and composition, and the rate of tooth demineralization in situ. *Arch Oral Biol* 2001; 46: 413–23.
 15. Larsen MJ, Pearce EI. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol* 2003; 48: 317–22.
 16. Ericsson Y. Clinical investigation of the salivary buffering action. *Acta Odontol Scand* 1959; 97: 131–65.
 17. Bardow A, Madsen J, Nauntofte B. The bicarbonate concentration in human saliva does not exceed the plasma level under normal physiological conditions. *Clin Oral Investig* 2000; 4: 245–53.
 18. Shannon IL. Parotid fluid flow rate, parotid fluid, and serum inorganic phosphate concentrations as related to dental caries status in man. *J Dent Res* 1964; 43: 1029–38.
 19. Bardow A, Hofer E, Nyvad B, ten Cate JM, Kirkeby S, Moe D, et al. Effect of saliva composition on experimental root caries. *Caries Res* 2005; 39: 71–7.
 20. Larsen MJ, Jensen AF, Madsen DM, Pearce EI. Individual variations of pH, buffer capacity, and concentrations of calcium and phosphate in unstimulated whole saliva. *Arch Oral Biol* 1999; 44: 111–7.
 21. Aguirre A, Testa-Weintraub LA, Banderas JA, Haraszthy GG, Reddy MS, Levine MJ. Sialochemistry: a diagnostic tool? *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4: 343–50.
 22. Helmerhorst EJ, Hodgson R, van 't Hof W, Veerman EC, Allison C, Nieuw Amerongen AV. The effects of histatin-derived basic antimicrobial peptides on oral biofilms. *J Dent Res* 1999; 78: 1245–50.
 23. Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle - a review. *Adv Dent Res* 2000; 14: 22–8.
 24. Banderas-Tarabay JA, Zacarias-D'Oleire IG, Garduno-Estrada R, Aceves-Luna E, Gonzalez-Begne M. Electrophoretic analysis of whole saliva and prevalence of dental caries. A study in Mexican dental students. *Arch Med Res* 2002; 33: 499–505.
 25. Eccles JD. Dental erosion of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *J Prosthet Dent* 1979; 42: 649–53.
 26. Nunn JH, Gordon PH, Morris AJ, Pine CM, Walker A. Dental erosion -- changing prevalence? A review of British National childrens' surveys. *Int J Paediatr Dent* 2003; 13: 98–105.
 27. Jensdottir T, Arnadottir IB, Thorsdottir I, Bardow A, Gudmundsson K, Theodors A, et al. Relationship between dental erosion, soft drink consumption, and gastroesophageal reflux among Icelanders. *Clin Oral Investig* 2004; 8: 91–6.
 28. Bashir E, Lagerlöf F. Effect of citric acid clearance on the saturation with respect to hydroxyapatite in saliva. *Caries Res* 1996; 30: 213–7.
 29. Bashir E, Gustavsson A, Lagerlöf F. Site specificity of citric acid retention after an oral rinse. *Caries Res* 1995; 29: 467–9.
 30. Järvinen VK, Rytomaa I, Meurman JH. Location of dental erosion in a referred population. *Caries Res* 1992; 26: 391–6.
 31. Järvinen VK, Rytomaa II, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res* 1991; 70: 942–7.
 32. Colquhoun AN, Ferguson MM. An association between oral lichen planus and a persistently dry mouth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98: 60–8.
 33. Jensdottir T, Buchwald C, Nauntofte B, Bardow A. Effects of sucking acidic candy on whole mouth saliva composition. *Caries Res* 2005 (in press).
 34. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res* 1999; 78: 1821–8.
 35. Nekrashevych Y, Stosser L. Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. *Caries Res* 2003; 37: 225–31.
 36. Jensdottir T, Rasch A, Nauntofte B, Holbrook WP, Bardow A. Are fruit juices more erosive than carbonated drinks? *J Dent Res* 2004; 83(special issue A): #3003.
 37. Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ. Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res* 1976; 55: 664–70.
 38. Nieuw Amerongen AV, Oderkerk CH, Driessen AA. Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res* 1987; 21: 297–309.
 39. Moutsopoulos HM, Talal N. Immunological abnormalities in Sjögren's syndrome. In: Talal N, Moutsopoulos HM, Kassan SS, editors. *Sjögren's syndrome. Clinical and immunological aspects*. Heidelberg: Springer; 1987. p. 258–65.
 40. Al-Hashimi I, Khuder S, Haghghat N, Zipp M. Frequency and predictive value of the clinical manifestations in Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med* 2001; 30:1–6.

Den fullständiga referenslistan kan beställas från Pia Bast: pb@odont.ku.dk

Adress:

Anja Weirsøe •
Dyngesen, Avdelingen för oral medicin, klinisk oral fysiologi, oral patologi & anatomi, Tandlägeskolen, Nørre Allé 20, DK-2200 København N, Danmark
E-post: awd@odont.ku.dk