

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

Spyt

Status og muligheder

Ny viden om spyttets funktioner samt nye molekylærbiologiske teknologier har givet mulighed for i højere grad end tidligere at bruge patienters spyt til at skelne mellem syg og rask. I den odontologiske klinik åbnes for at anvende spyt til detektion og monitorering i forbindelse med sygdomsforebyggelse, diagnostik, behandling og prognose. Den nye viden på området berører eksempelvis den beskyttende effekt af spyt mod caries og erosion, spytkirtelfunktion og spyt hos patienter med cancer og med Sjögrens syndrom, samt identifikation af biomarkører i spyt. Nogle af de nye områder inden for spytforskningen, som spyttets effekt på tænder og slimhinder, har primært odontologisk applikation mens andre er knyttet til mere generelle formål. Således har fordelene ved at anvende spyt (opsamlet ved non-invasiv teknik og med minimal infektionsrisiko) frem for blodprøver øget interessen for spyttets potentielle anvendelse som *handy chair side tool* inden for sygdomsopsporing og diagnostik.

Spyttet er en væsentlig beskyttende faktor for tænder og slimhinder, og patienter med nedsat spytksekretion har forøget risiko for mundhulesygdom i form af fx caries, tanderosion og -slid samt svamp og sår. Dertil kommer at mundtørhedsgener kan nedsætte patientens livskvalitet betydeligt.

Skønt mange systemiske sygdomme og deres behandling

forårsager reduktion i den spytmængde der tilføres mundhulen, ses de mest udtalte spytkirteldysfunktioner og de orale konsekvenser heraf hos patienter med primært Sjögrens syndrom og hos patienter der har fået strålebehandling i hovedhals-regionen samt hos patienter der indtager medicin som interfererer med spytkirtlernes sekretionsprocesser.

I den odontologiske klinik har forebyggelse af følgetilstande i mundhulen i forbindelse med nedsat spytksekretion høj prioritet. Og den symptomlindrende behandling der i dag kan tilbydes den mundtørre patient, er almindeligvis af lokal karakter, hvorimod den farmakologiske behandlinger med de såkaldte sekretagoger, anvendes mere sjældent. Disse omfatter pilokarpin (Salagen), en non-specifik muskarin agonist med svag beta-adrenerg agonist aktivitet og det mere specifikke Cevimeline som specifikt aktiverer M3 receptorer (1).

I Laboratorium for Oral Fysiologi ved Odontologisk Institut har vi i de senere år haft fokus på udforskning af spytkirtelfunktion og spyt samt dets betydning under både normale og patofysiologiske forhold. Vort interesseområde dækker såvel grundforskningsmæssige aspekter af spyttets dannelse, translationel forskning, hvor den indhentede fundamentale viden overføres til den kliniske hverdag, og endelig klinisk forskning på bestemte patientgrupper. Som det vil fremgå, undergår forskningsfeltet som inddrager spytkirtelfunktion, en rivende udvikling. Vi har her valgt at præsentere uddrag af nogle af de forskningstemaer inden for spytforskningen der er i vælten for tiden. Der redegøres for status (hvad ved vi?) og for hvad de fremtidige muligheder området byder på. Vor optik er i særdeleshed rettet mod spyt og tænder (caries og erosion), spytkirtelfunktion og spyt hos patienter med cancer og med Sjögrens syndrom, samt markører i spyt – biokemiske, cellulære og genetiske – i relation til sygdomsmodtagelighed, -progression og behandlingseffektivitet.

Spytkirtlerne og nye biologiske behandlingsmetoder

Netop den lette tilgængelighed for adgang til spytkirtlerne gennem kannulation af den store ekskretoriske udførselsgang på de store spytkirtler gør dem velegnede som målorganer for nye behandlingsmetoder baseret på retrograd infusion af

Forfattere

Anja Weirsøe Dynesen, ph.d.-stipendiat, cand.odont. og cand.scient. i human ernæring¹

Siri Beier Jensen, ph.d.-stipendiat, tandlæge¹

Lars Holten-Andersen, ph.d.-stipendiat, cand.scient.¹

Thorbjörg Jensdóttir, erhvervs-ph.d.-stipendiat, MSc (Nutrition)^{1,2}

Anne Marie Lyng Pedersen, lektor, tandlæge, ph.d.¹

Allan Bardow, adjunkt, tandlæge, ph.d.¹

Birgitte Nauntofte, professor, dr.odont.¹

¹ Afdeling for Oral Medicin, Klinisk Oral Fysiologi, Oral Patologi & Anatomi, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, og ² TOMS-gruppen A/S

medikamenter. Ydermere har spytkirtlerne såvel eksokrin sekretion via udførselsgangssystemet til spytet som endokrin sekretion af proteiner til blodbanen. Den retning, hvormed proteinerne secernerer, enten til spytet og/eller blodet, afhænger af aktiveringen af bestemte signalproteiner i spytkirtelcellen. Denne dobbeltfunktion gør spytkirtlerne til interessante organer for genterapi for både behandling af orale og systemiske sygdomme og ikke mindst for sygdomme der kan relateres til fejlfunktion i et enkelt gen. Ved genterapi i spytkirtler tilføres et gen der kan få spytkirtelcellerne til at producere det transplanterede gens proteinprodukter på normal fysiologisk vis hvilket betyder at patienter kan bringes til at syntetisere og secernere proteiner som de i udgangssituationen mangler. Selve sekretionsruten styres af bestemte signalproteiner. En af de helt store udfordringer er dog at kontrollere ekspressionen af det transplanterede gen når det først er leveret i cellen. Denne kontrol er afgørende for at sikre at det transplanterede gen ikke «slukkes», eller at der sker en overproduktion som genet koder for. Ud over at der stilles krav til at generne skal have langtidsekspression efter afleveringen, skal genmaterialet også overføres med en vektor – en virus – som kun må give anledning til minimale immunrespons hos værten hvis behandlingen skal kunne tolereres.

De første videnskabelige rapporter om overførsel af DNA til spytkirtler kom i midten af 1990'erne, og i tiden frem til nu er der udført vellykkede dyreeksperimentelle studier med genterapi på spytkirtler (2, 3) og principielt har denne terapiform også potentiale for mennesker.

Også den regenerative medicin har holdt sin indmarch i spytkirtelfeltet og er en behandlingsform med stor fremdrift og stort potentiale skønt der også her er lang vej til de egentlige kliniske afprøvninger på mennesker. Mange forskere har deres opmærksomhed rettet mod udvikling af behandlingsformer hvor man udvikler erstatningsvæv som funktionelt skal kunne substituere det tilsvarende naturlige, men dysfunktionelle væv således at funktionen biologisk set kan genetableres. Stamcelleterapi hvor uspecialiserede grundceller (enten embryonale eller voksne fra en udviklet organisme) styres frem til at udvikles som spytkirtelceller, er en behandlingsform som kunne have relevans for spytkirtelområdet. Målet er her at friske celler udviklet fra stamceller skal erstatte de syge/defekte celler og overtage deres funktion i patienten.

Spyt og caries

Det er velkendt at caries er tab af hårdt tandvæv som følge af bakteriel syreproduktion i tandbelægninger, og at spyt er en faktor med betydning for denne proces (4). Således ses hos individer hvor spytkirtlerne fjernes, væsentlig forøget cariesaktivitet (5). De egenskaber ved spytet der påvirker cariesudviklingen, omfatter bl.a. den orale *clearance*, spytets mætningsgrad mht. hydroxylapatit samt dets betydning for sammensætningen af den orale mikroflora.

Den tid det tager at fjerne et fødeemne fra mundhulen, er hos det enkelte individ afhængig af spytsekretionshastigheden og synkingsfrekvensen (6). Når spytsekretionshastigheden reduceres, tager det længere tid at udvaske fødeemnet fra mundhulen. Ved en ustimuleret spytsekretionshastighed på 0,1 ml/min, *cut off*-værdien for diagnosen hyposalivation, kan det eksempelvis tage næsten fem

gange længere tid at udvaske en given mængde tilført sukker fra mundhulen end ved en normal ustimuleret spytsekretionshastighed på ca. 0,5 ml/min (7). En sådan nedsættelse af den orale *clearance* forøger naturligvis den tid det tager at udvaske syre fra tandbelægninger. Derved opstår et mere surt miljø i den dentale plak, hvilket fremkalder et økologisk skift til fordel for syreproducerende og syretolerende bakteriestammer (8). Konsekvensen er at patienter med nedsat spytsekretionshastighed, og i særdeleshed patienter med hyposalivation, udvikler caries hurtigere end individer med normal sekretion (9–12). Der er dog endnu ikke enighed om hvor meget spyt der skal til for at undgå hurtig cariesudvikling. Men teoretiske beregninger har vist at den orale *clearance* bliver væsentligt nedsat allerede når den ustimulerede spytsekretionshastighed er mindre end 0,2 ml/min (7). Kliniske studier har således bekræftet at cariesudviklingen er forøget hos individer med ustimulerede spytsekretionshastigheder under denne værdi (13, 14).

Caries er en konsekvens af en pH-induceret undermætning mht. hydroxylapatit i plakkens væskefase. De direkte effekter af spyt på denne mætningsgrad i det orale miljø kan opdeles i 1) spytets evne til at fastholde et tandvenligt pH i mundhulen via dets bufferkapacitet, og 2) spytets evne til at fastholde overmætning via dets indhold af calcium og fosfat (15). Mht. førstnævnte er det demonstreret at individer med en høj bufferkapacitet i spytet er bedre beskyttet mod udvikling af caries end individer med lav bufferkapacitet (16). Imidlertid er bufferkapaciteten i spyt så tæt korreleret med den hastighed hvormed spytet dannes (17), at det ud fra en klinisk synsvinkel er diskutabelt, om målinger af spytets bufferkapacitet bidrager med yderligere væsentlig information for vurdering af en patients cariesrisiko end hvad der allerede kan udledes på basis af simpel sialometri. Hvad angår spytets indhold af calcium og fosfat har nogle studier vist at specielt et højt fosfatindhold synes at have en beskyttende effekt mod caries (18, 19). Men i den samlede litteratur er disse sammenhænge dog langt fra entydige. En medvirkende årsag kunne tilskrives det forhold at spytets indhold af calcium og fosfat ikke er konstant hos det enkelte individ (20), hvorfor en sammenholdelse af spytets indhold af calcium og fosfat med en given carieserfaring vanskeliggøres hvis ikke spytets sammensætning er bestemt parallelt med cariesudviklingen.

Ud over effekten af spytsekretionshastigheden har spytets organiske sammensætning betydning for mikrofloraen i den dentale plak, idet spytet indeholder peptider og proteiner som specifikt og uspecifikt kan påvirke de mikrobielle vækstbetingelser (20–22). En stor del af spytets proteiner indgår i dannelsen af det proteinlag der beklæder tændernes overflade (23). Proteinsammensætningen af den erhvervede pellicel har betydning for hvilke bakterier som initialt koloniserer tandoverfladen, og det er derfor muligt at spytets proteinsammensætning via pelliclen har betydning for cariesudviklingen. Således antyder kliniske studier at visse af spytets proteiner kunne have betydning for cariesudvikling (19, 24).

Krydsfeltet mellem spytets biokemi og fysiologi og cariologien er forskningsmæssigt stadig i sin vorden, men vil utvivlsomt frembringe ny indsigt, især om risikovurdering for caries på individniveau.

Spyt og erosion

Det er velkendt at erosion, tab af hårdt tandvæv som følge af kemisk proces uden involvering af mikroorganismer (25), er en almindelig bivirkning i forbindelse med overdreven indtagelse af sure fødeemner (eksogen syrepåvirkning), såsom syrlige læskedrikke, syrligt slik og sure frugter, samt ved endogen syrepåvirkning opstået som resultat af reflux-problemer eller selvinduceret opkastning hos personer med visse spiseforstyrrelser. Ydermere tyder de seneste undersøgelser på at forekomsten af erosion er stigende blandt børn og unge (26, 27). Spyttets betydning for erosionsprocessen kan relateres til 1) spytksekretionshastighedens effekt på den orale *clearance* af syre, 2) spytets mætningsgrad mht. hydroxylapatit og 3) spytets proteiner.

I forbindelse med erosion er spytets evne til at *clear* syre væsentlig, idet fjernelse af den tilførte syre fra mundhulen er afgørende for at genoprette et miljø som er overmættet mht. hydroxylapatit (28). Både regionale forskelle på *clearance*-hastigheden af syren (29) og kilden til syrepåvirkningen (endogen i forhold til eksogen) (30) kan i nogen grad bidrage til at forklare intraorale variationer i erosionsforekomst.

Generelt kan det siges at risikoen for erosion er fem gange større hos hyposaliverede patienter med et ustimuleret spytflow der er mindre end 0,1 ml/min end hos individer med normal spytksekretionshastighed (31). Mange mundtørre med lave spytksekretionshastigheder forsøger desværre ofte at lindre mundtørhedsfølelsen ved indtagelse af syrligt slik (32), hvorved denne gruppes erosionsrisiko forøges yderligere.

Ud over spytets syre-*clearende* effekt er dets bufferkapacitet også vigtig for at modvirke syrens erosive effekt på tandsubstans. Her er det specielt spytets indhold af bikarbonat som er af betydning (33). Derimod har spytets indhold af calcium og fosfat ikke beskyttende effekt ved de meget sure pH-værdier hvor erosioner i tandsættet udvikles (31, 33).

For nylig er der tilvejebragt ny viden der har fokus på spytproteinernes evne til via pellicel-dannelsen at udøve beskyttende virkning mod de syreangreb tænderne uafledigt eksponeres for. Således beskytter en tyk pellicel bedre end en tynd (34), men tandoverfladerne beskyttes kun mod syreangreb i få minutter (35, 36), hvorefter pelliclen skal fornyes med friske proteiner fra spytet (37, 38). Dette forhold kan måske forklare hvorfor gentagne eksponeringer til syrlige læskedrikke i løbet af dagen er en væsentlig risikofaktor for erosionsudvikling.

Mere viden om dynamikken mellem tændernes demineralisering som funktion af syreeksponering og spytets mængde og indhold er ønskelig og fordrer tværdisciplinær forskningsindsats mellem klinikerne og eksperter med dyb indsigt i uorganisk kemi og ikke mindst proteinkemi.

Spyt og Sjögrens syndrom

Sjögrens syndrom (SS) er en autoimmun bindevævssygdom karakteriseret ved tilstedeværelsen af lymfocytære infiltrater i de eksokrine kirtler. Det er hovedsageligt tåre- og spytkirtler som afficeres, og nedsat tåre- og spytksekretion anses for at være relateret til en progresserende lymfocytmediert destruktion af kirtelparenkymet (39). Symptomerne ved SS er domineret af den eksokrine dysfunktion,

men også ikke-eksokrine sygdomsmanifestationer er hyppigt forekommende (40). SS kan optræde som en primær, selvstændig sygdom (primært SS) eller sekundært til andre inflammatoriske reumatiske sygdomme, hyppigst reumatoid arthritis (sekundært SS) (41).

Kvinderne udgør 90% af patienterne. Sygdommen kan forekomme i alle aldersgrupper, men diagnosticeres oftest i 40-50-årsalderen. If. en svensk epidemiologisk undersøgelse forekommer primært SS med en prævalens på ca. 3% (42).

Årsagen til sygdommen kendes ikke, men den antages at være multifaktoriel (43). Der er endnu ikke påvist sygdomsspecifikke kliniske eller laboratoriemæssige markører for SS. Diagnosen er således baseret på en kombination af symptomatologi (spørgsmål vedr. øjen- og mundtørhed), kliniske test til vurdering af tåre- og spytkirtelfunktionen, læbespytkirtelbiopsi samt serologisk undersøgelse for tilstedeværelse af serum autoantistofferne anti-SSA/-SSB (44). De histopatologiske forandringer i læbespytkirtelvævet, som i øvrigt vægtes højt i klassifikationskriterier for SS, er karakteriseret ved tilstedeværelse af fokale, inflammatoriske infiltrater (hovedsageligt bestående af lymfocytter) organiseret omkring udførselsgangene (45).

Flere nyere studier tyder på at den nedsatte eksokrine funktion hos SS-patienter snarere skal tilskrives forstyrrelser i den neurogene regulation end den lymfocytmedierte destruktion af de eksokrine kirtlers parenkym (43, 46). Denne antagelse underbygges af at graden af lymfocytær infiltration i læbespytkirtlerne i flere tilfælde ikke harmonerer med graden af nedsat spytksekretion (47), og at der i læbespytkirtelbiopsier er fundet tilsyneladende morfologisk intakte sekretoriske endestykker (acini) og udførselsgange i periferien af de lymfocytære infiltrater, uagtet at disse patienter har betydeligt nedsat spytksekretion (48). Ydermere har immunhistokemiske undersøgelser af læbespytkirtelvæv fra primært SS-patienter vist mangel på immunreaktive nervefibre i centrale områder af store lymfocytære infiltrater, mens der i periferien af disse findes samme rigelige innervation som hos raske kontrolpersoner (49). Disse resultater indikerer at glandulær atrofi og inflammation snarere er en følge af funktionel hæmning af den nervøse kontrol af spytkirtlerne end årsagen til denne (49). Vi har tidligere vist at spytkirtelceller fra patienter med primært SS som in vivo ikke secernerer spyt, i vort in vitro-modellsystem besidder funktionelle receptorer for neurotransmittere/-peptider (49). Desuden er vore fund forenelige med en kompensatorisk øgning af antallet af muskarinerge receptorer på acinuscernes overflademembran eller øget sensitivitet over for acetylcholin i forhold til spytkirtelvæv fra kontrolpersoner (49). Et nyere immunhistokemisk studie har faktisk vist en opregulering i antallet af muskarinerge M3-receptorer på læbespytkirtelacini hos patienter med primært SS (50), hvorimod sensitiviteten over for acetylcholin er fundet reduceret i et dosis-respons-studie på spytkirtelacini fra patienter med primært SS (51). Andre undersøgelsesresultater antyder at spytksekretionen hos primært SS-patienter er hæmmet pga. cirkulerende autoantistoffers blokering af de muskarinerge M3-receptorer på spyt- og tårekirtelcellernes overflademembraner (52, 53). Betydningen af autoantistoffer i relation til SS understøttes yderligere af at der er påvist anti-SSA- og -SSB-antistofproducerende celler i læbespytkirtler hos patienter med primært SS med disse cirkulerende antistoffer (54).

Ved diagnostik af SS anvendes endvidere måling af den ustimulerede helpspytsekretionshastighed («afløbsmetoden»), hvor en værdi på $\leq 1,5$ ml/15 min. anses forenelig med hyposalivation (13). Denne test har vist høj reproducérbarhed (55) og relativt høj diagnostisk specificitet (60–81 %) for primært SS (56). Sensitiviteten varierer fra 46 til 82 % (55). Måling af den tyggestimulerede helpspytsekretionshastighed, som anses for patologisk lav ved værdi på $\leq 3,5$ ml/5 min., har relativt lav diagnostisk sensitivitet (66 %) og specificitet (56 %) og indgår således ikke i klassifikationskriterierne (57). Imidlertid er denne test ofte anvendelig i vurderingen af spytkirtlernes funktionelle kapacitet hos den enkelte patient og i monitorering af sygdomsprogression. Det er vist at primært SS-patienter med en ustimuleret helpspytsekretion på $< 0,05$ ml/min. har mere udtalt fornemmelse af mund- og øjentørhed, større grad af lymfocytær infiltration i læbespytkirtlerne og forekomst af serum autoantistoffer, flere systemiske sygdomsmanifestationer samt opfattelse af ringere helbred end patienter med helpspytsekretion over $0,05$ ml/min. (58). Selektiv måling af sputproduktionen fra gl. parotidea og/eller gl. submandibularis/gl. sublingualis indgår ikke i rutinediagnostikken af SS, men anvendes dog i tiltagende udstrækning mhp. selektiv sialokemi. Måling af den stimulerede parotidale sekretion har en diagnostisk sensitivitet på 47–63 % (56). Måling af den stimulerede sputsekretion fra gl. submandibularis/gl. sublingualis antages at være mere velegnet til tidlig diagnostik af SS end måling af den parotidale sekretion (59).

Sialokemi indgår endnu ikke i rutinediagnostikken af SS, men flere undersøgelser tyder på at spyttets sammensætning reflekterer den inflammatoriske autoimmune proces i spytkirtelvævet (59, 60). Sialokemiske undersøgelser har vist at patienter med primært SS har høje koncentrationer af natrium og klorid, men lave koncentrationer af fosfat i helpspyt, sput fra gl. parotidea og sput fra gl. submandibularis/sublingualis på trods af lave sekretionshastigheder (59, 60). Disse fund antages at afspejle en dysfunktion i de duktable cellers evne til at reabsorbere salte, som kan være betinget af ændrede signaleringsmekanismer og/eller ændret forekomst af involverede transportproteiner (60). De højeste saltkoncentrationer i helpspyt og sput fra gl. parotidea er fundet hos primært SS-patienter som har både forekomst af serumautoantistoffer og mest udtalt inflammation i læbespytkirtelvævet, laveste sputsekretionshastigheder og højeste DMFS-score sammenlignet med patienter med normale saltkoncentrationer i spyttet (60). Disse kvantitative og kvalitative forandringer i spyttet tillige med DMFS-score antages således at være anvendelige som potentielle markører for graden af autoimmunmediert spytkirteldysfunktion hos patienter med primært pSS (60). Det er desuden vist at patienter med primært SS har lavere sekretion af helpspyt og sput fra gl. parotidea, højere DMFS-score, lavere pH og lavere bufferkapacitet i spyttet end raske kontrolpersoner (60). Sialokemiske fund tyder på at den acinære funktion er intakt. Der er således ikke påvist afvigelser i koncentrationerne af kalium, total calcium, total protein og amylaseaktiviteten i helpspyt og sput fra gl. parotidea, eller i koncentrationen af prolinrige proteiner og statherin i stimuleret sput fra gl. parotidea, i forhold til raske kontrolpersoner, hvilket tyder på at de resterende funktionelle acini er i stand til at danne og udskille et primært sput med normal sammensætning på trods af den lymfocytære infiltration og de strukturelle forandringer i spytkirtel-

vævet (60–62). Det er vist at den proteolytiske aktivitet af matriksmetalloproteinaser rettet mod ekstracellulær matriks er øget i læbespytkirtler hos SS-patienter, hvilket antages at medføre strukturelle forandringer i kirtelvævet og dermed ændringer i kvantiteten og kvaliteten af muciner som dannes og udskilles fra disse kirtler (63). Mangel på muciner kan bidrage til at forklare den udtalte mundtørhedsfornemmelse hos SS-patienter især i de tidlige sygdomsstadier, hvor gl. submandibularis/gl. sublingualis er mere afficerede end de serøse spytkirtler (59). Undersøgelser af metalloproteinase MMP-9 og dens vigtigste inhibitor TIMP-1 i spyttet er rapporteret øget hos SS-patienter sammenlignet med raske kontrolpersoner, men relationen til symptomintensitet og sygdomsvarighed er endnu uafklaret (64). Også en række cytokiner er blevet sammenlignet hos SS-patienter i forhold til andre populationer. Således er interleukin-10 og interleukin-6 fundet i øgede koncentrationer i sput hos patienter med SS i forhold til raske kontrolpersoner, og IL-6 er fundet korreleret til både mund- og øjentørhed (65).

Kvantitative og kvalitative undersøgelser af sputsekretionen har væsentlig betydning for forståelsen af de patofysiologiske mekanismer ved SS, og derved betydning for indkredsningen af årsagsforhold og nye interventionsmuligheder ved SS. Der ses en øget anvendelse af glandulær sialometri (fra gl. parotidea og gl. submandibularis/gl. sublingualis) og sialokemi, som synes at have højere specificitet og sensitivitet end helpspytanalyser, og som derfor er anvendelige som diagnostisk redskab der kan erstatte mere invasive diagnostiske test. Desuden synes såvel glandulær sialometri som sialokemi velegnede til monitorering af sygdomsaktivitet og – progression.

Cancerbehandling og påvirkning af spytkirtelfunktion

Iatrogen induceret hypofunktion af spytkirtlerne og ændret sputsammensætning er relativt hyppigt forekommende følgetilstande hos visse cancerpatienter. Disse ses i særdeleshed hos patienter der har undergået strålebehandling i hoved-hals-regionen, men kan også ses hos patienter som er eller har været i behandling med kemoterapi (66).

Strålebehandling i hoved-hals-regionen

Ved strålebehandling for hoved-hals-cancer er en eller flere af spytkirtlerne ofte inkluderet i strålefeltet, afhængig af tumorlokalisering og udbredelse samt en eventuel spredning til lymfekirtlerne. Generelt bestråles tumorer inden for en radius af 2 cm fra tumorvævet og med en total stråledosis på 45–70 gray (Gy, 1 Gy = 100 rad) givet i daglige fraktioner på 2,0 Gy i 5–6 dage ugentlig i 5–7 uger. Anvendelse af moderne stråleapparater og planlægningsudstyr (scannere og computere til at planlægge strålefelt og -doser) betyder at tumor rammes med stor sikkerhed samtidig med at strålefeltet bliver så lille som muligt, hvorved bivirkningerne af strålebehandling på det normale væv forsøges minimeret (67). Oftest bruges en unilaterale teknik der medfører at de kontralaterale spytkirtler ikke bestråles i samme grad som de ipsilaterale.

Ioniserende stråling inducerer celledød ved at beskadige DNA direkte ved ionisering eller excitering eller indirekte ved at danne frie radikaler der så kan forårsage DNA-skade. Hurtigt prolifererende væv, såsom tumorvæv, er mest strålefølsomt. Spytkirtelceller er højt

specialiserede med en langsom celledeling. På trods af den langsomme celledeling er spytkirtelceller overraskende sensitive over for ioniserende stråling, og de serøse acinusceller er mere strålefølsomme end de mukøse acinusceller. Graden af bivirkninger som nedsættelse af spytkretionshastigheden og følelse af mundtørhed afhænger af hvor stort strålefeldet har været og dermed af hvor meget spytkirtelvæv der er blevet bestrålet, og ikke mindst af den totale stråledosis som dette væv har modtaget. Akutte histopatologiske forandringer er infiltration af inflammationsceller samt degeneration, fibrose og nekrose af spytkirtelvævet, hovedsagelig lokaliseret til de serøse celletyper.

Ductus-vævet er morfologisk set relativt upåvirket med dilatation af indskudsstykker og interlobulært ductus-væv (68). Hypofunktionen af spytkirtelvævet kan være en reversibel følgetilstand ved doser på 30–50 Gy, hvorimod højere doser ofte inducerer irreversible forandringer. Sådanne histopatologiske langtidseffekter af strålebehandling omfatter degenerative og irreversible forandringer i kirtelvævet som skrider frem over måneder efter ophør af strålebehandlingen og omfatter degeneration af serøse acinusceller, inflammatorisk celleinfiltration, dilatation af ductus, fibrose, adipøse aflejringer og atrofi (69).

Strålingens akutte virkning på spytkirtlerne medfører en drastisk nedgang i spytkretionen inden for den første uge af strålebehandlingen, der vedvarer under hele behandlingsforløbet (70). Denne initiale akutte nedsættelse af spytkretionen efterfølges ofte af en kortvarig restitution af kirtelfunktionen, hvorefter denne aftager kraftigt igen for at vedblive lav eller helt ophøre i tilfælde af høje stråledoser (71). Den nedsatte spytkretion medfører spyt med et lavere pH og med en ringere bufferkapacitet, da både bikarbonat- og fosfatkoncentrationerne formindskes (72). Derimod er det vist at koncentrationerne af natrium og klorid hos patienter der har modtaget store stråledoser, stiger i både helspyt, spyt fra gl. parotidea og submandibulært/sublingualt spyt, hvilket indikerer udsivning af interstitialvæske fra den beskadigede kirtel til spytet og/eller beskadigelse af ductus-cellerne reabsorptionsmekanismer som følge af bestrålingen (73). Yderligere ses stråleinducerede ændringer i spytets koncentrationer af proteiner (74) og dets viskositet øges (75).

Lægevidenskaben har forbedret sine resultater hvad angår patientoverlevelse efter cancer i hoved-hals-regionen i de senere år, og samtidig har der været stort fokus på at mindske bivirkninger af strålebehandling på spytkirtlerne således at patienters tand- og mundsundhed påvirkes så lidt som muligt af denne terapiform. Herved mindskes fremadrettet mundtørhedsproblematikken, herunder spiseg og talegener. Dertil kommer den skærpede opmærksomhed på behovet for odontologisk intervention både før og efter behandlingen samt muligheden for at få økonomisk støtte fra det offentlige til forebyggelse og tandbehandling. Resultaterne af forskningen i feltet har allerede bidraget afgørende for patienternes livskvalitet.

Kemoterapi

Kemoterapi virker primært på celler med en hurtig celledeling. Det betyder at kemoterapeutika ikke kun påvirker maligne tumorceller, men også normale celler med en hurtig celledeling (eksempelvis knoglemarv, slimhindeepitel og hårfollikler). Dette vil hyppigt medføre bivirkninger på sådanne afhængig af dosis og varighed af ke-

moterapien. Der vil dog også kunne opstå bivirkninger på celler med langsommere proliferationshastighed, som eksempelvis spytkirtelvæv. De fleste kemoterapeutika indvirker på celler i delingsfasen af cellecyklus eller på cellernes stofskifte.

Flere undersøgelser har vist at kemoterapi kan medføre akutte forandringer i spytkirtelfunktionen under behandlingen, men det er svært at uddrage konklusioner da undersøgelserne sjældent er sammenlignelige (forskellige cancertyper, kemoterapeutika og doser samt undersøgelsesmetoder). Histopatologisk er der bl.a. påvist dilatation af ductus og degeneration af acini i de små spytkirtler hos cancerpatienter behandlet med kemoterapeutika (76).

Under kemoterapi har nogle undersøgelser vist at spytkretionshastigheden nedsættes (77). Andre undersøgelser har derimod vist uændret spytkretionshastighed (78). Det er imidlertid vidt forskellige cancerdiagnoser og kemoterapeutika der ligger til grund for de respektive undersøgelser. Den nedsatte spytkretionshastighed i dagene umiddelbart efter kemoterapien kan dog delvist tilskrives den antiemetiske behandling (behandling, der modvirker opkastning) der ordineres i forbindelse med kemoterapien, og som ofte har en antikolinerg virkning (79). Kemoterapi medfører desuden en systemisk immunosuppression og orale humorale forsvarsmekanismer, såsom spytets koncentration af immunoglobuliner, specielt sekretorisk IgA, kan derfor være markant nedsat under behandlingen (77), hvilket kan øge risikoen for infektioner i mundhulen. Andre har dog vist at sekretionsraterne af sekretorisk IgA og sekretorisk IgM fra spytkirtlerne er uændrede under kemoterapi (80). Der er også observeret ændringer i spytets elektrolytsammensætning under kemoterapi. Spytets bufferkapacitet falder signifikant (78), sandsynligvis pga. en nedsat sekretion af bikarbonat, og det er vist at spytets pH også er lavere under kemoterapi (81). Det er endnu ikke afklaret hvorvidt saltkoncentrationerne i spytet ændres som udtryk for en ændret duktal modifikation af primærspytet induceret af kemoterapien. Således er der rapporteret om nedsat natriumkoncentration i spyt fra gl. parotidea (82), mens der er fundet en øget koncentration af natrium i helspyt (83).

Ændringer i spyt mængden og -sammensætningen ved kemoterapi kan i lighed med andre lægemiddelinducerede forandringer i spytkretionen være til stor gene for patienten og kan give anledning til øget risiko for sygdom i mundhulen. Således stilles ofte krav til særlige profylaktiske og behandlingsmæssige tiltag hos patienten som har gennemgået kemoterapi.

Hvert år diagnosticeres ca. 32.000 nye tilfælde af cancer i Danmark, hvoraf en stor del behandles med kemoterapi. Det danske folketing indførte per 1.4.2001 en lov (84) der berettiger cancerpatienter med betydelige dokumenterede tandproblemer pga. kemoterapi til et særligt økonomisk tilskud til tandbehandling fra amtsrådet. Hvorvidt der er permanente følger i mundhulen efter kemoterapi, er stadig et åbent spørgsmål, men en enkelt undersøgelse har vist at spytets indhold af sekretorisk IgA var signifikant nedsat fem år efter kemoterapi (85). Videnskabelig dokumentation for om der kun er tale om forbigående forandringer, eller om kemoterapi kan føre til permanent nedsat spytkretion, smagsforandringer, slimhindelidelser, ændring af mundhulefloraens sammensætning, caries, gingivitis og/eller parodontitis er ønskelig.

Markører i spyt

Nye teknologier inden for specielt det molekylærbiologiske område har banet vejen for en lang række muligheder for at kunne skelne mellem syg og rask. Således forventes det at den store mængde arbejde der i dag er dedikeret til studier inden for det humane arvemateriale (*genomics*) og proteiners struktur og funktion (*proteomics*), vil give ny indsigt i den molekylære kompleksitet der er forbundet med sygdomsudvikling. Erhvervelse af denne indsigt vil føre til udvikling af nye værktøjer i klinikken i relation til detektion og monitorering, sygdomsforebyggelse, diagnostik, behandling og prognose. Et eksempel på et sådan værktøj er biologiske markører, de såkaldte biomarkører, hvoraf flere i dag allerede er identificeret og integreret inden for diagnosticering og behandling.

En biomarkør er defineret som en effekt eller karakteristisk der kan måles og evalueres objektivt som en indikator for normale biologiske processer, patogene processer eller farmakologiske responser på terapeutiske interventioner (86). Med ganske få undtagelser er alle kendte biomarkører indtil videre fundet i blodprøver og ikke i spyt. Viden om at blodets sammensætning i nogen grad reflekteres i spyt sammenholdt med fordelene ved at anvende spytp prøver (non-invasiv opsamlingssteknik med minimal infektionsrisiko) frem for blodprøver, har øget interessen for spyttets potentielle anvendelse inden for sygdomsopsporing og diagnostik, hvilket afspejles i det stigende antal videnskabelige rapporter der vedrører biomarkører i spyt.

Potentielle markører i spyt skal søges dels i molekyler secerneret direkte til spyttet af spytkirtlernes celler, dels i molekyler der via forskellige former for transport har passeret fra blodet gennem spytkirtlernes celler til selve spyttet, og endelig i de cellerester fra selve spytkirtlernes, men også fra mundhulens epitel, der forefindes i spyttet. Stoftransport fra blod til spyt kan foregå transcellulært eller paracellulært ved passiv eller aktiv transport og afhænger af en række fysisk-kemiske forhold, såsom stoffets opløselighed i fedt og vand, pH, dets ladning og proteinbinding. Hvad angår proteiners transport, er der en formodning om at de fleste lavmolekylære proteiner passerer frit igennem kirtelcellerne.

En veletableret markør inden for spytbaseret diagnostik er det specifikke antistofsvær mod infektion med HIV (*human immunodeficiency virus*). Det er vist at måling af antistoffer mod HIV i spyt, på linje med en serumtest, har en sensitivitet og specificitet mellem 95% og 100% (87–90). Ud over den lettere prøvetagning er den største fordel ved en spytbaseret test sammenlignet med en serumtest at infektionsrisikoen for personale er elimineret i kraft af testens non-invasive procedure.

En række andre virusinfektioner har også vist sig mulige at diagnosticere via antistofanalyser i spytp prøver, ligesom der kan testes for induceret immunitet efter vaccination. Heriblandt hepatitis A, B og C med specificiteter og sensitiviteter på mellem 98,7 og 100% når der sammenlignes med serumtests (91, 92), samt mæslinger, fåresyge og røde hunde med lignende høje korrelationer mellem spyt og serum-antistofniveauer (93–96).

Et andet og nok endnu større fokusområde inden for biomarkører i spyt er molekyler der kan fortælle om eventuelle maligne tilstande hos den enkelte. Markører med høj sensitivitet og specificitet for specielt de tidlige asymptomatiske stadier vil være af stor værdi i scree-

ningsregi, eftersom tidlig detektion af en cancer og deraf tidlig intervention ofte vil være udslagsgivende for patientens overlevelse. Derudover vil cancerspecifikke biomarkører potentielt kunne bruges ved opfølgende monitorering af behandlingens effekt samt til at følge patienten for at kunne sætte ind med ny behandling ved evt. tilbagefald. Endnu er der ingen spytbaseret test på markedet inden for maligne sygdomme, men en række markører der alle først er fundet og valideret i blodprøver, er nu også blevet evalueret i spytp prøver.

Således er antistoffer mod den inaktiverede form af tumor-suppressor-proteinet p53 fundet i serum fra patienter med forskellige former for cancer (97). Som markør i en spyttest er antistoffer mod p53 dog endnu kun foreslået til detektion af lokal malignitet. Således har Tavassoli et al. (98) målt disse antistoffer i spyt fra patienter med oralt planocellulært carcinom og foreslået benyttelse af en spyttest til screening og tidlig detektion af denne sygdom. Desuden har analyser af mRNA i spyt hos patienter med oralt planocellulært carcinom vist lovende resultater mhp. udpegningen af cancer-relaterede biomarkører i spyt (99).

Proteinet c-erbB-2, også kendt som Her2/neu, benyttes som en prognostisk brystkræft-markør i analyser af vævsbiopsier fra kvinder diagnosticeret med maligne tumorer. Det er rapporteret at målinger af denne markør i spyt muligvis kan benyttes ved indledende detektion og efterfølgende patientobservation for tilbagefald (100, 101).

Som nævnt, er en af de store styrker ved biomarkører til cancer-screening at de tidligt i sygdomsforløbet kan give et fingerpeg om sygdom – i bedste fald mens patienten endnu er symptomfri hvor der er de bedste muligheder for effektivt at behandle og eventuelt kurere patienten. I lyset af dette undersøger vi i laboratoriet nu muligheden for vha. spyt at identificere og måle biomarkører der er specifikke for kolorektal cancer, idet man ved tidlig diagnosticering af denne sygdom effektivt kan fjerne primærtumor ved tarmresektion og hermed forhindre spredning af tumorceller til andre organer. Som et ekstra skud på stammen forestiller man sig at biomarkører på sigt vil kunne bruges som et værktøj i forbindelse med skræddersyet terapi til individuelle patienter.

Mens fokus på cancerrelaterede markører er forholdsvis nyt, har måling af hormonniveauer i spyt længe været anvendt som supplement i klinikken ved udredning af endokrinologiske funktioner. Kortlægningen af hormonelle døgn- og månedsvariationer kræver opsamling af mange prøver, hvilket giver spyt en række fordele i forhold til blod, idet spytopsamling er uden gener for patienten hvad angår både det fysiske ubehag og rent praktisk, idet spytp prøver ofte kan opsamles i hjemmet. De fleste hormoner er fedtopløselige (fx steroidhormonerne) og passerer derfor fra blodet ud i spyttet via passiv diffusion. Målingerne af en række hormoner i spyt har klinisk relevans, idet der er en direkte sammenhæng mellem niveauet af hormon i hhv. spyt og blod. I blod findes hormoner på to former: som frit hormon og som proteinbundet hormon. Det hormonniveau der måles i spyt, afspejler den frie andel af hormon i blod. Da det frie hormon er identisk med det biologisk aktive hormon, kan viden om spyttets hormonniveau i nogle tilfælde have højere diagnostisk værdi end det hormonniveau der måles i blod. Monitoreringen af en

lang række hormoner i spyt er således blevet anvendt i relation til forskellige kliniske problemstillinger og der kommer stadig flere til. Fx er der fundet sammenhænge mellem cortisol og stress (102, 103), østriol og nedsat fostervækst (104) samt præmatur fødsel (105), progesteron og tidspunkt for ægløsning (106) samt testosteron og adfærdsvikling hos børn (107). En detaljeret litteraturoversigt over anvendelsen af spyt til udredning af endokrinologisk funktion (med fokus på steroidhormonerne) kan læses på internet-adressen: http://www.salivatest.com/journals/saliva_ref.html. Også andre hormoner end steroidhormonerne har været i fokus i relation til kortlægning af spyt/blod-forholdet. Der er således vist en sammenhæng mellem insulin i hhv. spyt og blod ved en oral glukosetolerancetest hos grupper af patienter med type 2 diabetes, ikke-diabetiske fede personer og raske kontrolpersoner (108). I laboratoriet undersøger vi for tiden spyt-niveauer af forskellige hormoner involveret i appetitreguleringen mhp. at finde mulige markører for spiseforstyrrelsen bulimi. Da skader på tændernes emalje (fx erosion) og hævede spytkirtler i mange tilfælde er eneste synlige tegn på spiseforstyrrelsen, har tandlægen, der ser sine patienter regelmæssigt, god mulighed for at opdage disse tegn på sygdom i forhold til andre grupper i sundhedssystemet. Men diagnostik på baggrund af eksisterende kriterier er vanskelig og ligger uden for tandlægens kompetence, så udviklingen af biologiske markører i spyt vil sammenholdt med det orale kliniske billede give tandlægen yderligere mulighed for at afdække årsagen til eksisterende dentale erosioner og dermed bidrage til forebyggelse og behandling af skaderne på den mest hensigtsmæssige måde. Der til kommer muligheden for tidlig non-invasiv diagnostik af bulimi, og dermed tidlig igangsættelse af den nødvendige psykologiske og odontologiske intervention (109).

Spyt har også vist sig anvendelig i relation til monitorering af medicin. En forudsætning for at anvende spyt til dette formål er at forholdet mellem koncentrationen i blod og spyt er velkendt hvilket er tilfældet for en lang række af stoffer (110). Medicinniveauet i spyt afspejler, som ved monitorering af hormoner, den frie ikke-proteinbundne medicinfraktion i blod, hvilket i nogle tilfælde giver spyt-niveauet en højere terapeutisk værdi end det totale blodniveau. Dog er det væsentligt at være opmærksom på at koncentrationen af den frie medicinfraktion i spyt for nogle stoffers vedkommende er pH-afhængig, hvorfor variationen i spytsekretionshastighed og dermed variationen i spyttets pH i nogle tilfælde vil resultere i variationer i spyt-plasma-forholdet, og dermed begrænse spytts diagnostiske anvendelighed.

Denne problematik er mindre udtalt når det gælder måling af euforiserende stoffer hvor det i højere grad handler om at detektere frem for at kvantificere et stof. Spyt er således blevet brugt til at afdække misbrug af kokain (111) og marihuana (112, 113), samt indtagelse af alkohol (114, 115). Måling af alkohol i spyt forudsætter dog at prøven tages tidligst 20 min. efter indtagelsen hvor absorption og distribution af den indtagne alkohol er sikret, og man derved forhindrer registrering af falsk høje værdier forårsaget af den direkte «kontaminering» af mundhulen med alkohol (114). Hvad angår rygning er måling af cotinin (en nikotinmetabolit) i spyt en velegnet metode til at validere selvrapporterede rygevaner (116). Cotinin-måling kan også give en indikation om passiv rygning, idet

der er observeret en tæt korrelation mellem niveauet af cotinin i spyt og antallet af cigaretter røget i en husholdning (117).

Endelig har spyt i takt med udviklingen af stadig bedre metoder til oprensning og bestemmelse af DNA-profiler fået en betydelig rolle som retsmedicinsk markør. Ekstraktion af DNA fra cellerester af den orale slimhinde i helspyt giver mulighed for karakteristik af den aktuelle gen-profil, hvilket kan være nyttigt ved identifikation af såvel offer som gerningsmand. Spyt isoleret fra fx bidmærker (119), frimærker og konvolutter eller efterladte cigaretskod (119, 120) har således i flere tilfælde været vigtigt bevismateriale i kriminalsager, som fx da en tyv blev fældet på at have spist af en cheddarost på gerningsstedet hvorfra hans spyt blev isoleret og DNA-profil bestemt (121).

Med individuelt tilpassede instrumenter er det i dag muligt at opsamle spyt fra alle større og mindre kirtler i mundhulen, og det er vist at de forskellige typer af spyt har specifikke profiler hvad angår proteinsammensætning (122, 123). Af samme grund kan man forestille sig at det ikke er uden betydning hvilken type spyt man påtænker at anvende til sine analyser. Det er blevet foreslået at spyt opsamlet individuelt fra de enkelte kirtler egner sig bedst til detektion af kirtelspecifik patologi, mens helspyt vil være at foretrække til evaluering af systemiske sygdomme (124). Et af de hurtigst voksende områder inden for spytforskning er således kortlægning af spyttets proteom. Med kortlægningen af denne store pulje af proteiner vil der være skabt et grundigt fundament for den fremtidige søgen efter og identifikation af markører der vil kunne give specifik information om patientens sundhedstilstand – oral såvel som systemisk. Proteomprojektet vil også give anledning til udvikling af nye diagnostiske systemer baseret på nanoteknologi fx udvikling af en chip som kan foretage multianalyse på helspyt og tilbyde screening af patientens fysiologiske status i *real time* mens patienten er i tandlægeklinikken.

English summary

Dynesen AW, Jensen SB, Holtén-Andersen L, Jensdóttir T, Pedersen AML, Bardow A, Nauntofte B.

Saliva. Status and possibilities

Nor Tannlegeforen Tid 2006; 116: 106–13.

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.

Litteratur

1. Fox PC. Salivary enhancement therapies. *Caries Res* 2004; 38: 241–46.
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(spec 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.

En fuldstændig litteraturliste kan rekvireres hos sekretær Pia Bast: pb@odont.ku.dk

Korrespondance: Ph.d. stipendiat Anja Weirsø Dynesen, Afd. for Oral Medicin, Klinisk Oral Fysiologi, Oral Patologi & Anatomi, Tandlægeskolen, Nørre Allé 20, DK-2200 København N. E-mail: ab@odont.ku.dk

Artikkelen har gennemgået eksternt faglig vurdering.