

Journal für

Klinische Endokrinologie und Stoffwechsel

Austrian Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism

State of the Art: Saliva-Hormonanalyse // State of the art: Saliva analysis

Obermayer-Pietsch B, Münzker J

Journal für Klinische Endokrinologie und Stoffwechsel - Austrian

Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2017; 10 (1), 9-11

Homepage:

www.kup.at/klinendokrinologie

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Member of the



Indexed in EMBASE/
Scopus/Excerpta Medica



Offizielles Organ folgender Gesellschaften



Krause & Pachernegg GmbH • Verlag für Medizin und Wirtschaft • A-3003 Gablitz

P.b.b. 08Z037833 M,

Verlagsort: 3003 Gablitz, Mozartgasse 10

Preis: EUR 10,-

State of the Art Saliva-Hormonanalyse

B. Obermayer-Pietsch, J. Münzker

Kurzfassung: Speichelanalysen können Hormone, aber auch Drogen- und Medikamenten-Monitoring, parodontale Entzündungsparameter und humane, virale oder mikrobielle Nukleinsäuren (DNA) umfassen. In dieser Übersichtsarbeit wird auf Präanalytik, Nachweis-Techniken und Beispiele u.a. aus der Steroidanalyse eingegangen, die derzeit am weitesten entwickelt ist und vielerorts bereits Eingang in die medizinische Routine findet.

Schlüsselwörter: Speichel, Saliva, Steroide, Analytik, Labormethoden

Abstract: State of the art: Saliva analysis. Saliva analyses are widely used for hormone measurements, but also for drug and therapy monitoring, periodontal inflammation and hu-

man, viral or microbial nucleic acid (DNA) detection. In this review, we focus on preanalytics, and measurement techniques. Clinical applications of steroid hormone analyses are presented with regard to practical use. **J Klin Endokrinol Stoffw 2017; 10 (1): 9–11.**

Keywords: Saliva, steroids, analytics, lab methods

Abkürzungen: CI – Confidence Interval/Konfidenzintervall, DNA – Desoxyribonukleinsäure, ELISA – Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ESE – European Society of Endocrinology, IgA – Immunglobulin A, MS – Massenspektrometrie, PCOS – Polycystisches Ovarsyndrom, SHBG – Sexualhormon-bindendes Globulin

■ Einleitung

Speichel (lat. „saliva“) – den wir alle aus vielen Begegnungen vom Baby bis zum Greisenalter kennen – ist eine vernachlässigte Matrix für Hormonanalysen bei klinischen Fragestellungen. „Saliva, Spucke, Speichel, Sabber, Geifer...“ kommt in zahlreichen sprachlichen Synonymen und Bedeutungen vor und ist in vieler Weise Teil unseres Alltags und in vielen Mythen und Geschichten, selten aber in einer klinischen Fragestellung vertreten. Dabei sollte Speichel als Informationsmaterial zu hormonellen Veränderungen in unserem medizinischen Denken aus vielen guten Gründen mehr Zuwendung erfahren.

Saliva als Matrix

Gemeint ist mit „Speichel“ nahezu ausschließlich der Mundspeichel, das Sekret der Bauch-, „Speichel“-Drüse wird nicht explizit so genannt, obwohl der Wortstamm noch vorhanden ist.

Saliva wird von den Parotis-Drüsen produziert, aber auch von den submental und sublingualen Speicheldrüsen gebildet – der Speichelfluss ist die „Salivation“ – und kann wässrig-dünflüssig („serös“) oder schleimig-zähflüssig (mukös) sein.

Pro Tag sezerniert ein Erwachsener zwischen 0,6 und 1,5 Liter Speichel. Die „Basalsekretion“ ohne Nahrungsaufnahme beträgt etwa 0,5 Liter pro Tag, davon sind über 99 % Wasser und nur etwa 0,5 % gelöste Moleküle, u.a. Mucine (Glykoproteine) oder die α -Amylase, ein erstes Verdauungsenzym für Kohlenhydrate. Haptocorrine ermöglichen zusammen mit dem Intrinsic-Faktor die Absorption von Vitamin B12. Weitere Substanzen sind Blutgruppenproteine und Antikörper, Immunglobulin A (IgA), Mineralstoffe wie Kalzium-Ionen (für den Zahnschmelz!) und Elektrolyte, aber auch Lysozym, Laktoterrin und Histatin mit seiner antibakteriellen Wirkung, das



Abbildung 1: Altes Schild zu Saliva im öffentlichen Raum (Foto B. Obermayer-Pietsch)

auch die Wundheilung fördert. Kürzlich ist ein stark schmerzstillendes humanes Opiorphin im Speichel nachgewiesen worden, das möglicherweise den Abbau körpereigener Opiate hemmt, die an der Schmerzwahrnehmung beteiligt sind [1].

In der Basalsekretion liegt der pH-Wert bei 6,5 bis 6,9, kann aber nach Stimulation deutlich ansteigen, da dann die Natrium-Rückresorption aus dem Plasma-isotonen Speichel geringer ist.

Speichel enthält neben den genannten Signalmolekülen aber auch Steroide [2, 3]. Fettlösliche Steroide wie Testosteron und Androstendion können frei durch die Kapillaren der Drüsen aus dem einschichtigen Epithel diffundieren, wo sie eine freie Hormonfraktion ohne Bindung an Transportproteine, z. B. Albumin oder das Sexualhormon-bindende Globulin (SHBG), bilden („Freie-Hormon-Hypothese“). Das macht sie für die klinischen Untersuchungen, aber auch für die Forschung besonders interessant [4]. Messtechniken für Saliva-Steroide sind weit gediehen.

■ Saliva-Abnahmetechniken und Präanalytik

Die Analyse von Speichel-Steroiden ist nicht zuletzt aufgrund dieser „freien“ Hormone geradezu ideal vor allem für Fragestellungen mit Androgen-Messungen bei Frauen und Männern (etwa beim polycystischen Ovar-Syndrom oder beim Hypogonadismus). Sie besticht durch die einfache Materialgewinnung mittels passivem Speichelfluss oder über verschiedene Sam-

Eingegangen am 11.01.2017, angenommen am 19.01.2017

Aus der Klinischen Abteilung Endokrinologie und Diabetologie, Universitätsklinik für Innere Medizin, Medizinische Universität Graz

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. Barbara Obermayer-Pietsch, Universitätsklinik für Innere Medizin, Endokrinologie-Laborplattform, Klin. Abt. Endokrinologie und Diabetologie, Medizinische Universität Graz, A-8036 Graz, Auenbruggerplatz 15, E-mail: barbara.obermayer@medunigraz.at

Tabelle 1: Information zur Gewinnung von Speichelproben für Patientinnen und Patienten – Information zum Sammeln von Speichel/Saliva

- Speichel, ev. durch kurzen (max. 8 cm) Trinkhalm erleichtert, in das spezielle Probengefäß geben.
- Speichel vor dem Zähneputzen oder frühestens 10 Minuten danach sammeln.
- Speichel frühestens 15 Minuten nach dem Essen oder Trinken sammeln (notfalls Mund mit Leitungswasser spülen und 2 Minuten warten).
- Möglichst 3 Speichelproben im Abstand von ca. 15 Minuten sammeln.
- Rötlich gefärbte Proben verwerfen, da Blutbeimengungen zu falschen Ergebnissen führen. Nach dem Spülen des Probengefäßes mit Leitungswasser neue farblose Speichelprobe nehmen.
- Speichelproben zur Steroidhormonanalyse können gelagert werden:
 - 5 Tage bei Raumtemperatur
 - 10 Tage bei 2–8 °C
 - über einen längeren Zeitraum bei –20 °C
- Speichelproben für andere Analysen (Alpha-Amylase, Mikrobiom etc.) bitte nach Rücksprache abnehmen und verwahren (ev. rasche Verarbeitung notwendig)!

meltechniken ohne medizinische Hilfe und ohne das Aufsuchen einer medizinischen Umgebung.

Aufgrund von rezenten Publikationen muss aber bei der Sammlung von Saliva-Material durch technische Systeme gelegentlich von Interferenzen mit den verwendeten Materialien ausgegangen werden, wodurch die meisten Zentren einen einfachen, unstimulierten, rein passiven Speichelfluss von mindestens 2 ml in 3–4 ml große Polypropylen-Röhrchen durchführen und empfehlen [4–6]. Eine Stimulation könnte unter Umständen Blutbeimengungen und andere Kontaminationen auslösen, die mit der Assaytechnik interferieren könnte. Es hängt allerdings immer von der konkreten Fragestellung ab, welches Abnahmesystem im speziellen Fall gewählt werden soll – eine Entscheidung, die Zuweiser mit dem entsprechenden Speziallabor vorbesprechen sollten. Dabei können sowohl Spezialröhrchen, als auch spezielle Zusätze notwendig sein – etwa, um Drogentests vornehmen zu können.

Für die Speichelsammlung seitens der Patienten haben wir am Universitätsklinikum Graz eine eigene Anleitung (Tabelle 1) entworfen, die für eine Materialgewinnung in häuslicher Umgebung auch zugeschiedt werden kann und bisher zu hervorragenden Ergebnissen geführt hat.

Alternativ gibt es erweiterte Verfahren, u.a. die Verwendung von Speichelsammellösung für die Entnahme zur späteren photometrischen Bestimmung des Speichelanteils, Sammelbecher, Vakuumröhrchen für Labortests und Speichel-Quantifizierungsmaterial für die gewonnene Speichelsammellösung.

■ Auswahl der Analysenmethode

Nach Anfängen der Steroidanalytik mit radioimmunologischen Techniken in den 1970er Jahren haben sich für die sehr sensiblen Messungen – die Konzentrationen für Speichelhormone liegen im Pikomolar-Bereich! – ELISAs (Enzyme-linked Immunosorbent Assays) und in einigen Laboren Massenspektrometrie (MS) durchgesetzt.

Enzyme-linked Immunosorbent Assays – ELISAs für Salivasteroide

Entsprechend der Hypothese der freien Hormone sollte die biologische Aktivität von Hormonen aufgrund ihrer freien, ungebundenen Fraktion relevantere Aussagen liefern als die gesamten, proteingebundenen Anteile [7]. Zahlreiche Anbieter für ELISAs haben sich auf ein Spektrum von Steroid- (und anderen) Hormonen spezialisiert. Vorteil ist hier die nahezu ubiquitär durchführbare Technik, bei der gezielt und spezifisch die ungebundene Fraktion der Steroidhormone in der Saliva gemessen wird, auch wenn niedrige Konzentrationen vorliegen. Eine genaue Einschätzung der Tests bezüglich Sensitivität und Spezifität (etwa monoklonale vs. polyklonale Antikörper u.a.) ist durch die klinische oder wissenschaftliche Fragestellung und ein erstes Austesten von Assays am ehesten individuell zu beantworten.

Massenspektrometrie – MS für Salivasteroide

Jüngste Entwicklungen in der Massenspektrometrie haben nicht nur Serum-Messungen von Steroiden, sondern auch Techniken für die MS-basierte Messung von Salivasteroiden gezeigt [8]. Die ungebundene Fraktion von Salivasteroiden kann mittels Massenspektrometrie sehr akkurat und spezifisch bei sehr niedrigen Konzentrationen (etwa bei Frauen und Kindern) gemessen werden. Aufgrund dieser ausgezeichneten Spezifität, Akuratesse und niedrigen Variabilität wurde die Massenspektrometrie zum Goldstandard der Steroidhormon-Messung [8]. Allerdings ist diese Technologie an eine spezielle Laborausstattung, spezifische Protokolle und Evaluierungen von gängigen Methoden gebunden.

■ Praktische Anwendungen und bisherige Studien

Besonders für Sportuntersuchungen im Gelände oder zirkadiane, von medizinischen Einrichtungen unabhängige Untersuchungen wurden Saliva-Messungen für Hormone herangezogen. Um aus der Vielfalt der Untersuchungen einige herauszugreifen, sollen im Folgenden einige wichtige Meilensteine mit Relevanz für die klinische Praxis genannt werden.

Steroide

Speichel-Kortisol hat sich bereits in zahlreichen Studien als zirkadianer Hormonparameter bewährt. Auch in der Diagnostik eines Cushing-Syndroms ist die spätabendliche Sammlung von Speichelkortisol der Messung von freiem Harnkortisol überlegen [9] und wurde entsprechend in die ESE-Guidelines aufgenommen.

Interessanterweise fand sich in einer prospektiven Kohortenstudie, der Whitehall II-Studie aus Großbritannien, bei 3270 Frauen und Männern im Alter von 60,9 Jahren bei einem erhöhten Abendkortisol eine signifikant erhöhte Diabetesneigung (Odds ratio 1,18; 95 % CI, 1,01–1,37) [10]. Dies wurde auf einen Zusammenhang mit psychosozialen Stressfaktoren zurückgeführt, die das Risiko für Typ-2-Diabetes über eine Stimulation der HPA-Achse ansteigen lassen [11].

Ebenso wiesen Personen mit veränderter Kortisol-Tagesrhythmik über Salivaproben eine erhöhte Anfälligkeit für Herz-Kreislauf-Ereignisse und kardiovaskuläre Mortalität auf [12].

In einer eigenen rezenten Kohortenstudie zu Schlafrhythmus und Stress (BioPersMed-Kohorte Graz, unpublizierte Daten) war niedriges Saliva-Kortisol morgens mit verminderter Schlafqualität und Einschlafdauer besonders bei Männern assoziiert und stellt dadurch einen möglichen nichtinvasiven Biomarker für Schlafqualität und damit ebenfalls der Stressbelastung dar.

Speichel-Testosteron

Androgene sind ein spezielles Anwendungsgebiet der Saliva-Diagnostik, u.a. bei Verdacht auf erhöhte Androgene bei Frauen. So konnten wir aktuell beim polycystischen Ovar-Syndrom (Trias aus Oligo-/Anovulation, Hyperandrogenämie/Hirsutismus, polycystischen Ovarien) sowohl signifikant erhöhtes Speichel-Testosteron, also auch Speichel-Androstendion nachweisen, wobei die Ratio aus Testosteron und Androstendion hochsignifikant mit einer schwereren metabolischen Beeinträchtigung (u.a. gestörte Glukosetoleranz, Adipositas, Oligo-/Anovulation) der PCOS-Patientinnen verbunden war [8].

Auch beim Sport und anderen Wettbewerbssituationen steigt Testosteron in der Saliva bei Männern und Frauen (!) an [13], was über Speichelproben nichtinvasiv rasch nachgewiesen werden kann. Ebenso kann die Verwendung von Dopingmitteln oder das Monitoring von Supplementationsbehandlungen mittels Saliva-Steroiden, z. B. Testosteron, leicht nachgewiesen werden [14] und eröffnet damit ein weiteres Arbeitsfeld für Steroidanalysen aus der Saliva.

Andere Hormone

Wichtig in der Forschung des sympathischen Nervensystems sind u.a. die Alpha-Amylase aus dem Speichel und Chromogranin A, die beide als nicht-invasive Marker der Sympathikus-Aktivität verwendet werden [15], weil damit u.a. ein Anstieg des Adrenalins nach dem Sport nachgewiesen werden kann.

Wie bereits beschrieben, gibt es Hinweise auf ein physiologisches Opioid namens Opiorphin in der Saliva, das im enkephalinen Signalweg ähnliche analgetische Eigenschaften wie Morphin bei chemischen oder mechanischen Schmerzen hat und möglicherweise emotional modulierend wirken kann [1].

Interessenkonflikt

Die Autorinnen haben keine Interessenkonflikte.

Literatur:

1. Wisner A, Dufour E, Messaoudi M, Nejd A, et al. Human Opiorphin, a natural antinociceptive modulator of opioid-dependent pathways. *PNAS* 2006; 103: 17979–84.
2. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 219–31.
3. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19: 41–7.
4. Gröschl M. Current status of salivary hormone analysis. *Clin Chem* 2008; 54: 1759–69.
5. Böttler RM, Peper JS, Crone EA, Lentjes EGW, Blankenstein MA, Heijboer AC. Refer-

- ence values for salivary testosterone in adolescent boys and girls determined using Isotope-Dilution Liquid-Chromatography Tandem Mass Spectrometry (ID-LC-MS/MS). *Clin Chim Acta* 2016; 456: 15–8.
6. Wood P. Salivary steroid assays – research or routine? *Ann Clin Biochem* 2009; 46: 183–96.
 7. Hahn S, Kuehnel W, Tan S, Kramer K, Schmidt M, Roesler S, et al. Diagnostic value of calculated testosterone indices in the assessment of polycystic ovary syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 202–7.
 8. Münzker J, Lindheim L, Adaway J, Trummer C, et al. High salivary testosterone to androstenedione (T/A4) ratio and adverse metabolic phenotypes in women with PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016 Dec 31; in press.
 9. Elias PC, Martinez EZ, Barone BF, Mermejo LM, et al. Late-night salivary cortisol has a

Relevanz für die Praxis

Speichelanalysen zu Hormonen, insbesondere Steroiden, haben sich in den letzten Jahren technisch weiterentwickelt. Ihr Vorteil liegt in der einfachen Materialgewinnung auch außerhalb medizinischer Einrichtungen. Analysen und Interpretation sollten mit dem Labor vorab besprochen werden. In Zukunft werden Saliva-Analysen deutlich zunehmen, auch das Analysenspektrum könnte sich noch wesentlich erweitern.

Mag. rer. nat. Julia Münzker, PhD, MSc

Biologiestudium mit Spezialisierung auf Anthropologie an der Universität Wien (2005–2011). Dissertation (PhD Studium) an der Medizinischen Universität Graz (2011–2015). Masterstudium Klinische Embryologie an der Karl-Franzens-Universität Graz (2013–2015). Seit Abschluss der Dissertation als Postdoctoral Fellow an der Klinischen Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie an der Medizinischen Universität Graz tätig.



Univ.-Prof. Dr. Barbara Obermayer-Pietsch

Studium der Medizin und Philosophie an der Karl-Franzens-Universität Graz, Dissertation „Hypophysäre Hormonachsen bei Akromegalie“ 1987. Fachärztin für Innere Medizin, Endokrinologie und Stoffwechsel sowie Nuklearmedizin.

Habilitation 2001, Professur für Endokrinologie und Osteologie an der Medizinischen Universität Graz 2011, stv. Abteilungsleiterin der Klin. Abt. Endokrinologie und Diabetologie seit 2008, Leitung des Endokrinologie-Labors seit 1998, Leiterin der Endokrinologie-Laborplattform seit 2013. Vizedekanin für Doktoratsstudien bis 2011, Leitung PhD Faculty AMBRA seit 2016, stv. für FWF-Doktorats-Kolleg MOLIN seit 2016. Leitung des K-Projektes BioPersMed 2010–2015, zahlreiche Forschungsprojekte.

Präsidentin der Dt. Ges. für Osteologie (DGO) seit 2015, Vorstandsmitglied der ECTS (European Calcified Tissue Society) seit 2015, Vorstandsmitglied der ESE (European Society of Endocrinology) und Co-Editorin des *Journal for Bone and Mineral Research* seit 2016.

Forschungsinteressen: Energie- und Knochenstoffwechsel und Fertilität und deren biologische Interaktionen mit translationellem Ansatz von Molekularbiologie und Zellkultur, Genetik und Epidemiologie bis zu klinischen Studien. Bisher wurden über 700 Publikationen veröffentlicht, über 4500 Zitate, aktueller H-Index 35.



better performance than urinary free cortisol in the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: 2045–51.

10. Hackett RA, Kivimäki M, Kumari M, Steptoe A. Diurnal cortisol patterns, future diabetes, and impaired glucose metabolism in the Whitehall II Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101: 619–25.

11. Pouwer F, Kupper N, Adriaanse MC. Does emotional stress cause type 2 diabetes mellitus? A review from the European Depression in Diabetes (EDID) Research Consortium. *Discov Med* 2010; 9: 112–8.

12. Ronaldson A, Kidd T, Poole L, Leigh E, Jahangiri M, Steptoe A. Diurnal cortisol rhythm is associated with adverse cardiac events and

mortality in coronary artery bypass patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015; 100: 3676–82.

13. Maya J, Marquez P, Peñailillo L, Contreras-Ferrat A, et al. Salivary biomarker responses to two final matches in women's professional football. *J Sports Sci Med* 2016; 15: 365–71.

14. Schönfelder M, Hofmann H, Schulz T, Engl T, et al. Potential detection of low-dose transdermal testosterone administration in blood, urine, and saliva. *Drug Test Anal* 2016; 8: 1186–96.

15. Leicht CA, Paulson TA, Goosey-Tolfrey VL, Bishop NC. Salivary alpha amylase not chromogranin A reflects sympathetic activity: exercise responses in elite male wheelchair athletes with or without cervical spinal cord injury. *Sports Med Open* 2017; 3: 1.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)