

Kortisol i spytt ved sykdom i binyrene

Sammendrag

Bakgrunn. Kortisol i spytt gjenspeiler den frie og biologisk aktive fraksjonen i serum. Vi undersøkte nytten av måling av kortisol i spytt ved Cushings syndrom og binyrebarksvikt.

Materiale og metode. Publikasjoner om kortisol i spytt ble funnet ved litteratursøk i PubMed-databasen, med søkeord «salivary cortisol AND (Cushing's syndrome OR adrenal insufficiency)». Pasienter henvist til Haukeland Universitetssjukehus med mistanke om Cushings syndrom fikk målt kortisol i spytt mellom kl 22 og 24 parallelt med konvensjonell diagnostikk. Pasienter som fikk bedømt binyrebarkfunksjonen med synacthentest, fikk målt kortisol i spytt og serum parallelt.

Resultater. Kortisol i spytt målt sent om kvelden har sensitivitet og spesifisitet for påvisning av Cushings syndrom på nivå med andre screeningtester.

Fortolkning. Metoden er svært enkel, og vi anbefaler kortisol i spytt ved midnatt som førstehånds screeningmetode for Cushings syndrom. Metoden kan forenkles og forbedre diagnostikk og oppfølging av binyrebarksvikt.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

> Se også side 718

Kristian Løvås

kristian.lovås@helse-bergen.no

Eystein S. Husebye

Institutt for indremedisin

Universitetet i Bergen

og

Medisinsk avdeling

Haukeland Universitetssjukehus

Diagnostikk av sykdommer i binyrene er utfordrende, fordi den normale variasjonen i hormonnivåer er stor. Først og fremst gjelder det kortisol, som har en døgnvariasjon med høye nivåer tidlig på dagen og lave nivåer sent på dagen. I tillegg er kortisol et hormon som kan øke kraftig i stressituasjoner.

I likhet med andre steroidhormoner (som kjønnsormoner) og beslektede hormoner (thyreoideahormon og vitamin D) sirkulerer kortisol i blodbanen bundet til transportproteiner. Rundt 90% av kortisol er fast bundet til kortisolbindende globulin (CBG) og 5–10% løse bundet til albumin. Det er den frie fraksjonen av hormonene som er aktiv, siden kun fritt hormon kan passere cellemembranen og binde seg til intracellulære reseptorer. Ettersom nivået av bindeprotein varierer, har måling av totalt hormonnivå begrenset verdi uten samtidig måling av bindeprotein. I thyroideadiagnostikken brukes nærmest utelukkende fritt tyroksin, mens måling av frie steroidhormoner ikke er blitt alminnelig tilgjengelig.

Måling av kortisol i spytt er et praktisk og pålitelig alternativ til serummålinger. I spyttkjertlene foregår en ultrafiltrasjon av serum, der små molekyler diffunderer fritt mellom cellenes tette forbindelser (tight junctions). Steroidmolekyler er for store til å passere mellom cellene. Dermed finner man i spytt kun fettløselige steroider, som passerer cellemembranene. Konsentrasjonen av kortisol varierer ikke med mengde spytt, og gjenspeiler den frie fraksjonen av kortisol i serum svært bra (1). Analysen har vært mye brukt i psykologisk forskning, men har ikke vunnet stor plass i klinisk medisin. Mange undersøkelser har vist at analyse av kortisol i spytt kan utfordre etablerte metoder for å bedømme hypofyse-binyre-aksen. Vi presenterer her en gjennomgang av litteraturen og egne erfaringer med metoden.

Metode

Litteratursøk

Litteratur om kortisol i spytt ved diagnostikk av Cushings syndrom ble funnet ved søk i PubMed med søkeordene «salivary cortisol» og «Cushing's syndrome». Litteratur om kortisol i spytt ved bedømming av binyrebarksvikt ble funnet med søkeordene «salivary cortisol», «adrenal insufficiency», «adrenal failure» og «Addison's disease». For begge sykdomskategorier var søkene begrenset til artikler på engelsk og til studier der ti eller flere pasienter ble evaluert. For metodevurdering ble det søkt i PubMed med søkeordene «salivary cortisol» begrenset til

oversiktsartikler. Relevante referanser i artikkelens litteraturlister ble gjennomgått.

Målinger ved Haukeland

Analyse av kortisol i spytt ble etablert som rutineanalyse ved Hormonlaboratoriet, Haukeland Universitetssjukehus i 2004. Spytt samles med Salivette spyttør (Sarstedt, Nümbrecht, Tyskland) (fig 1). Pasientene instrueres om prøvetakingen som vist i ramme 1. I laboratoriet sentrifugeres røret og en klar spyttprøve samler seg i nedre kammer. Kortisol i spytt måles med ensymimmuntest (Active cortisol EIA for saliva, Diagnostic Systems Laboratories Inc., Webster, Texas), som er validert ved Haukeland Universitetssjukehus (2). Vårt referanseområde gjennom døgnet er basert på 20 friske personer i Bergen, med 6 nmol/l som øvre normalgrense, målt mellom kl 22 og 24. Intraassay- og interassay-variasjonskoeffisienter i konsentrasjonsområdet 2,8–8,3 nmol/l er 12,6% og 14,2%. For konsentrasjoner over 8,3 nmol/l er tilsvarende variasjonskoeffisienter 8,3% og 3,7%. Ifølge produsentens beskrivelse har analysen 7% medbestemmelse av kortison, og atskillig mindre av andre kortisolmetabolitter. Laboratoriet benytter samme takst for analyse av kortisol i serum og spytt (27 kr), mens analyse i urin er dyrere (79 kr).

Pasienter henvist til Medisinsk avdeling, Haukeland Universitetssjukehus med mistanke om Cushings syndrom ble screenet med kortisol i spytt mellom kl 22 og 24, parallelt med vanlig diagnostikk. Der det forelå gjentatte spyttprøver ble den laveste målte verdien benyttet i analysen. Diagnosen Cushings syndrom ble ansett som sikker der utredning med deksametason-suppresjonstester og radiologisk diagnostikk var positive og kirurgisk behandling planlagt eller utført. Pasienter som fikk utført synacthentest ved Haukeland Universitetssjukehus fikk rutinemessig målt kortisol i spytt og serum parallelt.



Hovedbudskap

- Kortisol i spytt reflekterer biologisk aktivt kortisol
- Kortisol i spytt ved midnatt er en enkel og god screeningtest for Cushings syndrom, verdier innenfor referanseområdet taler sterkt imot syndromet
- Kortisol i spytt kan anvendes til å tilpasse dosering av kortison ved binyrebarksvikt

Resultater

Cushings syndrom

En rekke undersøkelser har sammenliknet måling av kortisol i spytt om kvelden eller natten med vanlige metoder for påvisning av Cushings syndrom. Hovedresultatene er vist i tabell 1 (3–9). To studier sammenliknet sensitivitet og spesifisitet av kortisol i spytt med fritt kortisol i døgnurin (7, 9). Begge disse konkluderer med at kortisol i spytt er å foretrekke som screeningmetode av praktiske årsaker. Videre har flere studier vist at sensitivitet og spesifisitet kan økes ved å gjøre deksametasonsuppresjonstest med måling av kortisol i spytt neste morgen (1, 3, 6, 9, 10).

Figur 2 viser resultater ved bruk av kortisol i spytt ved utredning av 57 personer ved Haukeland Universitetssjukehus, hvorav 11 fikk diagnosen Cushings syndrom. Alle pasientene med Cushings syndrom hadde kortisol i spytt om kvelden over 10 nmol/l (laboratoriets referanseverdi < 6 nmol/l) da diagnosen ble stilt. En av disse var undersøkt tidligere, da med kortisol i spytt 6,1 nmol/l og negativ utredning for Cushings syndrom for øvrig. Spesifisiteten for enkeltmålinger av kortisol er imidlertid dårlig, med mange prøvesvar i området 6–10 nmol/l også blant de testede som ikke hadde Cushings syndrom. Sju personer med kortisol i spytt over 10 nmol/l fikk ikke påvist Cushings syndrom ved annen testing.

Binyrebarksvikt

Synachentest med måling av kortisol i spytt skilte bedre enn serummålinger mellom negativ og positiv binyrerespons etter standard 250 µg synachten, som vist i en studie (1). I de siste årene har to studier sammenliknet kortisol i spytt og serum ved synachentest, og spyttanalyser kommer fordelaktig ut (11, 12).

Ved Haukeland Universitetssjukehus ble kortisol i serum og spytt analysert parallelt etter 250 µg synachten intramuskulært hos 23 personer. Ti av disse hadde binyrebarksvikt bedømt med serummålinger (upublisererte data). Spyttmålingene viser 100 % samsvar med serummålingene dersom grenseverdien for normal kortisolrespons i spytt settes til 40 nmol/l.

Diskusjon

Diagnostikk av Cushings syndrom

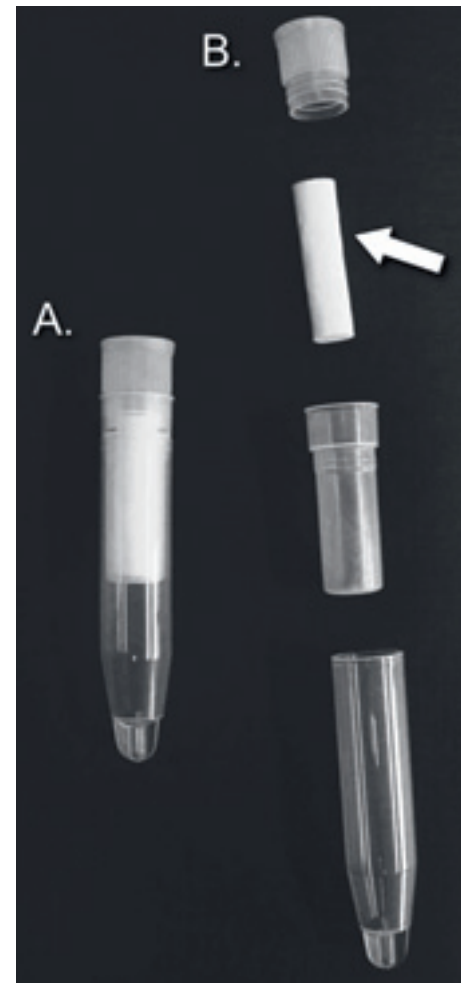
Trenger vi flere screeningmetoder for høyt kortisolnivå? Med epidemien av overvekt og type 2-diabetes opptrer ofte Cushings syndrom som differensialdiagnose. Ved moderne røntgendagnostikk påvises mange tilfelle svulster i hypofyse og binyrer med uvis betydning (såkalte insidentalomer). Blodprøvetaking om kvelden er upraktisk og kan i seg selv øke kortisolnivået. Måling av fritt kortisol i døgnurin er en god screeningmetode, men med risiko for innsamlingsfeil. En test som enkelt kan utelukke Cushings syndrom, er derfor ønsket. Måling av kortisol i spytt er en ypperlig screeningmetode, fordi prøvene kan tas utenfor sykehus og enkelt kan gjentas. Spyttprøver er spesielt velegnet

til cushingdiagnostikk hos barn (3). Publiserte undersøkelser (tab 1) og våre egne resultater viser at kortisol i spytt innenfor referanseområdet taler sterkt imot Cushings syndrom. Testresultat over referanseområdet bør følges opp med utredning som beskrevet av Evang og medarbeidere (13).

Kortisol er et stresshormon, og det er utenkelig at en kortisolprøve kan være 100 % spesifikk for Cushings syndrom. Eksempelvis vil alvorlige infeksjoner eller depresjon gi økte kortisolnivåer. Undersøkelser har vist at kvinner under østrogenbehandling har høyere nivå av fritt kortisol tidlig, men ikke sent på dagen (12, 14). Ved graviditet er fritt kortisol lett forhøyet mot slutten av svangerskapet, og referanseverdier må justeres til svangerskapets varighet (14). Våre resultater ga mange falskt positive funn dersom øvre referansenivå definerte positiv test. Dette kan skyldes at mange av prøvene er tatt av inneliggende pasienter med flere sykdommer. Inneliggende pasienter med forhøyet kortisol i spytt hadde også forhøyet kortisol i serum. For å redusere falskt positive testresultater anbefaler vi at det tas prøver minst to netter, hvor den laveste verdien tolkes som representativ.

Kortisol i spytt ved binyrebarksvikt

Binyrebarksvikt diagnostiseres ved påvisning av lavt kortisolnivå om morgenen. Adrenokortikotrop hormon (ACTH) er høy ved primær binyrebarksvikt (Addisons sykdom) (15) og lav ved sekundær binyrebarksvikt. Hvis de basale prøvene ikke gir sikker diagnose, utføres synachentest. Erfaringene tyder på at kortisol i spytt er minst like pålitelig som i serum ved slik testing. Synachentesten er blitt modifisert gjentatte ganger, og det er ingen enighet om utføring og tolking. Medikamenter som øker nivået av kortisolbindende globulin (østrogen, antiepileptika), vanskeliggjør tolkingen av testen. Nivået av kortisolbindende hormon (CBG) avtar ved kritisk sykdom og gjør tolkingen av kortisol i serum vanskelig (16). Den største gevinsten ved måling av kortisol i spytt ved diagnostikk av binyrebarksvikt er at feilkilden med variasjoner i CBG-nivået elimineres. Dessuten



Figur 1 a) Salivette-rør for samling av spytt og b) de ulike bestanddelene. Bomullstampongen er indikert med hvit pil. Nederst ses et samlerør hvor spyttet samles etter sentrifugering

forenkles selve utføringen av testen, både ved redusert behov for personell og mulighet for testing i primærhelsetjenesten.

Behandling av binyrebarksvikt er tidligere omtalt i Tidsskriftet (15). Hovedproblemet med slik behandling er at det ikke finnes gode effektmål. Ingen tablettbehandling gir normale døgnsvingninger av kortisol, og måling av kortisolnivåer har derfor begrenset verdi. Imidlertid er det variabel absorpsjon

Tabell 1 Spesifisitet og sensitivitet i studier av kortisol i spytt i kveldsprøve ved screening for Cushings syndrom

Forfatter, år (referanse)	Antall med Cushings syndrom	Spesifisitet (%)	Sensitivitet (%)	Grenseverdi (nmol/l)
Raff, 1998 (4)	39 voksne	97	92	3,6 ¹
Castro, 1999 (6)	30 voksne	88	100	4,8 ²
Martinelli, 1999 (3)	11 barn	95	100	7,7 ²
Papanicolaou, 2002 (5)	122 voksne	100	93	15,2 ³
Putignano, 2003 (7)	41 voksne	93	93	9,3 ¹
Yaneva, 2004 (8)	37 voksne	96	100	5,5 ⁴
Viardot, 2005 (9)	12 voksne	100	100	6,1 ⁴

¹ Radioimmunttest (RIA) (Diagnostic Products, California)

² Radioimmunttest (uspesifisert metode)

³ Radioimmunttest (Covance Laboratories, Østerrike)

⁴ Radioimmunttest (CIS Biointernational, Frankrike)

Ramme 1

Retningslinjer for samling av spytt for analyse av kortisol

- Generelle forutsetninger
 - ikke innta mat eller drikke siste halvtime før prøvetaking
 - ikke utfør tannstell siste halvtime før prøvetaking
 - ikke ta prøven etter sterk fysisk aktivitet
 - ikke ta prøven under infeksjonssykdom
- Screening for Cushings syndrom
 - Prøven tas etter sengetid, gjerne ved midnatt (bruk vekkerklokke)
 - Prøven kan oppbevares på nattbordet til neste morgen
 - Ta prøve minst to døgn, laveste verdi tolkes som representativ
- Praktisk prøvetaking (Salivette)
 - Bomullstampongen tygges eller suges til tampongen er gjennomvåt (minst ett minutt) og plasseres tilbake i røret
 - Prøven kan oppbevares i kjøleskap inntil tre døgn
 - Prøven kan sendes med vanlig post til laboratoriet

og metabolisme av kortison, og det kan være meningsfullt å få en oppfatning om dette. Det har vært anbefalt enkle kortisolkurver for å styre kortisolnivåene mot normale verdier. Vi har foreslått å benytte kortisol i spytt som en enklere og bedre metode for å tilpasse doseringen (2), på samme måte som det har vært gjort for å bedømme suppresjonsbehandlingen ved 21-hydroksylasesvikt (17). Om slik tilpassing av dosene bedrer livskvalitet og langtidsutsikter for pasienter med binyrebarksvikt, gjenstår å påvise.

Metodebetraktninger

Det er grunn til å anta at den største feilkilden ved måling av kortisol i spytt er unøyakt-

tighet ved spytt-samlingen. Spytt kan samles direkte i reagensrør eller ved å bruke spesiellagde spytt-samlingsrør. Nyere metoder for spytt-samling er å foretrekke, da de er enkle og hygieniske. Prøven kan tas når som helst, hvor som helst og av hvem som helst. En mulig feilkilde er blodtilblanding, etter-som konsentrasjonen av kortisol i blod er om lag 20 ganger høyere enn i spytt. Noe kortisol absorberes til bomullstampongen, med risiko for falskt lave målinger hvis volumet blir for lite (< 1 ml). Kortisol er svært stabilt, og innenfor en tidsramme på fem døgn fra prøvetaking til mottak i laboratoriet påvirkes analyseresultatet ubetydelig (18). Ved lengre tids lagring i romtemperatur kan bakterier føre til degradering av kortisol (19). Imidlertid er absorpsjon til bomull (20), blodtilblanding (21) og bakterier (19) mindre problematisk for analyse av kortisol enn andre steroider som for eksempel testosteron.

Ulike metoder for analyse av kortisol kan gi ulike referanseverdier (tab 1). Immunologiske metoder har begrensninger i spesifisiteten mot steroidmetabolitter med liknende struktur. Metoder for måling av steroider i spytt ved massespektrometri er under utvikling og vil sannsynligvis forbedre testegen-skapene.

Konklusjon

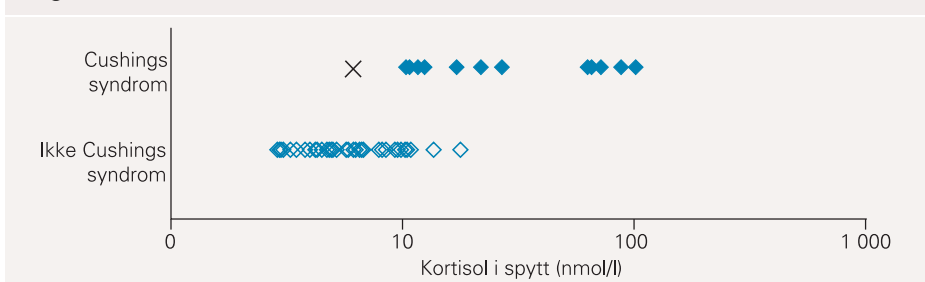
Måling av kortisol i spytt er en pålitelig screeninganalyse som gjenspeiler den frie og biologisk aktive fraksjonen av kortisol. Analysen er aktuell som alternativ til serum-kortisol i de fleste situasjoner. Vi anbefaler at kortisol i spytt erstatter kortisol i døgnurin som screeningmetode for Cushings syndrom.

Litteratur

1. Laudat MH, Cerdas S, Fournier C et al. Salivary cortisol measurement: a practical approach to assess pituitary-adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 343–8.
2. Løvås K, Thorsen TE, Husebye ES. Saliva cortisol measurement: simple and reliable assessment of the glucocorticoid replacement therapy in Addison's disease. *J Endocrinol Invest* 2006; 29: 727–31.

3. Martinelli CE jr., Sader SL, Oliveira EB et al. Salivary cortisol for screening of Cushing's syndrome in children. *Clin Endocrinol* 1999; 51: 67–71.
4. Raff H, Raff JL, Findling JW. Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2681–6.
5. Papanicolaou DA, Mullen N, Kyrou I et al. Night-time salivary cortisol: a useful test for the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4515–21.
6. Castro M, Elias PC, Quidute AR et al. Out-patient screening for Cushing's syndrome: the sensitivity of the combination of circadian rhythm and overnight dexamethasone suppression salivary cortisol tests. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 878–82.
7. Putignano P, Toja P, Dubini A et al. Midnight salivary cortisol versus urinary free and midnight serum cortisol as screening tests for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4153–7.
8. Yaneva M, Mosnier-Pudar H, Dugue MA et al. Midnight salivary cortisol for the initial diagnosis of Cushing's syndrome of various causes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3345–51.
9. Viardot A, Huber P, Puder JJ et al. Reproducibility of nighttime salivary cortisol and its use in the diagnosis of hypercortisolism compared with urinary free cortisol and overnight dexamethasone suppression test. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5730–6.
10. Barrou Z, Guiban D, Maroufi A et al. Overnight dexamethasone suppression test: comparison of plasma and salivary cortisol measurement for the screening of Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 1996; 134: 93–6.
11. Contreras LN, Arregger AL, Persi GG et al. A new less-invasive and more informative low-dose ACTH test: salivary steroids in response to intramuscular corticotrophin. *Clin Endocrinol* 2004; 61: 675–82.
12. Marcus-Perlman Y, Tordjman K, Greenman Y et al. Low-dose ACTH (1 microg) salivary test: a potential alternative to the classical blood test. *Clin Endocrinol* 2006; 64: 215–8.
13. Evang JH, Carlsen SM, Svartberg J et al. Endogenous Cushing's syndrome. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2006; 126: 599–602.
14. Meulenberg PM, Hofman JA. The effect of oral contraceptive use and pregnancy on the daily rhythm of cortisol and cortisone. *Clin Chim Acta* 1990; 190: 211–21.
15. Løvås K, Erichsen MM, Husebye ES et al. Primær binyrebarksvikt – årsaker, diagnostikk og behandling. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2005; 125: 155–8.
16. Hamrahan AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* 2004; 350: 1629–38.
17. Gröschl M, Rauh M, Dorr HG. Cortisol and 17-hydroxyprogesterone kinetics in saliva after oral administration of hydrocortisone in children and young adolescents with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1200–4.
18. Clements AD, Parker CR. The relationship between salivary cortisol concentrations in frozen versus mailed samples. *Psychoneuroendocrinology* 1998; 23: 613–6.
19. Whembolua GL, Granger DA, Singer S et al. Bacteria in the oral mucosa and its effects on the measurement of cortisol, dehydroepiandrosterone, and testosterone in saliva. *Horm Behav* 2006; 49: 478–83.
20. Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E et al. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology* 2001; 26: 165–73.
21. Kivlighan KT, Granger DA, Schwartz EB et al. Quantifying blood leakage into the oral mucosa and its effects on the measurement of cortisol, dehydroepiandrosterone, and testosterone in saliva. *Horm Behav* 2004; 46: 39–46.

Figur 2



Kortisol i spytt i kveldsprøve fra 57 personer utredet ved Haukeland Universitetssjukehus med spørsmål om Cushings syndrom. Åpne symboler representerer pasienter som ikke fikk påvist Cushings syndrom ved vanlig utredning. Lukkede symboler representerer pasienter med Cushings syndrom. X representerer en pasient som ikke fikk påvist Cushings syndrom da prøven ble tatt, men som senere har fått diagnosen

Manuskriptet ble mottatt 6.9. 2006 og godkjent 5.12. 2006. Medisinsk redaktør Kjetil Søreide