

*Aktuelne teme/
Current topics*

PRIMENA SALIVE KAO ALTERNATIVNOG
BIOLOŠKOG MATRIKSA U PRAĆENJU
TERAPIJSKIH KONCENTRACIJA LEKOVA

Correspondence to:

Doc. Dr sc. pharm. Snežana Đorđević,
Docent na Katedri za kliničku,
analitičku i eksperimentalnu toksikologiju
i farmakologiju VMA i docent
na Medicinskoj hemiji Visoke medicinske
škole, akademskih studija, VMA
Tel. 011/36-09-481
Mob.tel. 060-336-70-38
E-mail: ivezicnela@yahoo.com

APPLYING OF SALIVA AS AN ALTERNATIVE
BIOLOGICAL MATRIX IN THERAPEUTIC
DRUG MONITORING

Snežana Đorđević¹, Vesna Kilibarda¹,
Tomislav Stojanović¹

¹Centar za kontrolu trovanja, Vojno medicinska akademija, Beograd
²Specijalna bolnica za psihijatrijske bolesti „Dr Laza Lazarević“,
Beograd

Cljučne reči

uzorak salive, uzorkovanje, sekre-
cija, mehanizmi transporta leka

Key words

saliva sample, collection of saliva,
secretion, mechanism of drug transfer

Apstrakt

Krv (plazma, serum) i urin su uobičajeni biološki uzorci za kvalitativnu i kvantitativnu analizu većine lekova. Saliva je alternativni matriks koji je koristan u analizi lekova koji su nedavno upotrebljavani. Prikupljanje uzoraka salive je neinvazivno, a koncentracije lekova pokazuju veoma dobru korelaciju sa koncentracijama leka u plazmi u određenim uslovima.

U ovom radu prikazani su sastav salive i transport leka iz krvi u salivu. Diskutovani su mehanizmi transporta leka iz krvi u salivu. Prikazane su različite tehnike prikupljanja i analize uzoraka. Sumirane su metode za određivanje lekova u salivi i interpretacija dobijenih rezultata.

UVOD

Mnogobrojna istraživanja pokazala su da se osim seruma ili plazme i saliva može iskoristiti za praćenje terapijskih koncentracija velikog broja lekova. Ovi podaci su od izuzetnog značaja kada su u pitanju pedijatrijski bolesnici i novorođenčad, pošto je uzorkovanje salive neinvazivno, bezbolno i štedi krv.

Saliva je sekretorni proizvod pljuvačnih žlezda glave i usta. Međutim, tečnost iz usne duplje je smeša predominantno salive sa malim sadržajem gingivalne tečnosti, ćelijskih ostataka i krvi (1).

Tehnike koje koriste salivu kao uzorak postale su veoma važne u analitici lekova. Zbog toga što je lako dostupna i što se lako sakuplja, saliva pokazuje mnoge prednosti u odnosu na standardne biološke tečnosti kao što su krv i urin. Usled porasta interesovanja za neinvazivne tehnike, saliva je našla veliku primenu u analitici lekova i terapijskom i toksikološkom monitoringu. Na osnovu dosadašnjeg znanja o salivi kao biološkom materijalu, nivoi leka u salivi odražavaju nivo leka u drugim biološkim tečnostima, npr. u plazmi, što doprinosi boljoj interpretaciji rezultata u kliničkim i forenzičkim studijama.

Nedostaci primene salive u analitici

Saliva kao i druge biološke tečnosti može da sadrži infektivne agense i zato je potrebno oprezno rukovati uzorcima. Saliva sadrži mukopolisaharide i mukoproteine što je čini manje tečnom i težom za pipetiranje. Neki lekovi (diazepam, bromazepam), anksioznost ili neka druga patološka stanja mogu inhibirati sekreciju salive i izazvati suvoću u ustima i onemogućiti uzorkovanje. S obzirom na to da koncentracija leka u salivi zavisi od koncentracije leka u plazmi, lekovi koji imaju kratak poluživot su u salivi detektabilni samo u kratkom vremenu (1-2).

Hemijski sastav salive

Saliva je složena smeša vode, jona, enzima, glikoproteina, proteoglikana, imunoglobulina i bakteriostatskih supstanci koju produkuje veliki broj specijalizovanih žlezda. Najveću količinu salive produkuju parne velike pljuvačne žlezde – parotidna, submandibularna i sublingvalna, a manju količinu produkuju male pljuvačne žlezde – labijalne, bukalne, palatalne i lingvalne žlezde.

Sekretorna funkcija pljuvačnih žlezda je pod uticajem autonomnog nervnog sistema. Pod dejstvom parasimpatikusa izlučuje se bistra i retka serozna saliva, a pod dejstvom simpatikusa luči se manja količina gušćeg mukoznog sekreta (3).

Saliva, kao i druge telesne tečnosti, predstavlja razblažen vodeni rastvor koji sadrži elektrolite i proteine sa osmolalnošću koja je manja ili jednaka osmolalnosti plazme. Osmolalnost je određena tipom i sekretornom aktivnošću žlezda čiji stepen zavisi od pola, starosti, nutricionog statusa, emocionalnog stanja, godišnjeg doba, prisustva nekih bolesti i upotrebe lekova. Smanjenje salivarne sekrecije primećeno je kod upotrebe tricikličnih antidepresiva, a javlja se kao posledica njihovog antiholinergičkog dejstva. Terapijske doze i - selektivnih (atenolol) i neselektivnih - blokatora (propranolol) menjaju sastav elektrolita salive, ali bez uticaja na brzinu salivarne sekrecije (4).

Primećene su cirkadijalne varijacije nekih salivarnih komponenti, pH i brzine protoka, ali se ne zna tačno da li su ove promene endogene ili egzogene prirode (5).

Dnevno se sekretuje 500 do 1500 ml salive. U analitici lekova može da se koristi glandularna saliva i, češće, mešana saliva. U stvaranju mešane salive u normalnim uslovima 70 % učestvuju submandibularne, 25 % parotidne i 5 % sublingvalne i ostale pljuvačne žlezde. U toku stimulacije produkcija iz parotidnih žlezda se povećava za oko 50 % (1). U Tabeli 1 su upoređene komponente salive i plazme.

Tabela 1. Poređenje parametara salive i plazme

Parametar	mešana saliva	plazma
Zapremina (mL/dan)	500-1500	4,3% telesne mase
brzina sekrecije mL/min	0,6 (0,1-1,8)	
pH	6,7 (5,6-7,9)	7,4
voda %	98 (97-99,5)	91,5 (90-93)
ukupni proteini (g/100 mL)	0,3 (0,15-0,64)	7,3 (6-8)
albumin (g/100 mL)	-	4,5 (4-5)
mucin (g/100 mL)	0,27 (0,08-0,6)	-
aminokiseline	0,1-40	0,98
kalijum (mmol/L)	8-40	3,5-5,5
natrijum (mmol/L)	5-100	135-155
kalcijum (mmol/L)	1,5-2	4,5-5,2
fosfati (mmol/L)	5,5-14	1,2-2,2
hloridi (mmol/L)	5-70	100-106
suva supstanca (g/L)	6 (3,8)	80

Koncentracija ukupnih proteina u salivi je neznatna, svega 1% ukupnih proteina plazme. To znači da se analizom salive može odrediti koncentracija leka koja je ekvivalentna nevezanoj frakciji leka koja cirkuliše krvlju (6).

Mehanizmi prelaska lekova iz krvi u salivu

Za transport leka iz krvi u salivu odgovorni su pasivna transcelularna difuzija, ultrafiltracija i aktivni transport (7).

Pasivna transcelularna difuzija

Visoko liposolubilne supstance mogu da prođu zid kapilara i membrane acinarnih ćelija pri čemu lipidni sloj epitelnih ćelija čini polupropustljivu barijeru. Tako, salivarne koncentracije liposolubilnih nekonjugovanih steroida (estriol, kortizol, testosteron) odražavaju koncentracije slobodnog leka u plazmi, dok koncentracije hidrosolubilnih konjugovanih steroida (dehidroepiandrosteronsulfat) predstavlja svega 1% koncentracije slobodnog leka u plazmi.

Ultrafiltracija (paracelularni transport)

Mali polarni molekuli, kao što su glicerol i sukroza, ovim mehanizmom prelaze u salivu. Odnos koncentracije malih polarnih, hidrosolubilnih supstanci u salivi i plazmi

(S/P odnos) predstavlja funkciju njihovih molekulskih masa. Ovim mehanizmom transportuju se molekuli molekulske mase manje od 300 Da (8).

Aktivni transport

Dokazan je za mnoge lekove. Iako se očekivalo da se transportuje mehanizmom ultrafiltracije zbog male molekulske mase (7 Da), dokazano je da se transportuje aktivnim mehanizmom. Istraživanja su pokazala da sekrecija penicilina i tetraciklina u salivi zavisi od njihove koncentracije u plazmi i da se oni aktivnim transportom sekretuju u salivu (9).

Većina lekova transportuje se u salivu pasivnom difuzijom koja predstavlja transport lekova u smeru koncentracionog gradijenta bez utroška energije. Brzina difuzije lekova je funkcija koncentracionog gradijenta, veličine difuzione površine, propustljivosti membrane i difuzione konstante koja zavisi od fizičko-hemijskih osobina leka (10).

Tabela 2. Faktori koji utiču na pasivnu difuziju leka iz krvi u salivu (7).

svojstva leka	cirkulišući nivoi leka	svojstva salive
pKa vrednost	nivo leka koji nije vezan za proteine plazme	brzina protoka salive
liposolubilnost		pH salive
naelektrisanje i neutralnost molekula	doza i klirens leka	minimalne koncentracije proteina
molekulska masa i prostorna konfiguracija		enzimi salive koji učestvuju u varenju hrane

Koncentracija lekova u salivi zavisi od pKa i liposolubilnosti.

Hidrosolubilnost i liposolubilnost su važni faktori zbog toga što određuju lakoću sa kojom molekuli mogu da prođu lipidnu membranu acinarnih ćelija. Ukoliko je lek jonizovan pri fiziološkom pH, njegova lipofilnost je niža. Liposolubilni lekovi se obično metabolišu u polarnije, hidrosolubilne metabolite koji se izlučuju putem urina. Npr. fenitoin se metaboliše u jetri do parahidroksifenitoinglukuronida koji se neće pojaviti u salivi zbog toga što je delimično jonizovan i hidrosolubiln. Prednost ovoga bi se mogla videti u tome što bi se određivanjem nivoa fenitoina u salivi odredili nivoi samo aktivnog leka.

Molekulska veličina je važna za brzinu difuzije molekula leka.

Druga varijabla koja takođe utiče na proces pasivne difuzije je pH salive. Sa padom brzine salivarne sekrecije, primećen je porast koncentracije HCO₃⁻ sa pratećim porastom pH na 6,0 do 8,0 (5,7). Uticaj salivarnog pH na transport zavisi od pKa leka. Salivarni pH utiče na koncentraciju kiselog leka kada je njegova pKa vrednost niža od 8,5, a na bazne lekove kada je njihov pKa viši od 5,5.

Praćenje lekova u salivi ima veliki značaj za određivanje frakcije nevezanog leka u plazmi i salivi. Prema tome, trebalo bi da postoji linearan odnos između salivarne koncentracije i koncentracije nevezanog leka u plazmi.

Kiseli lekovi imaju niže koncentracije u salivi u odnosu na plazmu, a bazni više. Suprotan slučaj se javlja ukoliko je salivarni pH viši nego pH plazme, npr. nakon snažne stimulacije lučenja salive.

Za veliki broj polarnih lekova (propranolol, tolbutamid, prokainamid) odnos koncentracija leka u salivi i plazmi zavisi od pH salive. Međutim, pH vrednost nema uticaja na S/P odnose za neke lekove (fenobarbiton, karbamazepin).

Stimulisana saliva ima određene prednosti u odnosu na nestimulisanu: veća zapremina uzorka, pH gradijent između salive i plazme je manji, varijabilnost u S/P odnosu je smanjena, manji je broj suviše viskoznih uzoraka.

Pranje usne duplje pre uzorkovanja salive se preporučuje kod lekova koji se primenjuju oralno, da bi se odstranili kontaminanti i da se ne bi dobili veći rezultati. Ispitivanja koja su sprovedena na deci pokazuju da se saliva preporučuje u terapijskom praćenju koncentracija karbamazepina, fenobarbitona i fenitoina. Viskokopolarna jedinjenja i ona koja se vezuju u velikom procentu za proteine plazme su u malim koncentracijama prisutna u salivi (11).

Sakupljanje uzoraka salive

Jedna od prednosti analize uzoraka salive je to što se uzorkovanje obavlja pod nadzorom. Pre uzorkovanja salive pacijent ne treba da uzima hranu i piće niti da puši u trajanju od 10 do 15 min. Iskustvo je pokazalo da u toku 10 do 15 min. kontaminanti nestaju iz usne duplje gutanjem. Takođe, dokazano je da osoba ne može zadržati salivu u ustima duže od 3 min. bez gutanja ili balavljenja (12). Čišćenje usne duplje prilikom uzorkovanja nije potrebno, i ne redukuje nivo leka u salivi.

Za određivanje koncentracije lekova koristi se glandularna saliva koja se dobija pomoću kolektora ili kateterizacijom i mešana (cela) saliva, nestimulisana ili stimulisana (za stimulaciju lučenja pljuvačke koriste se žvakaća guma, limunska kiselina, vitamin C i sl.).

Prednosti korišćenja stimulisane salive su sledeće:

1. Može da se sakupi velika količina uzorka za kratko vreme,
2. pH vrednost stimulisane salive nalazi se u uskom opsegu vrednosti (oko 7,4), dok je vrednost nestimulisane salive veoma varijabilna što može značajno da utiče na lučenje slabo kiselih i/ili slabo baznih supstanci i
3. Može da se smanji interindividualna varijabilnost S/P odnosa, što je dokazano za digoksin (13).

Sa druge strane, moguće je da stimulacija lučenja salive utiče na nivo leka u njoj. Ni jedan fizički ili hemijski stimulan koji je upotrebljen tokom sakupljanja salive ne sme da adsorbira niti da modifikuje supstance koje se određuju. Npr. stimulacija sekrecije limunskom kiselinom može da prouzrokuje promenu pH vrednosti salive što dovodi do pogrešnih rezultata pri izračunavanju S/P odnosa (14).

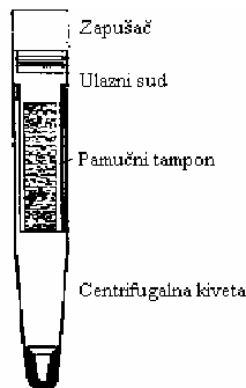
Mešana saliva može da se dobije klasičnim načinom sakupljanja – sakupljanjem više ispljuvaka ili korišćenjem komercijalnih metoda.

Danas postoje različiti komercijalni kitovi za prikupljanje uzoraka salive (15).

Cooper i saradnici su prvi upotreбили pamučni tampon (*dental cotton roll*) za sakupljanje uzoraka salive u monitoringu desipramina.

Njihov metod je pretrpeo neke promene, tako da je danas dental cotton roll dostupan kao Salivette®. Procedura sakupljanja je sledeća: bez stimulacije ili nakon stimulacije, žvače se pamučni tampon 30-45 s. Nakon što se natopi salivom, tampon se stavlja u posudu sa plastičnim zatvaračem, a zatim u tubu koja se centrifugira 3 min. na 1000 g.

Tokom centrifugiranja saliva prelazi iz tampona u donji deo tube. Posuda se izvadi iz tube, a čista saliva se odlije iz nje. Nedostatak Salivette® je taj što tampon pokazuje interferencije u toku određivanja nekih hormona i lekova, npr. testosterona (pamuk sadrži neku supstancu koja maskira efekat testosterona). Pamuk može da se zameni nekim drugim materijalom, ali do sada nije pronađen ni jedan inertan apsorbujući materijal koji je univerzalan za sva određivanja. Prednost Salivette® u odnosu na druge načine uzorkovanja salive je taj što ona apsorbuje relativno veliku količinu salive (1,5 ml) za kratko vreme (16).



Slika 1. Salivette® za sakupljanje salive

OraSure® takođe predstavlja uređaj za sakupljanje salive. Međutim, ovaj uređaj ima mnoge nedostatke: apsorbuje malu količinu salive (manje od 1mL) i apsorbuje više gingivalne tečnosti nego samu salivu obzirom da je tampon smešten između obraza i desni (17).

Oral-Diffusion-Sink (ODS) je uređaj koji se koristi za direktno sakupljanje ultrafiltrata salive. Ovaj aparat se smešta u usnu duplju, kontinualno (u jedinici vremena) sakuplja odgovarajuću količinu salive koja difunduje u uređaj u pravcu koncentracionog gradijenta. Koncentracioni gradijent se održava tako što odgovarajuća supstanca u unutrašnjosti uređaja vezuje analit i time održava njegovu koncentraciju na minimalnom nivou u odnosu na njegovu koncentraciju u salivi. ODS se pokazao naročito korisnim u istraživanjima supstanci koje se sekretuju pulzatивно (u epizodama), a brzo se razgrađuju (18).

U isto vreme razvijen je uređaj za direktno sakupljanje ultrafiltrata salive. Skupljanje salive se bazira na principu osmotske pumpe. Semipermeabilna membrana koja sadrži osmotski aktivnu supstancu (sukroza) uvlači ultrafiltrat salive u uređaj par minuta (1mL/5min). Upotreba ove metode eliminiše nekoliko problema koji se javljaju pri sakupljanju salive:

-smanjeno je stvaranje velike količine pene koja sadrži malo tečnosti

-konformnija je za pacijenta.

Najveća prednost obrade čistog ultrafiltrata u laboratoriji jeste njegov manji viskozitet u odnosu na salivu što olakšava samo određivanje (nema centrifugiranja, nema ekstrakcije, metoda je preciznija). Još jedna prednost ultrafiltrata je što eliminiše problem kontaminacije salive krvlju. Međutim, veliki nedostatak ovog uređaja je taj što je teško da se postigne odgovarajuća gustina tečnosti nakon sakupljanja zato što ultrafiltrat sadrži visoku koncentraciju sukroze. U zavisnosti od gustine uzorka, izračunava se korekcionni faktor pomoću koga se dobijaju prave vrednosti analita. Vreme uzorkovanja ultrafiltrata je veoma dugo (8 min.) u

poređenju sa vremenom uzorkovanja kod upotrebe Salivette® (45 s). Upotreba kolektora stimuliše sakupljanje salive. Zbog toga nije neophodna mehanička ili hemijska stimulacija lučenja koja može da interferira sa određivanjem analita, čak je i pH vrednost stabilna (19).

Analitičke metode za određivanje lekova u salivi

Preanalitička faza

Materijal mora adekvatno da se čuva ukoliko analiza ne može odmah da se izvede. Način čuvanja materijala zavisi od daljih postupaka pri određivanju. Većina uzoraka se zamrzava na -20°C. Neki analitičari predlažu centrifugiranje pre zamrzavanja, a neki posle odmrzavanja, a pre analize. Zamrzavanjem uzoraka salive na -40°C, bar 24 časa pre analize, ćelije i suspendovane čestice se istalože na dnu ostavljajući čistu tečnost čime je olakšana analiza. Istraživači su pokazali da sonifikacija salive daje znatno više nivoe većine steroida nego centrifugiranje. Pretpostavka je da se sonifikacijom uzoraka salive raspršuju neke nepoznate supstance koje interferiraju sa analizom. Drugi razlog za više nivoe je taj što se nakon centrifugiranja lek gubi vezujući se za ostatke ćelija, čestice ili mukoproteine. Postoji mogućnost rešavanja ovog problema korišćenjem proteolitičkog enzima. U forenzičkim ispitivanjima u kojima se saliva koristi primarno za serološke analize, praksa je da se uzorak, zajedno sa posudom-kontejnerom, stavi u kipuću vodu 15 do 30 min pre zamrzavanja. Samo u slučajevima kada je u salivi prisutna supstanca koja je isparljiva ili termolabilna, ovakva priprema uzorka se izbegava.

Mnogi autori koriste centrifugat bez predtretmana ili ekstrakt centrifugata (za ekstrakciju koristi se organski rastvarač odgovarajućeg pH) (35).

Imunološke metode

Imunološke metode koriste se za monitoring lekova u salivi i drugim telesnim tečnostima uglavnom zbog njihove jednostavne upotrebe, zbog toga što ne zahtevaju ekstrakciju, zbog pogodnosti za veliki broj analiza i zbog velike osetljivosti. Nedostatak je što ne mogu da zadovolje specifičan zahtev za jasno razlikovanje metabolita odgovarajućeg leka. Grupa naučnika se 1978. godine zainteresovala za određivanje hormona u salivi korišćenjem RIA (Radioimmunoassay) tehnike. Njihova istraživanja bila su praćena brojnim javnim dokazivanjima valjanosti RIA tehnike, pogotovo za analizu hormona u salivi kao što su estradiol, progesteron, testosteron, kortizol i kortizon. Određivani su i neki drugi lekovi ovom metodom (kokain, kanabinoidi, haloperidol, teofilin).

Upotreba alternativne imunološke analize koja ne koristi radionuklide – enzimski imunotehnika (Enzyme Multiplied Immunoassay Technique-EMIT) zasniva se na kompeticiji u vezivanju sa enzimski obeleženim specifičnim proteinom - antitelom. Aktivnost enzima je u vezi sa količinom leka u uzorku i meri se spektrofotometrijski. Iako je ova metoda veoma laka za upotrebu i ne zahteva primenu radionuklida, ne koristi se često za monitoring lekova u salivi zbog male osetljivosti za određene grupe jedinjenja. Kada se primenjuje EMIT tehnika, treba voditi računa da li je limunska kiselina bila korišćena u stimulaciji salivacije. Naime, limunska kiselina inhibira enzim glukoza-6-fosfat dehidrogenazu koji se primenjuje u ovoj metodi (35).

Pozitivne rezultate obavezno treba potvrditi i kvantifikovati nekom drugom analitičkom tehnikom koja podrazumeva spektralnu identifikaciju (8).

Hromatografske metode

Najčešće primenjivana tehnika u analizi salive je tečna hromatografija sa UV detekcijom, a za određivanje veoma niskih koncentracija lekova (u ng ili pg) mogu se koristiti tečna hromatografija sa masenom spektrometrijom (LC/MS) i gasna hromatografija u kombinaciji sa masenom spektrometrijom (GS/MS) (35).

U brojnim radovima su prikazane metode koje se mogu primeniti u rutinskom određivanju koncentracija antiepileptika i benzodiazepina (4,10,14,20,21).

U analizi uzoraka salive veoma je bitno odrediti i limite detekcije i kvantifikacije, posebno kod zloupotrebe lekova. Limit detekcije i kvantifikacije određuju i vremenski period u kome se mogu detektovati pojedine grupe lekova u salivi (8).

Interpretacija rezultata analize uzoraka salive

Pljuvačne žlezde imaju visok stepen perfuzije. U skladu sa time je i brz transfer leka iz krvi u salivu. Nakon nekoliko minuta od parenteralne primene lek se može pojaviti u salivi. Transport lekova i metabolita se vrši uglavnom pasivnom difuzijom i zavisi od mnogobrojnih faktora koji uključuju hemijska svojstva leka, stepen jonizacije, vezivanja za proteine plazme, karakteristike membrane, pH salive. Zbog toga što je saliva relativno kiselija u odnosu na plazmu, bazni lekovi će bolje prelaziti iz krvi i imaće veće koncentracije u salivi.

Interpretacija rezultata analize salive zahteva poznavanje samog biološkog matriksa, hemijskih i fizioloških faktora koji utiču na prelaz leka u salivu, farmakokinetike i metabolizma samog leka, analitičkih uslova i potencijalnih rizika vezanih za kontaminaciju i pasivnu ekspoziciju. Jasno je da se analiza salive može primeniti u analizi često upotrebljivanih lekova. Koncentracija leka u salivi odražava koncentraciju slobodne frakcije leka u krvi. Međutim, mora se voditi računa i o mogućnosti prisustva rezidua leka u usnoj duplji. Na distribuciju leka u salivu ima uticaj particioni koeficijent koji govori o rastvorljivosti leka u mastima i vodi. Lekovi koji imaju veći particioni koeficijent su bolje rastvorljivi u mastima i brže će se distribuirati u telesna tkiva i tečnosti. Na difuziju leka u salivu utiču i kiselinsko-bazna svojstva leka. Naime lekovi koji imaju veću pKa vrednost, odn. koji su bazniji u odnosu na pH krvi, bolje će prelaziti u salivu koja je nešto kiselija od krvi. Zbog toga je prilikom određivanja koncentracije nekog leka u salivi potrebno uzeti u obzir sve navedene faktore (8).

ZAKLJUČAK

Saliva je biološki materijal koji se uspešno može koristiti u praćenju koncentracija velikog broja lekova. Najveća prednost salive ogleda se u jednostavnom neinvazivnom uzorkovanju. S obzirom na to da koncentracije lekova u salivi dobro koreliraju sa koncentracijom leka u krvi koja je odgovorna za njegove efekte, ovaj uzorak ima poseban značaj u praćenju terapijskih koncentracija lekova kod pedijatrijskih bolesnika. Prilikom analize i tumačenja rezultata u obzir treba uzeti sve faktore koji bi mogli da utiču na koncentraciju leka da bi se izbeglo izdavanje pogrešnih rezultata.

Abstract:

The traditional biological samples for the qualitative and quantitative measurement of most drugs are blood (plasma, serum) and urine. Saliva is an alternative matrix that is useful for detecting recent drug use. Saliva collection is noninvasive and concentrations show a strong correlation with plasma drug concentrations under some circumstances. In this review are presented saliva formation and drug transport from blood to saliva. Mechanisms of drug transfer from blood to saliva are discussed. The existing techniques for the collection and analysis of saliva are reviewed. Finally, methods for determination of drugs and interpretation of results are summarized.

LITERATURA:

1. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material, 3rd edition, Pharmaceutical Press, London-Chicago, 2008.
2. Zaclikevis, M, D'Agulham A, Bertassoni L, Machado M, de Lima A, Gregio A, Azevedo-Alanis L, Effects of Benzodiazepine and Pilocarpine on Rat Parotid Glands: Histomorphometric And Sialometric Study, *Med. Chem.* 2009;5(1):74-78
3. Davenport H, Salivary secretion. In H. W. Davenport (Ed.), *Physiology textbook series. Physiology of the digestive tract: an introductory text* (Fourth ed., pp. 85-94). Chicago: Year Book Medical Publishers, 1977
4. Paxton J, Measurement of drugs in saliva: A review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1979;1(1):11-21
5. Cone E, Huestis M, Interpretation of Oral Fluid Tests for Drugs of Abuse, *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098:51-103
6. Gray J, Salivary testing for HIV-infection. *BMJ.* 1992;305(6857):834
7. Landon J, Mahmood S, Distribution of drugs between blood and saliva. In G. F. Read, D. Riad-Fahmy, R. F. Walker, K. Griffiths (Eds.), *Immunoassays of steroids in saliva: proceedings of the ninth Tenovus workshop*, Cardiff november 1982 (pp. 47-55). Cardiff: Alpha Omega Publishing Limited
8. Burgen A, The secretion of non-electrolytes in the parotid saliva, *J Cell Physiol.* 1956;48(1):113-138.
9. Borzelleca J, Cherrick H, The excretion of drugs in saliva, *J Oral Ther Pharmacol.* 1965;2(3):180-187
10. Paxton J, Donald R, Concentrations and kinetics of carbamazepine in whole saliva, parotid saliva, serum ultrafiltrate and serum, *Clin. Pharmacol Ther.* 1980; 28(5):695-702
11. Gorodischer R, Koren G, Salivary excretion of drugs in children: theoretical and practical issues in therapeutic drug monitoring, *Dev. Pharmacol. Ther.* 1992;19(4): 161-77
12. Jehanli A, Brannan S, Moore L, Spiehler V, Blind trials of an onsite saliva drug test, *J. Forensic Sci.* 2001;46(5):206-212
13. Heberlein A, Lenz B, Degner D, Kornhuber J, Hillemacher T, Bleich S, Methanol Levels in Saliva—A Non-Invasive Parameter That May Be Useful in Detection of Alcohol Intoxication, *Alcohol and Alcoholism* 2010;45(2):126-127
14. Danhof M, Breimer D, Therapeutic drug monitoring in saliva, *Clin Pharmacokin.* 1978;3:39-57
15. Langel K, Engblom C, Pehrsson A, Gunnar T, Ariniemi K, Lillsunde P, Drug testing in oral fluid-evaluation of sample collection devices, *J. Anal. Toxicol.* 2008;32(6):393-401
16. Höld K, De Boer D, Zuidema J, Maes R, Evaluation of the Salivette as sampling device for monitoring beta-adrenoceptor blocking drugs in saliva, *J Chromatogr Biomed Appl.* 1995;663(1):103-110
17. Thieme T, Yoshihara P, Piacentini S, Beller M, Clinical evaluation of oral fluid samples for diagnosis of viral hepatitis, *J Clin Microbiol.* 1992;30(5):1076-1079
18. Wade S, Haegele A, Time-integrated measurement of corticosteroids in saliva by Oral Diffusion Sink technology, *Clin Chem.* 1991;37(7):1166-1172
19. Schramm W, Paek S, Kuo H., Yang T, Ultrafiltrate of saliva collected in situ for the measurement of testosterone, *Anal Chim Acta.* 1991;248:517-528
20. Djordjević S, Kilibarda V, Stojanović T, Determination of carbamazepine in serum and saliva samples by high performance liquid chromatography with ultra violet detection, *Vojnosanit. Pregl.* 2009; 66 (5): 347-352
21. Djordjević S, Kilibarda V, Jovic-Stosic J, Zamurovic Lj, Curcic Dj, Davidovic M, Vucicnic S, Validation of high performance liquid chromatography with photodiode array detection method for determination of diazepam in saliva samples, *MD-Medical Data* 2012; 4(1): 11-16