Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol.51, No: 99, P: 13 - 18
Spring 2008

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
شماره ۹۹، سال ۵۱
بهار ۸۷، صفحه: ۱۳ – ۱۸

مقاله اصلی

ارتباط بین سطح سرمی و بزاقی هورمون کورتیزول

***مهشید هراتیان[۱] MD، رضا رجبیان[۲] MD، حسین آیت اللهی[۳] MD**

[۱] استادیار و فوق تخصص غدد، [۲] استاد و فوق تخصص غدد، [۳] استادیار آسیب شناسی

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۳ – تاریخ پذیرش: ۸۷/۳/۲۵

خلاصه

مقدمه: اندازه گیری کورتیزول بزاق، علی رغم اطمینان و ارزان بودن هنوز به صورت گسترده استفاده نمی شود. مفید بودن آن در بررسی فعالیت محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال در موارد مختلف کلینیکی اثبات شده است. مراکز مختلفی هنوز در مقابل استفاده از این روش مقاومت می کنند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط سطح سرمی و بزاقی هورمون کورتیزول با روش رادیو ایمونواسی (RIA) است.

روش کار: این مطالعه توصیفی مقطعی از شهریور ۱۳۸۴ لغایت اسفند ماه ۱۳۸۴ بر ۸۰ مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان قائم (عج) انجام شد. از ۳۸ مرد و ۴۲ زن با متوسط سن ۱۶/۵ ± ۴۶ سال با در نظر گرفتن شرایط ورود به مطالعه نمونه سرمی و بزاقی گرفته شد. نمونه های سرمی و بزاقی بین ساعت ۸ تا ۹ صبح جمع آوری شد. کورتیزول بزاق و کورتیزول تام سرمی به روش رادیوایمونواسی (RIA) اندازه گیری شد.

نتایج: میانگین کورتیزول سرم ۸/۳۵ ± ۱۹/۷۲ میکروگروم در دسی لیتر و میانگین کورتیزول بزاق ۰/۰۷ ± ۰/۱۸ میکروگرم در دسی لیتر محاسبه شد. همبستگی معنی داری بین میانگین کورتیزول سرم و بزاق وجود دارد (r=۰/۳۵ ، p=۰/۰۰۳).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد که اندازه گیری کورتیزول بزاق با روش رادیوایمونواسی (RIA) می تواند جایگزین اندازه گیری تام سرمی این هورمون شود. چرا که اندازه گیری بزاقی این هورمون نشانه قسمت آزاد و از نظر بیولوژیک فعال این هورمون است و نیز روش ساده غیر تهاجمی و بدون استرس می باشد.

کلمات کلیدی: سرم، بزاق، کورتیزول

*یزد – دانشگاه علوم پزشکی، تلفن: ۸۶۴۴۲۷۶ – نویسنده رابط
email: Haratian.m@gmail.com

مقدمه

تستهای آزمایشگاهی که در مورد مشکلات غدد درون ریز به کار می رود با مشکلات تشخیصی، هم پوشانی بین میزان های اندازه گیری شده، مشکلات روش جمع آوری نمونه، میزان حساسیت و اختصاصی بودن همراه بوده است. همواره هدف، پیدا کردن تستهای آزمایشگاهی ساده، ارزان، بدون تهاجم با سطح حساسیت و اختصاصی بودن بالا است.

در مورد تشخیص سندرم کوشینگ تستهای متعددی وجود دارد. همه این تستها همراه با نیاز به بستری شدن در بیمارستان و خون گیریهای متعدد است. و نیز این مسئله مطرح است که خود بستری شدن در بیمارستان و استرس خون گیری متعدد می تواند پاسخ تستها را مخدوش نماید (۱- ۳).

کورتیزول بزاق نشانه جزء کورتیزول فعال و آزاد بعد از اشباع CBG است. بنابراین به وسیله عواملی که در باند با پروتئین تأثیر می گذارد، اثر نمی پذیرد (۴). ۶-۳٪ کورتیزول توتال سرم است. جریان بزاق تأثیری در آن ندارد و سریعاً به دنبال تغییرات کورتیزول سرم به تعادل می رسد. در درجه حرارت اتاق تا حداقل ۷ روز قابل نگهداری است (۵).

مناسب بودن جمع آوری بزاق بدون استرس و با زندگی معمولی بدون بستری شدن و اینکه برای تعیین کورتیزول آزاد در سرم باید از متدهای گران دیالیز تعادلی و اولترافیلتراسیون استفاده شود، استفاده از این روش را بیشتر مطرح کرده است (۴).

مطالعات متعددی بر کورتیزول بزاق در بیماریهای خاصی مثل دیابت تیپ II یا تخمدان پلی کیستیک یا سندرم کوشینگ یا حالات فیزیولوژیکی مثل افزایش سن که سبب به هم خوردن محور هیپوتالاموس – هیپونیز – آدرنال می شود انجام شده است و همه مشخص کرده است که اندازه گیری کورتیزول بزاق می تواند روش مناسب و دقیقی برای تشخیص بیماری باشد (۶ – ۸).

مسئله دیگر پیک کورتیزول بزاق ۳۰- ۴۵ دقیقه بعد از بیدار شدن است و گرفتن نمونه در صبح می تواند روش مفیدی باشد (۹).

این روش می تواند به عنوان اولین خط تشخیص افزایش کورتیزول و به خصوص در مواردی مانند بچه ها و خارج بیمارستان انجام شود. (۱۰ – ۱۶). مطالعات نشان داده است که نگهداری بزاق در درجه حرارت اتاق تا یک هفته و چنانچه در درجه حرارت ۲۰- تا ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شود تا حداقل یک سال تغییری در غلظت بزاق ایجاد نمی کند (۱۷). در مطالعات متعدد جهت تشخیص کوشینگ انترمیتانت و نیز در موارد نا رسایی مزمن کلیه که نمی توان از جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته جهت کورتیزول ادرار، استفاده کرد روش بسیار مناسب و دقیقی است (۱۸ – ۲۲). در این مطالعه هدف، بررسی ارتباط بین کورتیزول سرم و بزاق بین ساعت ۸ و ۹ صبح می باشد.

روش کار

این مطالعه توصیفی مقطعی به مدت ۶ ماه در فاصله شهریور تا اسفند ۱۳۸۴ انجام شده است. افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان قائم در صورت تمایل با معیارهای ورود به مطالعه که شامل ناشتا بودن ۵-۶ ساعت و عدم مسواک زدن جهت نمونه گیری بزاق بود وارد مطالعه شدند. نمونه های سرم و بزاق در ساعت ۷-۸/۳۰ دقیقه صبح از افراد مورد مطالعه جمع آوری شد. معیارهای خروج از مطالعه شامل: ۱- ناشتا نبودن بیمار ۲- مسواک نزدن بیمار (در ۵-۴ ساعت اخیر) ۳- عدم داشتن بزاق (مواردی مثل سندرم شوکرن) ۴- وجود ژنژیویت بود. این مطالعه به صورت طرح پژوهشی با شماره ۸۴۱۵۵ و پس از اخذ مجوز کمیته اخلاق منطقه ای انجام شد، سپس از افراد اطلاعات اولیه شامل سن، جنس، قد، وزن و محاسبه B.M.I، سابقه بیماری و مصرف دارو گرفته شده و در پرسشنامه قید می شد. از کلیه افراد واجد معیارهای ورود به مطالعه، مقدار ۳- ۵ میلی لیتر بزاق و میزان ۵ میلی لیتر خون گرفته می شد. در نمونه گیری بزاق فرد دهان خود را با آب شستشو داده و بعد از ۵ دقیقه بزاق، را در لوله آزمایش جمع آوری می کرد. بر اساس روش نمونه گیری ساده تعداد ۸۰ نفر جهت نمونه گیری انتخاب شدند. جهت اندازه گیری کورتیزول سرم و بزاق از کیت Immunotech-czech republic با کنترل کیفی ۵/۸٪ Intra-assay CV و ۹/۲٪ Intera-assay CV استفاده شده است. جهت اندازه گیری کورتیزول بزاق و سرم از روش RIA استفاده شد. کیت مورد استفاده، کیت اندازه گیری کورتیزول سرم و ادرار بوده است که قابل استفاده برای بزاق با در نظر گیری curve استاندارد می باشد و در بررسی های دیگر نیز از همین روش استفاده شده است.

نمونه ها در دورسانتریفوژ ۱۵۰۰g و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ شدند و با دستگاه گاما کانتر در ۲ دقیقه نتایج بر حسب میکروگرم در دسی لیتر محاسبه شد. داده های حاصل از مشاهدات در پرسشنامه ها باکمک نرم افزار SPSS Version 11.5 به کمک روش های آماری تحلیلی شامل تی تست برای مقایسه متغیرهای کمی در دو نمونه در صورت توزیع طبیعی و آزمون غیر پارامتریک معادل و برای بررسی همبستگی در نمونه سرمی و بزاقی در صورت توزیع طبیعی از آزمون پیرسون، در صورت توزیع غیر طبیعی از آزمون اسپیرمن تجزیه و تحلیل داده ها ارائه شد.

نتایج

این بررسی بر۸۰ نفر انجام شد، که از این تعداد ۳۸ نفر مرد (۴۷/۵٪) و ۴۲ نفر زن(۵۲/۵٪) بودند.

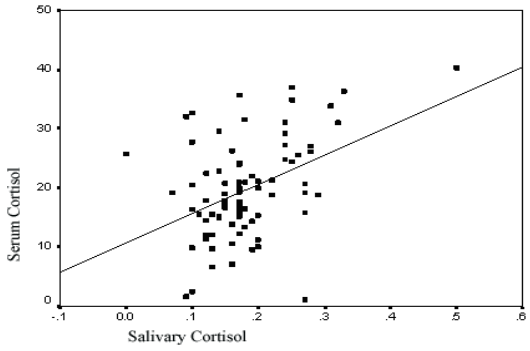
متوسط سنی آنها ۱۶/۵۰ ± ۴۵/۹۵ سال (محدوده ۱۹ تا ۷۴ سال) است. میانگین وزن بیماران ۱۳/۱۶ ± ۶۸/۰۵ کیلوگرم و میانگین B.M.I ۴/۶۷ ± ۲۶/۳۱ کیلوگرم در متر مربع بود که میانگین آن در مردان ۴/۴۰ ± ۲۵/۰۵ و در زنان ۴/۶۹ ± ۲۷/۳۸ کیلوگرم در متر مربع بود. میانگین کورتیزول سرم ۸/۳۵ ± ۱۹/۷۲ میکروگرم در دسی لیتر و میانگین آن در مردان ۸/۴۵ ± ۱۹/۶۶ و در زنان ۸/۳۵ ± ۱۹/۷۷ میکروگرم در دسی لیتر بود.

میانگین کورتیزول بزاق در کل افراد مورد مطالعه ۰/۰۷ ± ۰/۱۸ میکروگرم در دسی لیتر و میانگین آن در مردان ۰/۶۴ ± ۰/۱۸ و در زنان ۰/۰۸ ± ۰/۱۹ میکروگرم در دسی لیتر بود. اختلاف معنی داری از نظر میانگین سن در دو گروه دیده نشد (p=۰/۵ و T=۰/۷). در حالی که اختلاف معنی داری از نظر B.M.I در دو جنس وجود داشت (p=۰/۰۳ و r= -۲/۳).

اختلاف معنی داری از نظر میانگین کورتیزول سرم در دو جنس نشان داده نشد (p= ۰/۹۵ و t = -۰/۶). (جدول ۱).

همچنین اختلاف معنی داری بین کورتیزول بزاق در دو جنس (با آزمون آماری من ویتینی) مشخص نشد (p=۰/۴ و z = -۰/۷۸) میانگین کورتیزول سرم ۸/۳۵ ± ۱۹/۷۲ و بزاق ۰/۰۷ ± ۰/۱۸ میکروگرم در دسی لیتر بود.

آزمون آماری اسپیرمن همبستگی معنی داری بین میانگین سرمی و بزاقی کورتیزول افراد مورد مطالعه نشان داد (p= ۰/۰۰۱ و r = ۰/۳۵) (نمودار ۱).



نمودار ۱- رابطه کورتیزول سرم با بزاق

جدول ۱- بررسی متغیرها و ضریب همبستگی و p

متغیرها	ضریب همبستگی آزمون (r)	p
کورتیزول سرم و بزاق	۰/۳۵	۰/۰۰۱
کورتیزول سرم و سن	-۰/۲	۰/۸
کورتیزول بزاق و سن	-۰/۳۵	۰/۰۰۲
کورتیزول سرم و B.M.I	-۰/۳۴	۰/۰۰۳
کورتیزول بزاق و B.M.I	-۰/۲۸	۰/۰۱
کورتیزول سرم و بزاق در مردها	۰/۴۷	۰/۰۰۳
کورتیزول سرم و و بزاق در زن ها	۰/۲۲	۰/۱

بحث

با توجه به این که کورتیزول بزاق روش ساده و با ارزش جهت بررسی وضعیت کورتیزول و محور هیپوتالاموس – هیپوفیز – آدرنال است و میزان آزاد این هورمون را نشان می دهد، بررسی بزاق جهت اندازه گیری این هورمون می تواند روش مفید و با ارزشی باشد. اندازه گیری بزاقی می تواند به روش RIA باشد، چنانچه در این مطالعه نیز استفاده شده است، اما روش اندازه گیری هورمون آزاد در سرم روش گران با مشکل دیالیز تعادلی و یا اولترافیلتراسیون است، بنابراین مفید بودن بررسی بزاقی در این مطالعه مشخص می شود. کورتیزول بزاق نشانه جزء کورتیزول فعال و آزاد بعد از اشباع CBG است. بنابراین به وسیله عواملی که در باند پروتئینی تأثیر می گذارد اثر نمی پذیرد. کورتیزول آزاد ۳-۶٪ کورتیزول توتال سرم است و جریان بزاق تأثیری در غلظت آن ندارد و سریعاً به دنبال تغییرات کورتیزول

سرم به تعادل می رسد. روش جمع آوری آن می تواند در منزل و بدون بستری شدن و استرس، خون گیری انجام شود. نمونه بزاقی در درجه حرارت اتاق تا حداقل ۷ روز قابل نگهداری است (۴، ۵).

در تغییرات CBG به خصوص وقتی افزایش کورتیزول بیشتر از حد اشباع CBG است (بیشتر از ۵۰۰ نانومول در لیتر) می تواند مفید تر باشد (۴).

مسئله دیگر قابلیت نگهداری نمونه های بزاق جهت کارهای تحقیقاتی است. بررسی ها نشان می دهد که هیچ تغییری در غلظت بزاقی کورتیزول در نگهداری در درجه حرارت ۸ درجه سانتی گراد تا ۳ ماه و در ۲۰- تا۸۰- درجه سانتی گراد تا حداقل یک سال مشاهده نشده است. باز کردن جهت انجام آزمایش و یخ زدن مجدد تا ۴ ساعت نیز در غلظت کورتیزول بزاق تغییری ایجاد نمی کند (۱۷).

در این مطالعه نمونه گیری در صبح و در حالت ناشتا انجام شده است. با توجه به اینکه کورتیزول بزاق یک سیکل روزانه مشخص با پیک در صبح و کاهش در طول روز دارد، پیک کورتیزول بزاق ۳۰- ۴۵ دقیقه بعد از بیدار شدن است، بنابراین گرفتن نمونه بزاق در صبح می تواند روش مفیدی باشد (۷). در مطالعه ای نیز مشخص شده است که جمع آوری محدود بیشتر ارتباط با UFC داشته، تا نمونه هایی که به صورت گسترده تر و در فواصل طولانی تر انجام شده است (۷).

مسئله دیگر در جمع آوری نمونه ها کمپلیانس افراد در جمع آوری نمونه ها است که در مطالعه ای مشخص شده است که این کمپلیانس در بین افراد۷۰٪ و چنانچه آگاهی داده شود و تعداد نمونه گیری کمتر باشد، به ۹۰٪ می رسد (۲۳).

مسئله کمپلیانس در این نمونه گیری با توجه به این که نمونه گیری در آزمایشگاه و توسط فرد پژوهشگر جمع آوری می شد، برطرف گردیده است.

نمونه گیری در شرایط صبح ناشتا (از شب گذشته) که بیمار مسواک نزده باشد و در آزمایشگاه انجام می شد و نگهداری نیز در آزمایشگاه بود که این مسئله مطابق با انجام تحقیق در موارد دیگر بود (۴، ۵، ۲۴).

در بررسی انجام شده میانگین کورتیزول بزاق ۰/۰۷ ±۰/۱۸ میکروگرم در دسی لیتر بود و بین میانگین سرمی و بزاقی کورتیزول همبستگی معنی داری وجود دارد (p=۰/۰۰۱ و r=۰/۳۵).

در یک مطالعه بر ۷۳ بیمار با سندرم کوشینک و ۵۴ فرد کنترل با چاقی همه بیماران با سندرم کوشینک UFC بیشتر از ۹۰ میکروگرم در روز داشتند و غلظت بزاق نیمه شب بالای ۲ نانوکرم در میلی لیتر داشتند که حساسیت۱۰۰٪ و اختصاصی بودن ۹۶٪ را در مورد این تست مشخص می کند. اندازه گیری کورتیزول بزاق به عنوان روش ساده غیر تهاجمی و استاندارد طلائی برای تشخیص هیپرکورتیزولیسم می تواند به کار رود (۲۴).

در مطالعه ای در کلرادو آمریکا (بررسی ۱۲ نفر) همبستگی معنی داری بین کورتیزول سرم و بزاق وجود داشته است (p<۰/۰۰۱ و r=۰/۸۶). (۴) در مطالعه ای در دانمارک بر۱۲۰ نفر، مشخص شد که کورتیزول صبحگاهی بزاق ارتباط خوبی با کورتیزول سرمی دارد (۲۵). در موارد افزایش کورتیزول به این دلیل که کورتیزول نیمه شب (ساعت ۱۲-۱۱ شب) کمترین میزان را دارد، می تواند جهت غربالگری هیپر کوتیزولیسم به کار رود (۲۶).

در مطالعه ای در سوییس به این نتیجه رسیدند که اندازه گیری کورتیزول بزاق حساسیت۹۳-۱۰۰٪ در یک بار اندازه گیری دارد (۵). در مطالعه دیگر نیز این مسئله تأیید شده است (۲۷، ۲۸).

در این مطالعه، همبستگی معنی داری بین کورتیزول سرم با سن وجود نداشت (p=۰/۸ و r = -۰/۲)، اما ارتباط معنی داری بین کورتیزول بزاق با سن وجود داشت. با افزایش سن کورتیزول بزاق کاهش یافته است. (p=۰/۰۰۲ و r= -۰/۳۵) همین طور همبستگی معنی داری بین کورتیزول سرم با B.M.I (p =۰/۰۰۳ و r= -۰/۳۴) و کورتیزول بزاق با B.M.I (p= ۰/۰۱ و r= -۰/۲۸) وجود داشته است. در مطالعه دیگر که بر ۱۵۰ فرد با بیماری کوشینک و ۱۰۰ فرد سالم انجام شده است، به این نتیجه رسیده اند که کورتیزول بزاق با سن و وزن و قد ارتباط داشته و کورتیزول بزاق با افزایش سن بعد از ۶۰ سالگی به نسبت سن ۲۰-۶۰ سالگی کاهش داشته است (۲۹). در مطالعه دیگری ارتباطی بین کورتیزول بزاق با سن و جنس و B.M.I پیدا نکرده اند

(۲۵، ۳۰). بر اساس این مطالعه و بررسی آماری آن و فرمول $y = a + bx$ نسبت بین کورتیزول بزاق و سرم، فرمول کورتیزول سرم ۰/۰۰۴+ ۰/۱۰۸ = کورتیزول بزاق نیز به دست می آید.

نتیجه گیری

با توجه به این که کورتیزول بزاق قسمت آزاد این هورمون می باشد و تحت اثرعواملی که در بایندینگ پروتئین این هورمون (CBG) است، قرار نمی گیرد، و روش نمونه گیری بزاقی روش آسان، بدون تهاجم و استرس است و می تواند در محیط منزل نیز انجام شود و به خصوص در بچه ها که گرفتن نمونه خونی با مشکلات و استرس خاصی برای کودک همراه است، روش اندازه گیری این هورمون در بزاق می تواند مفیدتر از سطح سرمی آن در تشخیص بیماری ها و تحقیقات باشد. با توجه به همبستگی معنی دار بین سطح کورتیزول خون و بزاق در این بررسی، می توان توصیه کرد که جهت اندازه گیری سطح این هورمون از نمونه گیری بزاقی به جای سطح سرمی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

با تشکر از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشکده پزشکی مشهد که حمایت مالی این پژوهش را به عهده داشتند و با تشکر از کارکنان محترم آزمایشگاه بیمارستان قائم و جناب آقای دکتر محمد خواجه دلوئی که مشاوره آماری را به عهده داشتند.

****

References:

1- Stewart PM. The Adrenal Cortex. In: Larsen PR, Kronrenberg HM, Melmed S, Polonsky KS. Williams Textbook of Endocrinology 11th ed. Philadelphia: Saunders; 2008. 464-77.
2- Loriaux DL.Tests of Adrenocortical Function. In: Becker KL, Bilizikian JP, Bremner WJ, Hung W, Kahn CR, Loriaux DL, et al. Principles And Practice Of Endocrinology And Metabolism. 3rd ed.Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. 720-33.
3- Wlliams JH, Deluhy RG. Disorders of the Adrenal Cortex. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jamsson JL,. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th ed. New York: Mc Graw Hill; 2005. 2134-9.
4- Gozansky WS, Lynn JS, Laudenslager ML, Rohrt WM. Salivary cortisol determined by enzyme immunoassay is preferable to serum total cortisol for assessment of dynamic hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. Clin endocrinol 2005; 63: 336-341.
5- Viardot A, Huber P, Puder J, Zulewski H, Keller V, Muller B. Reproducibility salivary cortisol and its use in the diagnosis of hypercortisolism as compared to urinary free cortisol and overnight dexametazone suppression test. J Clin Endocrinol metab 2005; 90(10): 5730-5736.
6- Liu H, Bravata DM, Cabaccan J, Raff H, Ryzen E. Elevated late-night salivary cortisol levels in elderly male type 2 diabetic veterans. Clin endocrinol 2005 Dec; 63(6): 642-649.
7- Yehuda R, Halligan SL, Vang RK, Guo LS, Makotkine I. Relationship between 24-hour urinary free cortisol excretion and salivary cortisol levels sampled from awakening to bedtime in healthy subjects. Life sciences 2003; 73(3): 349-358.
8- Castro M, Elias LL, Elias PD, Moreira AD. A dose response study of salivary cortisol after dexametasone suppression test in Cushing's disease and its potential use in the differential diagnosis of Cushing syndrome. Clin Endocrinol 2003 Dec; 59(6): 800-5.
9- Simard M. The biochemical investigation of Cushing syndrome. Neuro Surg Focus 2004 Apr; 16(4): E4.
10- Putignano P, Toja P, Dubini A, Grald FP, Corsello SM, Cavagnini F.Midnight salivary cortisol versus urinary free and midnight serum cortisol as screening tests for Cshing's syndrome. J Clin Endocrinol 2003; 88(9): 4153-7
11- Lopez, Mondegar P, Fuentes M, Mauri M, Mora A. Salivary cortisol determination in the diagnosis of pediatric Cushing's disease. A pediatr. (Barc) 2006; 64(3): 270-272.
12- Castro M, Elias PG, Mortinelli CEJ, Antoniu SR, Santiago L, Moreira AD. Salivary cortisol as a tool for physiological studies and diagnostic strategies. Braz J Med Biol Res 2000 Oct; 33(10): 1171-5.
13- Gafni RI, Papaniolaou. DA, Nieman LK. Nighttime salivary cortisol measurement as a simple, non invasive, outpatient screening test for Cushing syndrome is children and adolescents. J pediatr 2000 Jul, 137(1): 30-5.
14- Martinelli CE Jr, Soder SL, Oliveria FB, Daneluzzi JC, Moreira AD. Salivary cortisol for screening of Cushing's syndrome in children. Clin Endocrinol 1999 Jul; 51(1): 67-71
15- Fogaca MD, Carvalho WB, Peres Cde A, Lora MI, Hayashi LF, Verreschi IT. Salivary cortisol as an indicator of adreno cortical function in healthy infants, using message therapy. Sao Paulo Med J 2005; 123(5): 215-218.

16- Kidd S, Midgley P, Nicol M, Smith J, Mclntosh N. lack of adult type salivary cortisol circadian rhythm in hospitalized pre term infants. Horm Res 2005; 64(1): 20-27
17- Garde AH, Hansen AM. Long term stability of salivary cortisol scand. J Clin Lab Invest 2005; 65(5): 433-36.
18- Raff OH, Raff JL, Find Ling JW. Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83(8): 2681-6.
19- Bals-pratsch. M, Hanker JP, Helhammer DH, Ludecks DK, Schlegel W, Schneidx HP. Intermittent Cushing's disease in hirsute women. Horm Metab Res 1996; 28(2): 105-10.
20- Mosnier-padar H, Thomopoulas P, Isertagna X, Fournier D, Guiban D, Luton JP. Long distance and long-term follow up of a patient with intermittent Cushing's disease by salivary cortisol measurements. Eur Endocrinol 1995; 133(3): 313-6.
21- Hermas AR, Pieters GF, Borm GF, Verhofstad AA. Unpredictable hypersecretion of cortisol in Cushing's disease detection by daily salivary cortisol measurements. Acta Endocrinol (Copenh) 1993. 128(5): 428-32.
22- Issa BG, Page MD, Read G, John R, Douglas-Jones A, Scanlon MF. Undetectable urinary free cortisol concentrations in a case of Cushing's disease. Eur J Endocrinol 1999; 142(2): 148-51.
23- Broderick JE, Arnold D, Rudielka BM, Kirschbaum C. Salivary cortisol sampling compliance. Comparison of patients and healthy volunteers. Psychoneuroendocrinol 2004; 29(5): 636-650.
24- Yaneva M, Mosnier-pudar II, Dugue MA, Grabai S, Falla Y, Bertagna X. midnight salivary. Cortisol for the initial diagnosis of cushing's syndrome of various causes. J Clin Endocrinol metab 2004 Jul. 89(7): 3345-51.
25- Hansen AM, Garde AH, Christensen JM, Eiler NH, Netter storm B. Evaluation of a radio immunoassay and establishment of a reference interval for salivary cortisol in healthy subjects in Denmark. Scand J Clin Lab Invest 2003; 63(4): 303-310.
26- Barrou Z, Guiban D, Maroufi A, Fournier C, Dugue MA, Luton JP, et al. Overnight dexamethasone suppression test: comparison of plasma and salivary cortisol measurement for the screening of Cushing's syndrome. Eur J Endocrinol 1996 Jan; 134(1):93-6.
27- Findling JW, Raff H. Diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am 2001 Sep; 30(3): 729-47.
28- Castro M, Elias PD, Quidate AR, Halah FP, Moreria D. Outpatient screening for Cushing syndrome: the sensitivity of the combination of circadian rhythm and overnight dexametasone suppression salivary cortisol tests. J Clin Endocrinol Metab 1999; 84(3): 878-82.
29- Trilck M, Flitsch J, Luedecke DK, Jung R, Petersenn S. Salivary cortisol measurement a reliable method for the diagnosis of Cushing's syndrome. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2005; 113(4): 225-230.
30- Ring JA, Rosal MD, Ma Y, Reed G, Kelly TA, Stanek EJ, et al. Sequence and seasonal effects of salivary cortisol. Behav Med 2000; 26(2): 67-73.