

SALIVA AS A DIAGNOSTIC MEDIUM FOR CERTAIN DISEASES

Sanja Nashkova

Faculty of medical science, “Goce Delcev” University, Stip, R. North Macedonia,
sanja.nashkova@ugd.edu.mk

Abstract: Saliva is a complex biological fluid with a variety of biomolecules, such as DNA, RNA, proteins, metabolites and microbiota, which can be used for the screening and diagnosis of many diseases. In addition, saliva has the characteristics of simple collection, non-invasive and convenient storage, which gives it the potential to replace blood as a new main body of fluid biopsy, and it is an excellent biological diagnostic fluid. In this review, we review research related to saliva diagnostics, including saliva content, techniques and processes related to saliva detection samples, and saliva detection studies in various diseases. The densities of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in people with high caries activity were much higher than those with low caries. *Porphyromonas gingivalis* has been confirmed to be closely associated with periodontitis. Currently, an ELISA kit has been developed to specifically detect *P. gingivalis* in saliva. Compared with qPCR, its detection rate is higher, and the sensitivity and specificity are as high as 92 - 96%, respectively. Therefore, it is expected to become an easy and rapid diagnostic tool for the detection of *P. gingivalis* and has great potential for rapid screening of periodontitis. Saliva contains various biological components, including DNA, RNA, proteins, microorganisms and metabolites, which are potential biomarkers. Biomarkers can reflect the physiological and pathological state of the body, which is an important basis for personalized medicine. Therefore, comprehensive analysis and identification of various components in human saliva will greatly help us to develop biomarkers related to human health and disease status, early identification of diseases, assessment of prognosis and disease risk, and monitoring the effect of treatment. Currently, more than 100 metabolites have been reported to be altered with the malignant progression of OSCC, such as lactate, choline, glutamate, histidine, sialic acid, and trimethylamine N oxide. Oral microorganisms play an important role in host health and disease. In recent years, some studies have shown that the change of oral microflora will destroy the balance between microorganisms and the human body, together with the influence of risk factors, leading to the occurrence of OSCC. Oral microorganisms, epithelial barrier, immune system, and chronic inflammation constitute the four important factors leading to oral cancer. Therefore, oral microorganisms are potential biomarkers for the early diagnosis of OSCC. The results show that the accuracy of the model is 95.70% and the sensitivity is 100%. This review integrates recent studies and summarizes the research contents of the research progress of saliva in early diagnosis of oral and systemic diseases. This review aims to explore the value and prospect of saliva diagnosis in clinical application.

Keywords: biomarkers, oral diseases, salivary diagnosis, systemic diseases

ПЛУНКА КАКО ДИЈАГНОСТИЧКИ МЕДИУМ ЗА ОДРЕДЕНИ ЗАБОЛУВАЊА

Сања Нашкова

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип,
Република Северна Македонија, sanja.nashkova@ugd.edu.mk

Резиме: Плунката е сложена биолошка течност со различни биомолекули, како што се ДНК, РНК, протеини, метаболити и микробиоти, кои можат да се користат за скрининг и дијагноза на многу болести. Покрај тоа, плунката има карактеристики на едноставно собирање, неинвазивно и практично складирање, што и дава потенцијал да ја замени крвта како ново главно тело на течна биопсија и е одлична биолошка дијагностичка течност. Во овој преглед, ги разгледуваме истражувањата поврзани со дијагностика на плунката, вклучувајќи ја содржината на плунката, техниките и процесите поврзани со примероците за откривање на плунка и студиите за детекција на плунка кај различни болести. Густината на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* кај луѓето со висока активност на кариес биле многу повисоки од оние со низок кариес. Со примената на технологијата за секвенционирање со висока пропусна моќ во микробиомот, се очекува микрорганизмите во плунката да станат потенцијални маркери. Потврдено е дека *Porphyromonas gingivalis* е тесно поврзан со пародонтопатија. Во моментот, развиен е комплет ELISA за специјално откривање на *P. gingivalis* во плунката. Во споредба со qPCR, неговата брзина на откривање е поголема, чувствителноста и специфичноста се високи до 92 - 96%, соодветно. Оттука, се очекува да стане лесна и брза дијагностичка алатка за откривање на *P. gingivalis* и има голем потенцијал за брз скрининг на пародонтопатија. Плунката

содржи различни биолошки компоненти, вклучувајќи ДНК, РНК, протеини, микроорганизми и метаболити, кои се потенцијални биомаркери. Биомаркерите можат да ја рефлектираат физиолошката и патолошката состојба на телото, што е важна основа на персонализираната медицина. Затоа, сеопфатна анализа и идентификација на различни компоненти во човечката плунка во голема мера ќе ни помогне да развиеме биомаркери поврзани со човековото здравје и статусот на болеста, рана идентификација на болести, проценка на прогнозата и ризикот на болеста и следење на ефектот од третманот. Во моментов, пријавено е дека повеќе од 100 метаболити се менуваат со малигната прогресија на OSCC, како што се лактат, холин, глутамат, хистидин, сиалична киселина и триметиламин N оксид. Оралните микроорганизми играат важна улога во здравјето и болеста на домаќинот. Во последниве години, некои студии покажаа дека промената на оралната микрофлора ќе го уништи балансот помеѓу микроорганизмите и човечкото тело, заедно со влијанието на факторите на ризик, што ќе доведе до појава на OSCC. Оралните микроорганизми, епителната бариера, имунолошкиот систем и хронично воспаление ги сочинуваат четирите важни фактори кои водат до орален карцином. Затоа, оралните микроорганизми се потенцијални биомаркери за рана дијагноза на OSCC. Резултатите покажуваат дека точноста на моделот е 95,70%, а чувствителноста е 100%. Овој преглед ги интегрира неодамнешните студии и ги сумира истражувачките содржини на плунката и истражувачкиот напредок на плунката во раната дијагноза на орални и системски заболувања. Овој преглед има за цел да ги истражи вредноста и изгледите за дијагноза на плунка во клиничка примена.

Клучни зборови: биомаркери, орални заболувања, плунковна дијагноза, системски заболувања.

1. ВОВЕД

Традиционално, лекарите обично треба да изведат голем број тестови, како што се испитувања на крвта, урина и др., за да помогнат во дијагностицирањето и одредувањето на видот на болеста. За некои посложени болести, дијагнозата треба да ја идентификуваат патолозите преку заболени ткива добиени со биопсија, што е исто така златен стандард за дијагностицирање на повеќето туморски заболувања. Сепак, ткивната биопсија има и многу неповолни страни. Пред сè, треба да се земе дел од ткивото од пациентот, што ќе предизвика одредена траума на пациентот. Течната биопсија открива и анализира различни биолошки телесни течности наместо ткивна биопсија. Во моментов, повеќето од течните биопсии земаат крв како главен предмет за тестирање, а повеќето тестирани болести се тумори. Технологијата со висок пропуст се користи за откривање на циркулирачките клетки на туморот, циркулирачка слободна ДНК, циркулирачка ДНК на туморот и егзозоми во периферната крв и за евалуација на геномика, транскриптом и протеомика за да се обезбеди помошна дијагноза за болестите. Некои студии покажале дека другите телесни течности, како што се плунката, цереброспиналната течност и плевралната течност, може да содржат повеќе биолошки информации од крвта и да содржат многу сигурни маркери, кои можат да се користат за откривање на разни болести. Плунката ги има предностите на неинвазивна и исплатлива, но содржи и широк спектар на протеини, ДНК, РНК, различни метаболити и микрофлора, кои можат да се користат како молекуларни биомаркери за рано откривање, следење на болестите и водење на индивидуална и прецизна терапија.

Во овој преглед, ги разгледуваме истражувањата поврзани со дијагностика на плунката, вклучувајќи ја содржината на плунката, техниките и процесите поврзани со примероците за откривање на плунка и студиите за детекција на плунка кај различни болести.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДОЛОГИЈА

Плунката главно се излачува од три главни жлезди во усната празнина (паротидната, субмандибуларната и сублингвалната жлезда), а секретираат и малите плунковни жлезди распоредени низ оралната празнина. Дополнително, во составот на плунката се вклучени гингивалната течност, оралниот мукозен ексудат, леукоцитите, епителните клетки и многу микроорганизми. Ацинусите на плунковните жлезди се многу пропустливи и опкружени со богати капилари. Затоа, електролитниот состав на плунката е сличен на оној на плазма ултрафилтратот. Плунката е пенлив, малку заматен, хипертоничен раствор, малку кисел (pH=6,6–7,1), без мирис, со специфична тежина од 1,004–1,009, 94–99% составен од вода, а содржи и мал дел од органски соединенија (како што се муцин, глобулин, плунковна амилаза, урична киселина, лизозим, млечна киселина, лактоферин, кортизол и цитокини) и некои неоргански соединенија (како натриум, калиум, калциум, хлорид, тиоцијанат, бикарбонат и фосфат). Паротидната жлезда лачи серозна плунка, додека сублингвалната жлезда произведува мукозна плунка. Субмандибуларната жлезда е мешана жлезда, но главно лачи мукозна плунка. Здравите возрасни лица можат да произведуваат 1,0-1,5 L плунка дневно, со просечна стапка на проток од 0,3-0,5 mL во минута. Секрецијата на плунката е под влијание на многу фактори. Мирисот, вкусот, возраста, менталната состојба, оралната хигиена, лековите и вежбањето на телото може да го стимулираат лачењето на плунка.

Плунката, како дел од ендокриниот систем, е тесно поврзана со крвта, а повеќето компоненти се проникнуваат од крвта. Компонентите во крвта можат да навлезат во плунката со дифузија, активен транспорт или екстрацелуларна ултрафилтрација. Малите молекули можат пасивно да се дифузираат од крвта до ацинарните клетки, на кои влијае големината и полнежот на овие молекули. Од друга страна, протеините во крвта можат активно да се транспортираат со врзување на рецепторот на лигандот. На пример, IgA секретираниот од Б-клетките може да се ослободи во плунката со врзување за рецепторите на ацините. Покрај тоа, биомолекулите во крвта можат да влезат во плунката со ултрафилтрација. Стероидите можат да мигрираат низ јазот помеѓу ацинусите и дукталните клетки, а молекулите помали од 1900 Da (како што се вода, катехоламини, јони) може да се пренесат преку јазните спојки помеѓу секреторните единици. Некои студии покажаа дека биомолекулите поврзани со болеста во крвта на крајот можат да влезат во плунката. Затоа, плунката, како и крвта, може да се користи како „огледало“ за да ја одрази физиолошката и патолошката состојба на телото.

Плунката содржи различни биолошки компоненти, вклучувајќи ДНК, РНК, протеини, микроорганизми и метаболити, кои се потенцијални биомаркери. Биомаркерите можат да ја рефлектираат физиолошката и патолошката состојба на телото, што е важна основа на персонализираната медицина. Затоа, сеопфатна анализа и идентификација на различни компоненти во човечката плунка во голема мера ќе ни помогне да развиеме биомаркери поврзани со човековото здравје и статусот на болеста, рана идентификација на болести, проценка на прогнозата и ризикот на болеста и следење на ефектот од третманот.

3. РЕЗУЛТАТИ

Клиничка примена на плунковни биомаркери

Карлес

Микроорганизмите се важна причина за забен карлес. Колонизацијата, пролиферацијата и метаболизмот на кариогените бактерии, особено *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus*, се широко користени за да се идентификуваат индивидуите склони кон карлес. Со примената на технологијата за секвенционирање со висока пропусна моќ во микробиомот, се очекува микроорганизмите во плунката да станат потенцијални маркери. Јанг и сор. работеле на секвенционирање на 16S rRNA. Резултатите покажале дека родот *Prevotella* значително се зголемил кај активната група за карлес, разликувајќи ја микробиотата на карлесот од здравите индивидуи. Резултатите се исто така вкрстени со податоци за длабоко секвенционирање базирани на цел геном. Уште поважно, сугерирале дека една промена на микроб не е доволна за да се идентификува карлес, туку таа треба да се потврди со променливата структура на целиот микробиом. Покрај тоа, промените на електролитите во плунката, исто така, може да се користат како предвидувачи на карлес и може да се комбинираат со микробиомот за да се конструира дијагностички модел.

Пародонтални заболувања

Патогените бактерии и воспалителните цитокини се значајни фактори за предвидување на пародонталната болест. Потврдено е дека *Porphyromonas gingivalis* е тесно поврзан со пародонтопатија. Во моментот, развиен е комплет ELISA за специјално откривање на *P. gingivalis* во плунката. Во споредба со qPCR, неговата брзина на откривање е поголема, чувствителноста и специфичноста се високи до 92 - 96%, соодветно. Оттука, се очекува да стане лесна и брза дијагностичка алатка за откривање на *P. gingivalis* и има голем потенцијал за брз скрининг на пародонтопатија. Сепак, повеќето студии се фокусираа на откривање на воспалителни цитокини во пародонталната болест како дијагностички маркери. Покрај бактериите и воспалителните цитокини, микро РНК и егзосомите исто така се пријавени како одредена вредност во дијагностиката на пародонтопатија.

Сјогренов синдром (SS)

Намалувањето на брзината на протокот на плунка и промената во составот на плунката се важни манифестации на прогресијата на SS. Овие симптоми може да доведат до сериозни компликации како што се забен карлес, пародонтална болест и инфекција со *Candida albicans*. Хиперактивноста на Б-клетките изразена како хипергамаглобулинемија, постоењето на неколку серумски авто-антитела и активирањето на патеката на интерферон тип I (IFN-1) се имунопатогени механизми на SS, кои водат до прекумерно производство на имуноглобулин. Покрај тоа, секреторната функција на плунковните жлезди е нарушена, поради што се менува профилот на плунковниот протеин кај пациентите со SS. Ли и сор. најде ненормално висока експресија на растворлив имуноглобулин што врзува за салична киселина како лектин (сиглек-5) во серумот и плунката на пациенти со SS. Потоа се истражувала корелацијата помеѓу нивото на сиглек-5 во плунката на пациентите со SS и клиничкиот параметар. Резултатите покажаа дека нивото на сиглек-5 е негативно поврзано со стапката на проток на плунка, но позитивно корелирано со резултатот од скалата за

сува уста (XI). Во групата за верификација, чувствителноста и специфичноста на siglec-5 во разликувањето на пациентите со SS од пациентите кои не се со SS беа 64,4 и 77,8%, соодветно.

Лихен планус (LP)

Абнормалното активирање на имунолошкиот систем е важен механизам за појава и развој на LP. Затоа, различни сигнални молекули во патеката на имунолошкиот систем може да бидат потенцијални биомаркери за дијагностицирање на LP. Лиу и сор. откри дека IL-4 е значително зголемен, додека IFN- γ се намалил во плунковниот примерок на пациенти со LP. IL-4 и IFN- γ се главните цитокини на Th1 и Th2 клетките, соодветно. Овој резултат е конзистентен со феноменот дека Th2 клетките се доминантни во плунката на пациентите со LP. Тие исто така го одразуваат потенцијалот на IL-4 како биомаркер за откривање на сериозноста на LP. Дополнително, исто така е пријавено дека други воспалителни цитокини како што се IL-1, IL-6, IL-8 и TNF- α во плунката може да се користат како биомаркери за дијагноза и прогноза на LP. Од друга страна, оксидативниот стрес и нарушената антиоксидантна одбрана се исто така можни причини за LP. Многу студии покажаа дека нивоата на молекулите на оксидативниот стрес како што се липидниот пероксид малондиалдехид, 8 хидрокси-деокси (8-OHdG) и азотен оксид (NO) во плунката на пациентите со LP се значително зголемени. Иако ниту една студија не ја покажала врската помеѓу концентрацијата на овие супстанции во плунката и сериозноста на LP, тие имаат потенцијална улога во следењето на напредокот на болеста.

Орална леукоплакија (OLK)

Претходни студии покажаа дека нивото на IL-6 и TNF- α во плунката на пациентите со OLK се значително повисоки од оние на здравите луѓе, што може да се користи како потенцијални биомаркери на OLK. Сепак, многу податоци не покажуваат значајна разлика помеѓу TNF- α и IL во плунката на здрави индивидуи и пациенти со OLK, дури и намалена. Покрај цитокините, други плунковни протеомски студии објавија можни маркери. Сивадасан и сор. користеле течна хроматографија и тандем масена спектрометрија (LC-MS/MS) за да ги анализираат протеинските компоненти во примероците од плунка на здрави контроли, пациенти со леукоплакија, пациенти со OSCC со негативни и позитивни метастази во лимфните јазли. Резултатите покажаа дека S100A7, S100P, CD44 и COL5A1 се зголемил кај пациенти со леукоплакија и пациенти со тумор. Последователно, преку откривањето на овие протеини во редот за верификација со ELISA, беше откриено дека CD44, S100A7 и S100P може да разликуваат диспластична леукоплакија од нормални луѓе со висока чувствителност (CD44: 91,67%; S100A7: 81,82P: 810%; S1. %), но релативно ниска специфичност (S100A7, S100P: 72,73%; CD44: 54,55%). Резултатот сугерирал дека нивоата на плунката на овие протеини може да се користат како потенцијални маркери за предвидување на пациентите со OLK, но потребно е дополнително проширување на примерокот и клиничка верификација.

Орален карцином (OSCC)

Долгорочниот директен контакт помеѓу плунката и оралното ткиво може подобро да ги одрази информациите за оралните болести, што е исто така причина зошто раниот скрининг и дијагноза на плунка станаа жариште за истражување во OSCC. Во моментов, постојат многу висококвалитетни дијагностички маркери за плунка во OSCC, вклучувајќи геном, транскриптом, протеом, метаболичка група и микробиом. Генската мутација е еден од маркерите за канцерогена прогресија, а мутацијата на генот специфичен за карцином може точно да ги разликува сите видови тумори. Мутираната ДНК може да тече во различни телесни течности, вклучувајќи ја и плунката, која е основа на геномот на плунката. Лезиите на пациентите со OSCC се во плунката долго време, а ослободените фактори или ексфолираните клетки исто така стануваат компоненти на плунката. Затоа, плунковната геномика има природна предност во раниот скрининг и дијагноза на OSCC. Престон и сор. откри дека HOXA9 и NID2 во примероците од плунка можат да разликуваат помеѓу пациентите со OSCC и здравите лица, со одредена чувствителност (75 и 87%) и специфичност (53 и 21%). AUC е 0,75 и 0,73, што може да се користи за рано откривање и следење на пациенти со OSCC. Нагата и сор. го анализирале статусот на метилација на гените во плунковните примероци од пациенти со OSCC и здрави луѓе. Утврдено е дека нивото на метилација на ДНК на 8 гени е значително зголемено во групата OSCC. Статусот на метилација на комбинацијата на ECAD, TMEFF2, RAR β и MGMT покажала висока чувствителност (100%) и специфичност (87,5%) во откривањето на OSCC. Шанмугам и сор. дизајнирале прилагоден панел за секвенционирање на следната генерација со уникатен молекуларен идентификатор кој ги покрива кодовите на седум често мутирани гени (CASP8, PIK3CA, FAT1, CDKN2A, NOTCH1, HRAS и TP53) во OSCC. Се користело за откривање примероци од плунка од пациенти со OSCC, а резултатите покажале стапка на детекција од 95,87%. Ова покажува дека целната техника на секвенционирање на следната генерација е изводлива и има добра перспектива во раниот скрининг и дијагноза на OSCC. Имено, во овие студии, примероците од плунка беа собрани со солена вода за да се намали разградувањето на слободната ДНК во плунката, што може да ја зголеми содржината на ДНК во

примероците колку што е можно повеќе. МикроРНК е стабилна во биолошките течности и диференцијално изразена кај сите видови на карцином. Тоа е најчесто користен маркер за анализа во транскриптомот. Неодамна, Романи и сор. земале плунка од пациенти со нетретирани примарна OSCC и здрави лица, скрининг на диференцијално изразената miRNA преку анализа на микросредина, користејќи RT qPCR за валидација. Во комплетот, плунката на пациентите со OSCC има високи нивоа на miR-106b-5p, miR-423 5p и miR-193b-3p. Точноста на miR-106b-5p, miR-423-5p и miR-193b-3p како дијагностички биомаркери беше оценета со логично предвидување на моделот. Резултатите покажаа дека комбинацијата од трите со одлична чувствителност (0,974) и специфичност (0,942), а AUC беше 0,98. Резултатите во сетот за валидација, исто така, го потврдија овој резултат, што покажува дека комбинираната примена на miR-106b-5p, miR-423-5p и miR 193b-3p може да се користи како биомаркери за откривање и дијагноза на OSCC. Покрај микроРНК, како дијагностички маркери може да се користат и други РНК. Ли и сор. идентификувале 7 транскрипти (DUSP1, H3F3A, IL1B, IL8, OAZ1, S100P и SAT) нагоре регулирани во примероците од плунка на пациенти со OSCC, што може да ги разликува пациентите со OSCC од здравите контроли. Танг и сор. откриле дека сите OSCC примероци од плунка содржеле lncRNA MALAT 1, што покажува дека lncRNA во плунката може да се користи и како потенцијален маркер за OSCC дијагноза. Абнормална експресија на протеини често се јавува во процесот на појава и развој на туморот. Овие протеини обично влегуваат во крвотокот и може да се откријат во рана фаза. Плунката содржи повеќе од 2000 видови на протеини, слични по состав на оние во плазмата, од кои повеќето се извори на крв. Туморскиот антиген CA15-3 и маркерите на туморски протеин CA-125, c-erbB2 и p53 во плунката претставуваат зголемена експресија кај орален карцином и други малигни тумори, кои можат да се користат како биомаркери. Ју и сор. ја откри и анализираше плунката од здрави луѓе, пациенти со орални потенцијално малигни нарушувања (OPMD) и пациенти со OSCC со LC-MS во комбинација со повеќекратно следење на реакции (MRM). MMP1, KNG1, ANXA2 и HSPA5 беа избрани од диференцијално изразените протеини за да се формира дијагностичкиот модел. Моделот покажува висока чувствителност (87,5%) и специфичност (80,5%) во разликувањето на OSCC од пациентите кои не се OSCC. Покрај тоа, врз основа на овој модел е изградена шема за бодување на ризик. Кога резултатот на ризикот е >0,4, може да се откријат 84% од пациентите со OSCC и околу 42% од високоризичните OPMD. Дополнително, од 88 пациенти со висок ризик OPMD следени, 18 се развиле до OSCC во рок од 5 години, а 14 од нив имале оценки за ризик >0,4. Фенг и сор. откри дека спектарот на плунковната протеаза на пациентите со OSCC е значително различен од оној на здравјето и пациентите со други орални болести, како што е фиброма на осификација на вилицата и блага хронична пародонтопатија. Метаболитите можат да ја рефлектираат вистинската состојба на телото. Промените во клеточниот метаболизам се идентификувани како нов маркер за рак. Во процесот на туморигенеза и развој, тоа обично е придружено со промени во метаболичките патишта, што резултира со некои абнормални метаболити, формирајќи единствен метаболички профил на тумори. Плунката содржи голем број на метаболити, особено метаболитите од примарното место на оралниот карцином, кои директно ќе се измешаат во плунката. Во моментот, пријавено е дека повеќе од 100 метаболити се менуваат со малигната прогресија на OSCC, како што се лактат, холин, глутамат, хистидин, сиалична киселина и триметиламин N оксид. Оралните микроорганизми играат важна улога во здравјето и болеста на домаќинот. Поединечни микроорганизми, како што *P. gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* и *Staphylococcus aureus* играат важна улога во појавата и развојот на OSCC. Неопходно е да се идентификува основниот микробиом што предизвикува OSCC за развој на клинички применлив и високо прецизен дијагностички модел. Џоу и сор. секвенционираа примероци од плунка од 47 пациенти со OSCC и 46 здрави субјекти врз основа на секвенционирање на 16SrRNA и воспоставија случаен модел. Резултатите покажуваат дека точноста на моделот е 95,70%, а чувствителноста е 100%. Дополнително, тие откриле дека дури и кај здравите контроли, примероците од плунка од различни делови покажале различни микробиолошки состави. Конечно, тие исто така ја изнесоа стратегијата за развој на моделот за предвидување: врз основа на воспоставување мали примероци и постепено додавање на нови примероци за ажурирање на моделот, за да се подобри точноста.

4. ДИСКУСИЈА

Дијагнозата со плунка е сè уште во рана фаза на развој и сеуште се потребни дополнителни истражувања. Волуменот на плунка во телото е многу помал од оној на крвта, а концентрацијата на биомаркерите на плунката е многу мала и совпаѓањето на специфичните маркери за плунка кај некои болести го отежнува јасното поврзување на болеста со биомаркерите на плунката. Ова го отежнува точното одредување дали промените во биомаркерите се предизвикани од една или друга болест. Еден биомаркер не е доволен за да се дефинира патогенезата на болеста, а користењето на различни биомаркери за да се изгради дијагностички модел се соодветен метод. Дополнително, за да се идентификуваат специфичните биомаркери за различни

болести на плунка, биомаркерите треба да се проучуваат во големи групи и долгорочно следење за да се потврди нивната точност. Најдобриот дијагностички модел на плунка може да биде комбинација на биомаркери на секоја патолошка состојба, со клиничка ефикасност и поголема точност и специфичност.

5. ЗАКЛУЧОК

Треба да се истакне дека иако има огромни студии поврзани со дијагноза на плунка, сè уште е во фаза на истражување. Биомаркерите на плунката поврзани со болеста бараат да се идентификуваат повеќе истражувања. За тестирање на плунката потребни се некои нано уреди со висока чувствителност и специфичност за прецизно откривање. Дополнително, сегашните методи за откривање како што се PCR, гел електрофореза, хроматографија, одземаат многу време и бараат обучени професионалци за анализа.

ЛИТЕРАТУРА

- Al-Rawi, N.H., Al-Marzooq, F., Al-Nuaimi, A.S., Hachim, M.Y., & Hamoudi, R. (2020). Salivary microRNA 155, 146a/b and 203: a pilot study for potentially non-invasive diagnostic biomarkers of periodontitis and diabetes mellitus. *PLoS One*;15: e237004.
- Butler-Laporte, G., Lawandi, A., Schiller, I., Yao, M., Dendukuri, N., McDonald, E.G., et al. (2021). Comparison of saliva and nasopharyngeal swab nucleic acid amplification testing for detection of SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med*;181:353–60.
- Chang, C., Wang, H., Liu, J., Pan, C., Zhang, D., Li, X., et al. (2019). Porphyromonas gingivalis infection promoted the proliferation of oral squamous cell carcinoma cells through the miR-21/ PDCD4/AP-1 negative signaling pathway. *ACS Infect Dis*;5:1336–47.
- Feng, Y., Li, Q., Chen, J., Yi, P., Xu, X., Fan, Y., et al. (2019). Salivary protease spectrum biomarkers of oral cancer. *Int J Oral Sci*;11:7.
- Gonzalez-Moles, M.A., Ruiz-Avila, I., Gonzalez-Ruiz, L, Ayen, A., Gil-Montoya, J.A., & Ramos-Garcia, P. (2019). Malignant transformation risk of oral lichen planus: a systematic review and comprehensive meta-analysis. *Oral Oncol*;96:121–30.
- Han, P., Bartold, P.M., Salomon, C., & Ivanovski, S. (2021). Salivary outer membrane vesicles and DNA methylation of small extracellular vesicles as biomarkers for periodontal status: a pilot study. *Int J Mol Sci*;22:2423.
- Jang, X., Chen, X., Chen, Z., Yu, J., Lou, H., & Wu, J. (2021). High-throughput salivary metabolite profiling on an ultralow noise tip-enhanced laser desorption ionization mass spectrometry platform for noninvasive diagnosis of early lung cancer. *J Proteome Res*;20:4346–56.
- Jian, C., Zhao, A., Ma, X., Ge, K., Lu, W., Zhu, W., et al. (2020) Diabetes screening: detection and application of saliva 1, 5 anhydroglucitol by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab*;105:114.
- Kaczor-Urbanowicz, K.E., Wei, F., Rao, S.L., Kim, J., Shin, H., Cheng, J., et al. (2019). Clinical validity of saliva and novel technology for cancer detection. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*;1872:49–59.
- Lee, J., Baek, S., Koh, J.H., Kim, J.W., Kim, S.Y., et al. (2019). Soluble siglec-5 is a novel salivary biomarker for primary Sjogren’s syndrome. *J Autoimmun*;100:114–9.
- Lopez-Jornet, P., Aznar, C., Ceron, J., & Asta, T. (2021). Salivary biomarkers in breast cancer: a cross-sectional study. *Support Care Cancer*;29:889–96.
- Mathai, R.A., Vidya, R., Reddy, B.S., Thomas, L., Udupa, K., Kolesar, J., et al. (2019). Potential utility of liquid biopsy as a diagnostic and prognostic tool for the assessment of solid tumors: implications in the precision oncology. *J Clin Med*;8:373.
- Nijakowski, K., & Surdacka, A. (2020). Salivary biomarkers for diagnosis of inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Int J Oral Sci*;21:7477.
- Ponti, G., Manfredini, M., & Tomasi, A. (2019). Non-blood sources of cell-free DNA for cancer molecular profiling in clinical pathology and oncology. *Crit Rev Oncol Hematol*;141:36–42.
- Poulet, G., Massias, J., & Taly, V. (2019). Liquid biopsy: general concepts. *Acta Cytol*;63:449–55.
- Romani, C., Salviato, E., Paderno, A., Zanotti, L., Ravaggi, A., Deganello, A., et al. (2021). Genome-wide study of salivary miRNAs identifies miR-423-5p as promising diagnostic and prognostic biomarker in oral squamous cell carcinoma. *Theranostics*;11:2987–99.
- Setti, G., Pezzi, M.E., Viani, M.V., Pertinhez, T.A., Cassi, D., Magnoni, C., et al. (2020). Salivary microRNA for diagnosis of cancer and systemic diseases: a systematic review. *Int J Mol Sci*;21:907.
- Shanmugam, A., Hariharan, A.K., Hasina, R., Nair, J.R., Katragadda, S., Irusappan, S., et al. (2021). Ultrasensitive detection of tumor-specific mutations in saliva of patients with oral cavity squamous cell carcinoma. *Cancer-Am Cancer Soc*;127:1576–89.

- Sivadasan, P., Gupta, M.K., Sathe, G., Sudheendra, H.V., Sunny, S.P., Renu, D., et al. (2020). Salivary proteins from dysplastic leukoplakia and oral squamous cell carcinoma and their potential for early detection. *J Proteomics*;212:103574.
- Sridharan, G., Ramani, P., Patankar, S., & Vijayaraghavan, R. (2019). Evaluation of salivary metabolomics in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*;48:299–306.
- Wang, Y., Liu, S., Li, B., Jiang, Y., Zhou, X., Chen, J., et al. (2019). *Staphylococcus aureus* induces COX-2-dependent proliferation and malignant transformation in oral keratinocytes. *J Oral Microbiol*;11:1643205.
- Wood, B.R., Kochan, K., Bedolla, D.E., Salazar-Quiroz, N., Grimley, S.L., Perez-Guaita, D., et al. (2021). Infrared based saliva screening test for COVID-19. *Angew Chem Int Ed Engl* 2021;60:17102–7.
- Xavier, A.D., Acevedo, A.C., Cancado, P.M., Costa, N.A., Pichon, V., Chardin, H., et al. (2020). Using an untargeted metabolomics approach to identify salivary metabolites in women with breast cancer. *Metabolites*;10:506.
- Yang, X.H., Zhang, X.X., Jing, Y., Ding, L., Fu, Y., Wang, S., et al. (2019). Amino acids signatures of distance-related surgical margins of oral squamous cell carcinoma. *EBioMedicine*;48:81–91.
- Ye, Q., Ling, S., Zheng, S., & Xu, X. (2019). Liquid biopsy in hepatocellular carcinoma: circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Mol Cancer*;18:114.
- Zanoni, D.K., Montero, P.H., Migliacci, J.C., Shah, J.P., Wong, R.J., Ganly, I., et al. (2019). Survival outcomes after treatment of cancer of the oral cavity (1985-2015). *Oral Oncol*;90:115–21.
- Zhang, S., Li, C., Liu, J., Geng, F., Shi, X., Li, Q., et al. (2020). *Fusobacterium nucleatum* promotes epithelial-mesenchymal transition through regulation of the lncRNA MIR4435-2HG/miR-296-5p/Akt2/SNAI1 signaling pathway. *FEBS J*;287:4032–47.
- Zhang, Y., Huang, S., Jia, S., Sun, Z., Li, S., Li, F., et al. (2021). The predictive power of saliva electrolytes exceeds that of saliva microbiomes in diagnosing early childhood caries. *J Oral Microbiol*;13:1921486.
- Zhou, X., Hao, Y., Peng, X., Li, B., Han, Q., Ren, B., et al. (2021). The Clinical potential of oral microbiota as a screening tool for oral squamous cell carcinomas. *Front Cell Infect Microbiol*;11:728933.