

Titolo del Progetto: Studio randomizzato sull'efficacia di estratti acquosi di erbe sarde in pazienti xerostomici

Background

Una delle principali funzioni delle ghiandole salivari è produrre un flusso di saliva costante nella cavità orale al fine di mantenere la mucosa orale adeguatamente umidificata e renderla meno suscettibile alle abrasioni, rimuovere i microorganismi, le cellule epiteliali desquamate ed i residui di cibo (Pedersen et al 2002, Dawes et al 2015). Un flusso adeguato aiuta a prevenire infezioni retrograde delle ghiandole per il tramite di microorganismi stazionanti nei dotti ghiandolari. La saliva contiene inoltre importanti enzimi che danno avvio alla digestione e sostanze quali l'*epidermal growth factor* che promuove la proliferazione tissutale, la differenziazione e la guarigione di ferite. Le proprietà antibatteriche, antifungine e antivirali favoriscono l'omeostasi orale microbica mentre i minerali aiutano a mantenere l'equilibrio nei processi di demineralizzazione-remineralizzazione delle superfici dei denti (Milia et al 2016, Pinna et al 2017).

La secrezione avviene per il 90% dalle ghiandole salivari maggiori (parotide, sottomandibolare e sublinguale) e per il rimanente 10% dalle salivari minori situate nella mucosa labiale, buccale palatale e linguale. E' controllata dal cervello attraverso l'arco salivare riflesso: il gusto, l'odore, la masticazione stimolano il Centro Salivare nella Medulla che a sua volta stimola i nervi delle ghiandole salivari alla produzione di fluido (Proctor et al 2007). Il meccanismo coinvolge i recettori muscarinici dell'acetilcolina stimolante il Calcio che determina la secrezione del fluido via Adenosin Trifosfato (ATP).

Diversi studi su un ampio campione di soggetti hanno riportato che in pazienti sani, il flusso salivare basale non stimolato è compreso in un range di 0.3–0.4 mL/min con ampie variabili individuali (Heintze et al 1983). Mentre un flusso basale ≤ 0.1 mL/min definisce la condizione di ipofunzione ghiandolare conosciuta come Xerostomia o “Sdra da Bocca secca” (Sreebny 2000, Pinna et al 2015). L'incidenza della xerostomia è stimata attorno al 10-26% nel sesso maschile e si aggira al 33% in quello femminile (Furness et al 2011, 2013). E' ben noto tuttavia, che la sensazione di “Bocca secca” può anche non essere direttamente relata al decrescere della quantità di fluido perché questa è fortemente influenzata dalle sensazioni soggettive proprie del paziente (Dawes et al 2015).

La bocca secca e anelastica è il sintomo più frequentemente ma nei casi più gravi, si aggiungono difficoltà nella masticazione, deglutizione ed assaporare il cibo. La mucosa orale diviene suscettibile a mucositi, infezioni, ulcerazioni con generale sensazione di dolore. Inoltre, i pazienti possono riferire bruciore, aftosi ricorrente, cheiliti angolari, screpolature da disidratazione delle labbra e disturbi del sonno (Pinna et al 2015). Clinicamente, la saliva diviene altamente vischiosa e riduce il pH da 7.0 to 5.0 (Lingström et al 1993). Il pH acido favorisce la proliferazione dello *Streptococcus mutans* a discapito delle specie neutrofile associate alla salute orale con *shifts* dell'omeostasi ed incremento delle specie acidofile ed aciduriche tipiche del biofilm cariogeno (Almståhl et al 1998). In questo stato disbiotico, la *Candida albicans* fungo saprofita del cavo orale, diviene patogeno (Pinna et al 2017). Conseguentemente, la carie, le gingiviti, e la Candidosi orale sono malattie ricorrenti nei pazienti portatori di xerostomia (Almståhl et al 2010).

Le cause che determinano la xerostomia possono essere suddivise in 1) cause non salivari e 2) cause salivari (Furness 2011, 2013). E' stato supposto che in tutte le forme, lo stress possa avere un ruolo determinante nell'insorgenza della malattia e il suo picco nell'età avanzata sottolineerebbe questa correlazione proporzionale all'invecchiamento (Ushikoshi et al 2019).

Le cause non salivari includono: la respirazione orale, l'ansietà, le disfunzioni neurologiche e la disidratazione. Le cause salivari annoverano: la Sdr di Sjögren, la sarcoidosi, il diabete mellito e altre malattie dismetaboliche, l'epatite da virus C, le malattie reumatiche (Moore et al 2001, Busato et al 2009, Brand et al 2009). Inoltre, circa 500 farmaci attualmente somministrati per scopi terapeutici possono determinare secchezza orale attraverso vari meccanismi (Porter 2004, Villa e Abati 2011, Villa et al 2011) tra cui l'inibizione di recettori centrali e periferici (Proctor 2007). In particolare, possono dare secchezza i farmaci per la cura della depressione, l'ipertensione arteriosa, l'epilessia ed i chemioterapici. La xerostomia è inoltre, particolarmente comune negli anziani dove, oltre agli effetti dell'invecchiamento delle ghiandole salivari, concomitano forme patologiche croniche ed il conseguente trattamento polifarmacologico (Gupta et al 2006).

Una nota a parte spetta al trattamento radioterapico di pazienti con tumori della testa e del collo (TTC). In questi, la xerostomia si manifesta con un'incidenza che raggiunge fino al 50% degli effetti secondari legati alla radioterapia (Bortone et al 2011, Pinna et al 2015 a, b, Pinna et al 2019). Soprattutto in quest'ultimo gruppo di soggetti, la xerostomia incide notevolmente sullo stato psico-fisico già compromesso e quindi sulla *Quality of Life (QoL)*, ossia la valutazione soggettiva dell'attuale livello di benessere percepito in rapporto all'ideale (Epstein et al 2001). Infatti, l'elevata incidenza di infezioni orali, mucosali e dentarie, la dolorabilità e labilità ai traumi della mucosa disidratata e la compromissione funzionale dell'organo buccale determinano un aumento del malessere nella vita quotidiana insieme a forte disagio nelle interazioni personali (Vissink et al 2003, Eliasson et al 2006).

Trattamento della xerostomia con terapie farmacologiche e non farmacologiche

Indipendentemente dalle cause, il trattamento della xerostomia è una problematica attualmente non risolta. L'utilizzo di farmaci per via generale quali pilorcaina, fisostigmine e interferone è gravato da importanti effetti collaterali (Riley et al 2017). Il benessere prodotto dai più utilizzati trattamenti topici, sostitutivi salivari, prevalentemente formulati su base chimica, talvolta con addizione di mucine animali, appare alquanto limitato (Furness et al 2013).

Recentemente l'utilizzo del Coenzima Q10 (CoQ10) o Ubiquinone ha dimostrato di migliorare la sintomatologia della Bocca secca nei pazienti con Sdr. di Sjogren (Ryo et al 2011, Ushikoshi et al 2019). L'attività del Coenzima Q si eserciterebbe attraverso il ruolo essenziale svolto a livello mitocondriale nella catena energetica dell'ATP, fondamentale per la contrazione muscolare, e non meno per le proprietà antiossidanti dirette ed indirette tramite la rigenerazione dell'acido ascorbico nelle membrane (Crane 2001, Turunen et al 2004). Il CoQ10 è insolubile in acqua e la sua solubilità nei lipidi è scarsa similmente alla Vitamina E, altro importante agente antiossidante (Zmitek et al 2008). L'apporto diretto di CoQ10 o la somministrazione di sostanze antagoniste dello stress ossidativo, quali appunto la Vitamina E e la C (Unoue et al 2016) o i Carotenoidi anche attraverso fonti nutraceutiche (Usai et al 2016), apportando un incremento diretto o indiretto dei livelli del coenzima, si dimostrerebbero possibili vie da percorrere per combattere la xerostomia.

Le erbe medicinali, fonte di agenti nutraceutici e farmaceutici, destano grande interesse nella comunità scientifica quali fitocomplessi utili nella prevenzione e cura di molte malattie tra le quali la xerostomia (Rao et al 2007, Garrido et al 2013, Morante et al 2017). Soprattutto le piante appartenenti a ricche biodiversità, quali la Sardegna, per secoli utilizzate come rimedi alle malattie, sono particolarmente attraenti per le alte concentrazioni di biomolecole acquisite nell'ambito dell'evoluzione genetica (Cosentino et al 1999, Sanna et al 2006, Barra 2007). La ricchezza di specie vegetali officinali (medicamentose) in Sardegna è da ricondurre ad un complesso di fenomeni, quali l'isolamento geografico che influisce sulle caratteristiche genetiche e adattative delle popolazioni

erboree. Le caratteristiche climatiche e l'assetto geomorfologico dell'isola che risulta dalla combinazione di ripetuti eventi tettonici, vulcanici e sedimentari contribuiscono alla unicità di specie spontanee che concorrono a fare della Sardegna un «laboratorio» naturalistico idoneo per studi scientifici ad ampio raggio (Sanna et al 2006).

La capacità medicinale delle piante in genere risiede in gruppi chimici: fenoli, polifenoli, terpeni, alcaloidi, lecitina e polipeptidi che posseggono verificato carattere antisettico, antinfiammatorio, antiossidante, rigenerativo, sedativo, analgesico, spasmolitico, anticancro, ed anestetico, insieme a molti altri ancora (Cowan 1999, Cushnie and Lamb 2005).

Gli studi scientifici per l'accreditamento terapeutico di piante officinali rispondono quindi alla espressa richiesta dell'WHO (2014) e della Comunità Europea (Commissione Europea 2019) di ottenere terapie alternative alle chimiche, arginando nel contempo il fenomeno della resistenza microbica, gli effetti collaterali dei farmaci e l'inquinamento ambientale dovuto a elaborazione e smaltimento dei farmaci tradizionali.

Nella medicina popolare della Sardegna, tra le erbe più comunemente utilizzate come rimedio per i disturbi orali e del tratto digerente sono:

- 1) la *Malva silvestris*, ricca di flavonoidi, terpenoidi, fenoli e derivati, cumarinici, Vitamina E e C con elevato potere antinfiammatorio, antiossidante, antiulcera e rigenerante (Gasparoto et al 2012, Martins et al 2017). L'alto contenuto di mucine lenitive, umettanti e detergenti ne fanno inoltre un alleato prezioso per la salute orale delle mucose e dei denti dovuto particolarmente all'azione clearance-simile della saliva (Benso et al 2016, Sanz et al 2017).
- 2) la *Melissa officinalis* subspecies *altissima*, anch'essa come la Malva, pianta spontanea della Sardegna, è ricca di flavonoidi e fenoli a cui è attribuito l'elevato potere neurocognitivo, antistress, antidepressivo ed ansiolitico. Ciò è spiegato nella la capacità di queste biomolecole a legarsi ai Recettori Muscarinici del cervello (Scholey et al 2014, Skotti et al 2014). La Melissa sarda è inoltre altamente antiossidante per l'elevatissima rappresentazione di Caroteneodi presenti ad una concentrazione del 37% dei chimici totali del *fingerprint* (Usai et al 2016). Inoltre, per le capacità cicatrizzanti, antiossidanti, antiulcera ed antisettiche (Shakeri et al 2016, Chizzola et al 2018) la Melissa è stata talmente utilizzata nell'isola da essere comunemente indicata nel dialetto popolare sardo come “*erba é tallio*” (Di Rosa 2018);
- 3) la *Menta* nelle sue diverse specie tra le quali la *pulegium*,
- 4) il *Thymus spp* entrambe a spiccato carattere antibatterico e antifungino particolarmente contro *Candida sp.*, antiossidante e antiinfiammatorio (Sanna et al 2006, Tyagi et al 2016, Filigheddu et al 2017, Manconi et al 2018, Piras et al 2019, Pinna et al 2019).

Nell'isola tali erbe venivano comunemente utilizzate in miscuglio tra loro con il fine di sinergizzare il potenziare tra le diverse biomolecole. Al riguardo della modalità di assunzione per il trattamento di malattie sistemiche e patologie della bocca, la maggioranza degli studi etnobotani riporta il prevalente utilizzo di estratti acquosi, nella forma di infuso e decotto, con percentuale che arriva al 42,7%. Altre preparazioni erano la diretta applicazione sulla cute della droga fresca o come cataplasma (23,2%) per il trattamento di malattie dermiche (12,9%). Non risultano indicazioni di manipolazioni più complesse delle droghe (Sanna et al 2006, Di Rosa 2018).

Le erbe soprammenzionate sono da tempo oggetto di ricerca di base da parte del nostro gruppo di ricerca al fine di accreditarne la ricchezza di composti chimici, le proprietà biologiche, e l'assenza di citotossicità (Usai 2016, Manconi 2018, Pinna et al 2019). Sottoposte a screening, esse hanno confermato i dati della letteratura internazionale che le indica come *GRASS (safe molecules)*. E' stata inoltre dimostrata attività antimicrobica contro lo *S. mutans* e *Lactobacillus acidofilo*, batteri key

stone della carie dentaria (Filigheddu et al 2017, Manconi et al 2018), il *Porfiromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, batteri Gram-negativi, driver elettivi della malattia parodontale (Pinna et al 2018 a e b) e contro la *C. albicans* che colpisce particolarmente i pazienti immunodepressi provocando infezioni ricorrenti e resistenti alla terapia chimica (Filigheddu et al 2017, Pinna et al 2018 a e b, Pinna et al 2019). I dati sono stati divulgati attraverso tesi di dottorato (Filigheddu 2017), congressi di rilievo internazionale (Filigheddu et al 2017, Pinna et al 2018 a), e nazionale (Donaera 2017), e pubblicazioni in riviste appartenenti ai circuiti Scopus e WOS (Manconi et al 2018, Pinna et al 2019). Gli stessi protocolli sono utilizzati come screening per altre piante facenti parte della medicina popolare della Sardegna (Milia et al 2020 in press).

Scopo del progetto

Sulla base di tali considerazioni, e con l'intento di dimostrare scientificamente il potenziale farmaceutico di erbe medicinali della Sardegna, questo studio intende valutare l'efficacia di due infusi contro i sintomi della xerostomia in due gruppi di pazienti, (Gruppo A e Gruppo B), con comprovata malattia. Il fine ultimo della ricerca è di proporre una terapia naturale per la cura di sintomi orali da Bocca Secca che possa essere un'alternativa al trattamento con prodotti chimici, attualmente giudicati non soddisfacenti alla risoluzione del problema nel tempo (Furness et al 2013).

Specificamente, si intende valutare l'efficacia dei due seguenti infusi:

- *Malva silvestris*, *Melissa officinalis* subspecie *altissima* e *Thymus Erba Barona* (MMT o MIX 1);
- *Malva silvestris*, *Melissa officinalis* subspecie *altissima* e *Menta pulegium* (MMM o MIX2).

I soggetti in trattamento, Gruppo A, che assumeranno il MIX1, e quelli del Gruppo B che assumeranno il MIX2, saranno comparati ad un gruppo di pazienti xerostomici, Gruppo C, selezionati attraverso gli stessi criteri e che saranno sottoposti alle procedure operative standard per il trattamento della Bocca Secca.

Inoltre, prima ed alla fine della somministrazione dei due infusi, nella saliva dei pazienti del Gruppo 1 e 2, si intende valutare la concentrazione del Coenzima Q10 mediante Cromatografia liquida/Mass Spettroscopia (LC/MS). Tale analisi consentirà di verificare un'eventuale ed auspicabile azione antiossidante delle erbe manifesta attraverso incremento della concentrazione salivare della proteina.

IPOTESI DELLO STUDIO

Stimare l'effetto degli estratti acquosi di erbe in termini di riduzione della percezione di "Bocca secca" nei Gruppi A e B mediante confronto delle risposte alla domanda numero 1: "Valuti la difficoltà che incontra nel parlare per la secchezza della bocca" e alla domanda numero 4: "Valuti la sensazione di secchezza nella sua bocca" nelle visite 3, 4, 5, in rapporto al dato di baseline della visita 2, ed in comparazione al Gruppo C.

Le erbe proverranno da colture biologiche della Sardegna (Erboristeria Officinale, Azienda Agricola località Balajana lu Caprudeddu, Luogosanto, Sassari). La "JAGA"associazione ONLUS per la Prevenzione e Cura della Xerostomia, con sede in Viale Dante 61A, 07100 Sassari, sosterrà le spese per l'acquisto delle erbe e del materiale necessario alla sperimentazione clinica.

L'efficacia degli infusi verrà valutata attraverso dati obiettivi ottenuti tramite dosaggio della secrezione salivare basale in mL/ min (Sreebny 2000) e pH del fluido salivare basale (**Tab 2**), variabili soggettive lamentate dal paziente e raccolte tramite questionario *Visual Analogue Scale (VAS) scores* (**Tab 3**) (Ship et al 2007, Kerr et al 2010, Pinna et al 2015), esame del cavo orale (mucose e denti) (**Tab 4**). I dati in comparazione ai valori di ingresso o basale, verranno elaborati tramite analisi statistica.

Rilevanza della missione

In base alla letteratura scientifica ed agli studi condotti *in vitro* dal nostro gruppo di ricerca, ci aspettiamo un'azione benefica degli infusi sui Gruppi A e B di pazienti selezionati per il trattamento ed il miglioramento dei sintomi e segni di xerostomia. Questo intento è in linea con i principi dell'AOU di Sassari che sono quelli di offrire alti livelli di cura riducendo gli effetti collaterali e contribuendo in tal modo a migliorare la qualità della vita di tutti gli ammalati.

Responsabili Scientifici del Progetto

Prof Egle Milia

Medico Chirurgo Specialista in Odontoiatria, UOSD di Odontoiatria, AOU di Sassari

Prof Giovanni Sotgiu, Medico Chirurgo Specialista in Malattie Infettive, UOC Igiene e Controllo Infezioni Ospedaliere

Prof Sergio Babudieri, Medico Chirurgo Specialista in Malattie Infettive, UOC di Malattie Infettive e Tropicali, AOU Sassari

Partecipanti (Stakeholders)

Essendo i pazienti xerostomici dei pazienti multidisciplinari, personale afferente a diverse UO dell'Azienda, collaborerà al loro reclutamento ed al monitoraggio clinico durante tutto lo studio. Specificamente, saranno coinvolte l'Unità Operativa Semplice Dipartimentale di Odontoiatria, l'Unità Operativa Complessa Direzione Igiene e Controllo Infezioni Ospedaliere, la Struttura Complessa di Malattie Infettive e Tropicali, il SDD Day Hospital Medico Centralizzato dell'AOU.

Caratteristiche generali del progetto

Per la selezione dei pazienti saranno applicati precisi criteri di inclusione/ esclusione, elaborati in accordo al Codice Etico della Dichiarazione di Helsinki, elaborati in riferimento a specifici protocolli pubblicati su Scopus, riferibili alla validazione di nuove terapie per xerostomici (Ship et al 2007, Kerr et al 2010), ed in considerazione a precedenti protocolli già applicati dal nostro gruppo di ricerca su approvazione del Comitato Etico dell'Università degli Studi di Sassari (n° 1000/CE) (Pinna et al 2015 b, Pinna et al 2019).

Visita 1:

Selezione dei pazienti

I pazienti nei Gruppi A, B e C verranno selezionati tra soggetti con storia di xerostomia a causa di farmaci in accordo ai Criteri di Inclusione/Esclusione descritti sotto (**Tabella 1**);

Tabella 1

Criteri di inclusione

I criteri di inclusione

- 1) Soggetti che lamentano Sdr da Bocca secca documentata con una risposta uguale o maggiore a 30 mm almeno a una delle otto domande del questionario della Visual Analogue Scale (VAS);
- 2) Soggetti con volume di saliva basale ≤ 0.2 mL/min. Soggetti con età compresa tra i 40 ed i 75 anni in trattamento polifarmacologico cronico con farmaci causa di xerostomia: antiipertensivi, ansiolitici, antiasmatici, anoressizzanti, anticolinergici, antiemetici, antistaminici, diuretici o chemioterapici e percepiscono la sensazione di “Bocca secca” da almeno tre mesi;
- 3) Soggetti che hanno interesse ad entrare a far parte dello studio ed usare esclusivamente i prodotti in studio con l'intento di alleviare la sintomatologia che descrivono;
- 4) Soggetti che hanno interesse a ritornare ai controlli;
- 5) Soggetti che sanno leggere, capire e sono capaci di firmare il consenso informato.

Criteri di esclusione

- 1) Soggetti sottoposti a intervento chirurgico per TTC e successiva radioterapia o sola radioterapia per TTC ed hanno sviluppato xerostomia;
- 2) Partecipanti che necessitano di interventi chirurgici dento-alveolari o terapie odontoiatriche prolungate che potrebbero interferire con i risultati dello studio;
- 3) Partecipanti che per qualsiasi problema medico potrebbero necessitare di ospedalizzazione per il periodo di svolgimento dello studio;
- 4) Partecipanti con condizioni mediche incontrollate che potrebbero interferire con i risultati dello studio;
- 5) Soggetti con insufficiente destrezza manuale per la preparazione dell'infuso di erbe
- 6) Soggetti che mostrano scarso interesse ad entrare a far parte dello studio ed usare esclusivamente i prodotti naturali in studio per alleviare la sintomatologia riferita;
- 7) Soggetti che non sanno leggere, o non hanno capacità di capire e firmare il consenso informato;
- 8) Soggetti che sono stati sottoposti a trattamento sistemico per la xerostomia negli ultimi 7 giorni antecedenti l'inizio dello studio.

Tutte le visite di selezione e controllo dei pazienti saranno programmate al mattino (ore 9.00-12.00) in modo da ridurre al minimo gli effetti circadiani delle variazioni del flusso salivare.

I pazienti selezionati riceveranno adeguata informativa sullo studio e rilasceranno il consenso informato. I dati raccolti seguiranno le regole della privacy secondo la vigente normativa. Il flusso salivare verrà valutato su dati obiettivi attraverso raccolta in mL/5 min in test tube (**Tab 2**) (Dawes 1987, Ghezzi et al 2000, Pinna et al 2018). Nella stessa tabella verranno annotati ulteriori dati relativi alla presenza di schiuma nel fluido raccolto, pH, e colore della saliva. I pazienti selezionati riceveranno un questionario che misurerà attraverso *VAS scale e scores*, la sintomatologia riferita alla Bocca Secca (**Tab 3**) (Ship et al 2007, Furnes et al 2011, Pinna et al 2019). La salute orale dei pazienti sarà stabilita e monitorata con controlli specialistici che valuteranno la qualità dei tessuti molli e duri ed emergenza di cure odontoiatriche (**Tab 4**).

In questa visita 1, i pazienti verranno assegnati in maniera casuale nei tre gruppi di studio. Tutti riceveranno accurata igiene orale e verranno motivati alle pratiche domiciliari. Un'igienista dentale

provvederà allo scopo. A tal punto, ai partecipanti dei Gruppi A e B sarà quindi proscritto per 2 settimane l'utilizzo di qualunque genere di sostituto salivare siano abituati ad assumere (*two-week washout*) ed useranno un dentifricio (Toothpaste Total Protection, Istituto Erboristico L'Angelica - Coswell) e spazzolino (Oral-B Sensitive Advantage, Procter & Gamble) standardizzati. Nel Gruppo di controllo C, i pazienti invece manterranno il regime giornaliero abituale per il trattamento della Bocca Secca escludendo però l'uso di stimolanti farmacologici (Ship et al 2010). Quindi, i pazienti del Gruppo A e B saranno sottoposti a visita 2 dopo 15 giorni di *wash out*, mentre i pazienti del Gruppo C saranno dimessi.

Visita 2.

I pazienti appartenenti ai Gruppi A e B saranno visitati da uno degli investigatori dell'UO di Odontoiatria che rivaluterà il flusso salivare in rapporto alla **Tab 2**. Si procederà ad nuova analisi della percezione soggettiva di secchezza con *Scala VAS* di 100 millimetri (Ship et al 2007, Pinna et al 2015) (**Tab 3**) e delle condizioni del cavo orale (**Tab 4**). Ai pazienti del Gruppo A e B saranno fornite rispettivamente la miscela MMT/MIX1, e la MMM/MIX2, in quantitativo adeguato per preparare un infuso giornaliero per 2 settimane. Le erbe verranno contenute in buste analoghe ed indistinguibili tra loro. Seguirà attenta illustrazione verbale e scritta circa la preparazione ed assunzione dell'estratto acquoso 3 volte al giorno (1 cucchiaino di erbe in 250 ml di acqua bollente da tenere in infusione per 8 minuti circa prima di filtrare e assumere).

In questa seduta, la saliva basale dai soggetti dei Gruppi A e B, verrà conservata a -80° per procedere poi in data stabilita, all'analisi della concentrazione del CoQ10. La determinazione del coenzima avverrà al momento sancito e contemporaneamente su tutti i campioni collezionati mediante LC/MS (Ryo et al 2011). Brevemente: ad un volume pari a 0,1 mL di saliva verranno aggiunti 0,7 mL di solvente (isopropanolo contenente 2 mL di 1,4-benzochinone e 20 ng/mL di CoQ10). La soluzione verrà miscchiata e centrifugata. Il supernatante verrà rimosso attraverso filtrazione e usato come campione per la determina tramite LC/MS.

Visita 3.

Dopo 2 settimane tutti i pazienti appartenenti ai Gruppi A, B e C verranno sottoposti a nuovo controllo dei dati obiettivi e soggettivi:

- a) Flusso basale in mL/5 min, presenza di schiuma, colore e pH della saliva (**Tab 2**)
- b) Condizioni soggettive di secchezza della bocca tramite VAS (**Tab 3**);
- c) Valutazione dello stato di salute orale (**Tab 4**).

Eventuali effetti avversi saranno annotati.

Quindi, nei Gruppi A e B la somministrazione dell'infuso verrà sospesa per 2 settimane (*two week wash-out*).

In questa seduta 3, la raccolta del fluido salivare dei pazienti servirà inoltre al dosaggio comparato del livello del CoQ10 in rapporto con il valore baseline, ottenuto dalla valutazione del CQ10 nella saliva raccolta alla visita 2.

Visita 4. Allo scadere delle due settimane di *wash out*, i pazienti dei Gruppi A e B saranno sottoposti a nuovo controllo ed annotati i consueti parametri nelle apposite tabelle come sotto:

- a) Flusso basale in mL/5 min, presenza di schiuma, colore e pH della saliva (**Tab 2**)
- b) Condizioni soggettive di secchezza tramite VAS (**Tab 3**);
- c) Valutazione dello stato di salute orale (**Tab 4**) ed eventuali effetti avversi.

Visita 5. Trascorse ulteriori due settimane dalla visita 4, per un totale di 1 mese dalla sospensione degli infusi, i pazienti saranno sottoposti a *follow up* e monitorati attraverso i parametri delle Tabelle 2, 3, e 4.

Endpoints

L'endpoint primario

L'endpoint primario sarà relato alla valutazione del miglioramento della sensazione di secchezza della bocca tra il valore baseline e la successiva visita 3 nei soggetti dei Gruppi A e B, in comparazione al Gruppo C di controllo, ed alle visite 4, e 5 tra i soggetti dei Gruppi A e B, tutti per confronto delle risposte alla domanda numero 1: “Valuti la difficoltà che incontra nel parlare per la secchezza della bocca” e alla domanda numero 4: “Valuti la sensazione di secchezza nella sua bocca”;

Il secondo endpoint sarà relato al confronto tra la misurazione baseline della secrezione salivare basale in mL e la successiva visita 3 nei soggetti dei Gruppi A e B, in comparazione al Gruppo C di controllo, ed alle visite 4, 5 tra i soggetti dei Gruppi A e B.

Il terzo endpoint sarà relato alla valutazione comparata della concentrazione del CQ10 presente nella saliva raccolta dai soggetti del Gruppo A e B prima della somministrazione dei due infusi MIX1 e MIX2 (visita 2) e quella raccolta dopo due settimane di trattamento (visita 3).

Il quarto endpoint sarà basato sulla valutazione della salute della bocca effettuata in baseline e successiva visita 3 nei soggetti dei Gruppi A e B, in comparazione al Gruppo C di controllo, ed alle visite 4, 5 tra i soggetti dei Gruppi A e B, espressa come incidenza di mucositi ed altre manifestazioni mucosali quali afte e Candidosi, ed insorgenza di carie.

Analisi statistica

L'elaborazione statistica delle variabili raccolte in tutti gli endpoints consentirà di valutare l'efficacia dei trattamenti ed i risvolti sulla *QoL* dei pazienti in comparazione al Gruppo C di controllo.

In particolare, saranno eseguiti confronti intra- e tra gruppi per i diversi time-points.

In particolare, saranno eseguite analisi descrittive delle variabili qualitative mediante frequenze assolute e relative percentuali, e delle variabili quantitative mediante medie e deviazioni standard o mediane e range interquartili in funzione della distribuzione parametrica. L'analisi inferenziale riguarderà i confronti tra i gruppi di trattamento e, all'interno dello stesso gruppo (analisi per dati appaiati), nei diversi *time-points*. Per le variabili qualitative si userà il test del chi-quadrato o esatto di Fisher quando appropriato, mentre per quelle quantitative si userà il test t di Student o quello di Mann-Whitney in caso di distribuzioni parametriche o non-parametriche, rispettivamente. L'analisi per dati appaiate di variabili quantitative normali e non normali si baserà sull'ANOVA ed il test di Friedman, rispettivamente. Un livello di significatività inferiore a 0,05 sarà considerato

statisticamente significativo. Il software statistico STATA versione 15 sarà utilizzato per le analisi statistiche.

I risultati saranno espressi sotto forma di risultati primari e secondari e diversificheranno in rapporto alle emergenze rilevate nel gruppo A e B.

Risultati primari

Verranno elaborati:

- 1) a breve termine (alla fine di ciascuno dei 2 trattamenti a base di erbe);
- 2) a lungo termine (dopo un mese e tre mesi dalla sospensione degli infusi).

I risultati primari potranno essere misurati in termini di miglioramento globale complessivo in comparazione ai dati iniziali baseline o attraverso parametri selettivi della VAS (quali secchezza diurna e notturna, difficoltà nella loquela e nella masticazione), e potranno essere espressi con valori statistici pre e post studio. Inoltre, i sintomi potranno essere comparati per gruppi in modo da proporre i protocolli più idonei della malattia attraverso l'uso di prodotti naturali.

Risultati secondari

Considereranno i seguenti parametri:

- 1) Secchezza della bocca studiata attraverso le risposte stabilite nell'endpoint primario:

ci si aspetta che soprattutto l'attività emolliente ed umettante della malva esplicherà un'azione locale lenitiva sulla mucosa disidratata sollevando dal sintomo di secchezza. Questo beneficio dovrebbe ricorrere indipendentemente dalla somministrazione dell'infuso per la concomitanza della stessa in entrambi. L'azione antiossidante ed antinfiammatoria comune anche agli altri componenti concorrerà a beneficio della sintomatologia.

- 2) Confronto tra la misurazione della secrezione salivare basale in mL rilevata alla visita 2 (baseline) e le successive visite come da endpoint secondario:

Ci si aspetta un incremento della secrezione salivare basale dopo somministrazione dei rispettivi infusi. Infatti, recenti studi in vivo su animale evidenziano il benefico effetto dell'aumento della salivazione dopo somministrazione di sostanze contenenti antiossidanti quali il Resveratrolo (Vit E) (Inoue et al 20016). Si pensa che questa molecola, sviluppata geneticamente da alcune piante in risposta ad agenti infettivi, agirebbe migliorando la secrezione ghiandolare attraverso un'azione antinfiammatoria diretta volta contro vari enzimi coinvolti nella cascata dell'acido arachidonico tra cui i COXs e attraverso un meccanismo diretto anti ROS riconosciuto come fattore causale della riduzione del CoQ10 nell'iposalivazione (Ryo et al 2011). Il riconosciuto alto tenore di Vitamina E della Malva, in aggiunta all'elevata concentrazione di carotenoidi della Melissa sarda ci inducono a pensare che queste piante avranno un effetto antiossidante positivo sulle ghiandole salivari e quindi sulla secrezione del fluido nei pazienti iposalivanti.

- 3) Valutazione della concentrazione del CoQ10 tra baseline (visita 2) e controlli in visita 3.

Ci si aspetta un incremento del CoQ10 nella secrezione salivare basale dopo somministrazione dei rispettivi infusi in visita 3 in paragone ai valori di baseline in visita 2. Per tale punto valgono le stesse considerazioni espresse in 2.

4) Valutazione della salute della bocca effettuata ad ogni check point in comparazione al dato baseline della visita 2, espressa come incidenza di mucositi ed altre manifestazioni mucosali quali afte e Candidosi, nonché insorgenza di carie. Siamo fiduciosi nel presupporre che l'azione antisettica, antibatterica ed anticandida del *Timo sardo* e della *Menta pulegium* avranno rilevanza nella manifestazione di infezioni orali.

I dati saranno divulgati attraverso report scientifici, articoli per esteso, poster in convegni scientifici e presentazioni scientifiche che riporteranno il nome dell'AOU di Sassari a vantaggio della stessa e dell'Università di Sassari. I risultati potranno essere implementati dall'applicazione degli stessi protocolli in altre AOU ed Ospedali d'Italia e centri d'Europa con cui gli operatori direttamente impegnati nel progetto hanno sviluppato dei network scientifici. Ciò a vantaggio dei pazienti sofferenti di xerostomia, e dell'internazionalizzazione dell'AOU di Sassari.

Bibliografia

1. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J.* 2000;50:140–161.
2. Pinna R, Campus G, Cumbo E, Mura I, Milia E. Xerostomia induced by radiotherapy: an overview of the physio-pathology, clinical evidence and management of the oral damage. *Ther Clin Risk Manag.* 2015;11: 171-188, (a)
3. Proctor GB, Carpenter GH. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 2007;133:3–18.
4. Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis* 2002;8:117–129.
5. Milia E, Pinna R, Filigheddu E, Eramo S Adhesive restorations and oral environmental behaviour in Chapter from the book "Adhesives- Applications and Procedures" Ed INTEC 2016, ISBN 978-953-51-2784-0, Print ISBN 978-953-51-2783-3,.
6. Pinna R., Usai P., Filigheddu E., Garcia-Godoy F., Milia E. The role of adhesive materials and oral biofilm in the failure of adhesive resin restorations. *Am J Dent* 2017; 30: 285-292.
7. Furness S, Worthington HV, Bryan G, Birchenough S, McMillan R. Interventions for the management of dry mouth: topical therapies. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2011, Issue 12. Art. No.: CD008934. DOI: 10.1002/14651858.CD008934.pub2.
8. Furness S, Bryan G , McMillan R , Worthington EV Interventions for the management of dry mouth: non- pharmacological interventions (Review). The Cochrane Collaboration. Published in The Cochrane Library 2013, Issue 8
9. Lingström P, Birkhed D. Plaque pH and oral retention after consumption of starchy snack products at normal and low salivary secretion rate. *Acta Odontol Scand.* 1993;51:379–388.
10. Almståhl A, Wikström M. Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. *J Dent Res.* 1998;78:1410–1416.
11. Moore P, Guggenheimer J, Etzel JK., Weyant RJ, Trevor Orchard Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92:281-291.
12. Almståhl A, Carlén A, Eliasson L, Lingström P. Lactobacillus species in supragingival plaque in subjects with hyposalivation. *Arch Oral Biol.* 2010;55:255–259.

13. Ryoko Ushikoshi-Nakayama, Koufuchi Ryo, Tomoe Yamazaki, Mie Kaneko, Tomoko Sugano, Yumi Ito, Naoyuki Matsumoto, Ichiro Sait Effect of gummy candy containing ubiquinol on secretion of saliva: A randomized, double- blind, placebo-controlled parallel-group comparative study and an in vitro study. *PLOS ONE* | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214495> April 3, 2019
14. Busato IM, Ignácio SA, Brancher JA, Grégio AM, Machado MA, Azevedo-Alanis LR. Impact of xerostomia on the quality of life of adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108:376-382.
15. Brand HS, Bots CP, Raber-Durlacher E. Xerostomia and chronic oral complications among patients treated with haematopoietic stem cell transplantation. *British Dental Journal.* 2009;207, E17.
16. Porter SR, Scully C, Hegarty AM. An update of the etiology and management of xerostomia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 2004;**97**(1):28–46.
17. Villa A, Abati S. Risk factors and symptoms associated with xerostomia: a cross-sectional study. *Aust Dent J.* 2011;56:290-295.
18. Villa A, Polimeni A, Strohmenger L, Cicciù D, Gherlone E, Abati S. Dental patients' self-reports of xerostomia and associated risk factors. *J Am Dent Assoc.* 2011;142:811-816.
19. Gupta A, Epstein JB, Sroussi H. Hyposalivation in elderly patients. *J Can Dent Assoc.* 2006;72:841-846.
20. Bortone A, Castelli G, Palmieri A, Sotgiu G, Azzena MD, Colonna A, Milia E.: Visualization of biofilm colonization in parotid gland hypofunction. *Congresso Nazionale Collegio dei Docenti di Odontoiatria* 2011.
21. Pinna R, Milia E, Usai P, Maioli M, Dore S, Livesu R, Mura I, Schmalz G. Comparative evaluation of the effectiveness of desensitizing agents in xerostomic patients with head and neck cancer. *XXII Collegio Docenti Universitari* 2015, (b).
22. Pinna R, Milia E, Usai P, Crivelli P, Pagano S, Sotgiu G, Schmalz G. Efficiency of desensitizing materials in xerostomic patients with head and neck cancer: a comparative clinical study. *Clinical Oral Investigations* <https://doi.org/10.1007/s00784-019-03081-x>
23. Epstein JB, Robertson M, Emerton S, Phillips N, Stevenson-Moore P. Quality of life and oral function in patients treated with radiation therapy for head and neck cancer. *Head Neck.* 2001;23:389-398.
24. Vissink A, Jansma J, Spijkervet FK, Burlage FR, Coppes RP Oral sequelae of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:199–212
25. Eliasson L, Carlén A, Almståhl A, Wikström M, Lingström P. Dental plaque pH and micro-organisms during hyposalivation. *J Dent Res.* 2006 Apr;85(4):334-8
26. Riley P, Glenny AM, Hua F, Worthington HV. Pharmacological interventions for preventing dry mouth and salivary gland dysfunction following radiotherapy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017, Issue 7. Art. No.: CD012744. DOI: 10.1002/14651858.CD012744.
27. Ryo K, Ito A, Takatori R, Tai Y, Arikawa K, Seido T, Yamada T, Shinpo K, Tamaki Y, Fujii K, Yamamoto Y, Saito I Effects of coenzyme Q10 on salivary secretion. *Clin Biochem* 2011; 44: 669–74.
28. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr.* 2001; 20: 591–598. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11771674>
29. Turunen M, Olsson J, Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1660: 171–199.

30. Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res* 2007; 55: 207–16
31. Inoue H, Kishimoto A, Ushikoshi-Nakayama R, Hasaka A, Takahashi A, Ryo K, Muramatsu T, Ide F, Mishima K, Saito I Resveratrol improves salivary dysfunction in a non-obese diabetic (NOD) mouse model of Sjögren's syndrome. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2016; 59:107–112
32. Usai M, Domenico Atzei A.D., Marchetti M. A Comparative Study on Essential Oil Intraspecific and Seasonal Variations: *Melissa romana* MILL. and *Melissa officinalis* L. from Sardinia. *Chem. Biodiversity* 2016, 13, 1076 – 1087
33. Garrido M, Gonzalez-Flores D, Marchena A, et al. A lycopene-enriched virgin olive oil enhances antioxidant status in humans. *J Sci Food Agric* 2013; 93: 1820–6
34. Anabel Navarro Morante, Andy Wolff, Gloria Rocio Bautista Mendoza, Pia Lopez-Jorne. Natural products for the management of xerostomia: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *J Oral Pathol Med* (2017) 46: 154–160
35. WHO (World Health Organization). (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: WHO Press.
36. European Commission 2019: <https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2019/IT/COM-2019-128-F1-IT-MAIN-PART-1.PDF>
37. Cosentino, S., Tuberoso, C.I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., et al. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.* 29, 130-13
38. Barra, A.; Coroneo, V.; Dessì, S.; Cabras, P.; Angioni, A. Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* **2007**, 22, 7093-7098.
39. Cowan, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* **1999**, 12, 564-582
40. Cushnie, T.P.; Lamb, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents.* **2005**, 26, 343-356.
41. Benso B, Rosalen PL, Alencar SM, Murata RM *Malva sylvestris* Inhibits Inflammatory Response in Oral Human Cells. An In Vitro Infection Model PLOS ONE October 19, 2015
42. Sanz, M.; Beighton, D.; Curtis, M.A.; Cury, J.; Dige, I.; Dommisch, H.; Ellwood, R.; Giacaman, R.; Herrera, D.; Herzberg, M.C.; Koonen, E.; Marsh, P.D.; Meyle, J.; Mira, A.; Molina, A.; Mombelli, A.; Quirynen, M.; Reynolds, E., Shapira, L.; Zaura, E. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* **2017**, 44, S5–S11.
43. Gaspareto JC, Cleveron CA, Sayomi, Hayashia SS, Otuky MF, Pontarolo R. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. Royal Pharmaceutical Society 2012 Journal of Pharmacy and Pharmacology, 64, pp. 172–189
44. Cleveron Antonio Ferreira Martins 1, Michel Leandro Campos 1, Ana Carolina Irioda 2, Dile Pontarolo Stremel 1, Angela Cristina Leal Badaró Trindade 1 and Roberto Pontarolo Anti-Inflammatory Effect of *Malva sylvestris*, *Sida cordifolia*, and *Pelargonium graveolens* Is Related to Inhibition of Prostanoid Production. *Molecules* 2017, 22, 1883; doi:10.3390/molecules22111883
45. Scholey A, Gibbs A, Neale C, Perry N, Ossoukhova A, Bilog V, Kras M, Scholz C, Sass M, Buchwald-Werner S Anti-Stress Effects of Lemon Balm-Containing Foods. *Nutrients* 2014, 6, 4805-4821; doi:10.3390/nu6114805

46. Skotti E, Anastasaki E, Kanellou G, Polissiou M, Tarantilli PA. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products* 53 (2014) 46–54
47. Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B. *Melissa officinalis* L.—A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* **2016**, 188, 204–228.
48. Chizzola R, Lohwasser U, Franz C Biodiversity within *Melissa officinalis*: Variability of Bioactive Compounds in a Cultivated Collection *Molecules* 2018, 23, 294; doi:10.3390/molecules23020294
49. Di Rosa A. Erbe e piante medicinali in Sardegna. Ed Delfino, Vol 3; 2018
50. Sanna C, Ballero M, Maxia A. Le piante medicinali utilizzate contro le patologie epidemiche in ogliastra (Sardegna centro-orientale). *Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem., Serie B*, 113 (2006) pagg. 73-82
51. Tyagi Amit Kumar, Davide Gottardi b, Anushree Malik a, Maria Elisabetta Guerzoni Anti-yeast activity of mentha oil and vapours through in vitro and in vivo (real fruit juices) assays. *Food Chemistry* 137 (2013) 108–114
52. **Filigheddu** E., Manconi M., Palmieri A., Manca M.L., Caddeo C., D'hallewin G., Pinna R., Bortone A., Milia E. In vitro activity of Citrus Lemon var. Pompia and Thymus Herba-Barona *Clin Oral Invest* (2017) 21:1359–1433 DOI 10.1007/s00784-017-2109-z
53. Manconi M, Giacomo Petretto G, D'hallewin G, Escibano E, Milia E, Pinna R, Palmieri A, Firoznezhad M, Peris JE, Usach I, Fadda AM, Caddeo C, Manca ML Thymus essential oil extraction, characterization and incorporation in phospholipid vesicles for the antioxidant/antibacterial treatment of oral cavity diseases. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 171 (2018) 115–122
54. A. Piras, S. Porcedda, D. Falconieri, A. Maxia, Mj. Gonçalves, C. Cavaleiro & L. Salgueiro Antifungal activity of essential oil from *Mentha spicata* L. and *Mentha pulegium* L. growing wild in Sardinia island (Italy). *Chem. Biodiversity* 2016, 13, 1076 – 1087
55. Roberto Pinna, Enrica Filigheddu, Claudia Juliano, Alessandra Palmieri, Maria Manconi, Guy D'hallewin, Giacomo Petretto, Margherita Maioli, Carla Caddeo, Maria Letizia Manca, Giuliana Solinas, Antonella Bortone, Vincenzo Campanella, Egle Milia Antimicrobial Effect of *Thymus capitatus* and Citrus limon var. pompia as Raw Extracts and Nanovesicles *Pharmaceutics* 2019, 11, 234.
56. Milia E, Usai M, Szotakova B, Elstnerova M, Králová V, D'hallewin G, Spissu Y, Barberis A, Marchetti M, Bortone A, Campanella V, Mastandrea V, Langhansova L, Eick S. The pharmaceutical ability of *Pistacia lentiscus* L. leaves essential oil against periodontal bacteria and *Candida* sp. and its anti-inflammatory potential. *Antibiotics* 2020 *in press*
57. R. Pinna, M. Usai, B. Szotáková, M. Marchetti, C. Juliano, S. Eick, F. Hromcik, P. Usai, G. Spano, A. Bortone, E. Milia *Pistacia lentiscus* L. essential oil - a potential new antimicrobial in oral healthcare IADR Congress London 2018, (a)
58. Pinna R, Juliano C, Palmieri A, Manconi M, D'hallewin G, Petretto G, Maioli M, Caddeo C, Manca M, Bortone A, Usai P, Milia E The antimicrobial profile of *Thymus capitatus* as raw essence and employing nanovesicles targeting *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Caries Res* 2018;52:468-547, (b)
59. Filigheddu Enrica Antimicrobial activity and chemical characterisation of the Sardinian plants Citrus Lemon CV Pompia Camarda, Vitis Vinifera L. CV Cannonau, Thymus Herba-Barona Loisel and Pistachia Lentiscus L. Tesi di Dottorato Dott.ssa Enrica Filigheddu Tutor: Prof.ssa

Egle Milia Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italy, CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE BIOMEDICHE, XXIX CICLO, Anno Accademico 2015 – 2016, Coordinatore del Corso: Prof. Andrea Fausto Piana, CURRICULUM IN ODONTOSTOMATOLOGIA ESTETICA ADESIVA E PREVENTIVA, Responsabile di Curriculum: Prof.ssa Egle Milia

60. Donaera F, Filigheddu E, Milia E Caratterizzazione chimica, attività antibatterica e anticandida di Citrus Lemon var. Pompia e Timo Erba Barona 21° Congresso Nazionale SIDOC, Roma 2017, Presentazione in Sezione Premio “De Fazio” giovani ricercatori Università Italiane.
61. Ship, J. A. Mccutcheon, S. Spivakovsky A. R. Kerr A. R. Safety and effectiveness of topical dry mouth products containing olive oil, betaine, and xylitol in reducing xerostomia for polypharmacy-induced dry mouth. Journal of Oral Rehabilitation 2007;34: 724–732
- 62 . Kerr AR, Corby PM, Shah SS, Epler M, Fish GS, Norman RG. Use of mucoadhesive disk for relief of dry mouth: a randomized, double-masked, controlled crossover study. J Am Dent Ass 2010;141:1250-56