SALIVA ARTIFICIAL EM GEL

Artificial Saliva gel

CARMONA, Alessandra da Silva
Centro Universitário Max Planck

DIAS, Leoni Adriana de Souza
Centro Universitário Max Planck

REBELO, Márcia de Araújo Rebelo
Centro Universitário Max Planck

Resumo: A saliva é um do fluído multifuncional que contribui na proteção e lubrificação da mucosa oral, fonação, deglutição e saúde bucal. A redução do fluxo salivar faz com que o indivíduo apresente quadros intensos de secura bucal e hiposalivação, conhecido como xerostomia. As principais causas da xerostomia são tabagismo, alcoolismo, consumo excessivo de medicamentos, depressão, estresse, diabetes, doenças autoimune, quimioterapia e radioterapia. O objetivo deste estudo foi desenvolver um substituto salivar em gel para amenizar os sintomas causados pela xerostomia. A formulação da saliva artificial foi obtida pela incorporação de cloreto de potássio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio, cloreto de cálcio di-hidratado, fosfato de potássio, xylitol, metilparabeno, monobásico, carboximetilcelulose e goma xantana. Os espessantes foram incorporados em concentrações diferentes para produzir saliva artificial de uso diurno e noturno. A saliva artificial em gel foi envasada em embalagem própria contendo bico aplicador. A caracterização da viscosidade foi realizada em viscosímetro rotacional na temperatura de 25ºC e 37ºC. A avaliação microbiológica das formulações foi realizada em placa Petri contendo Ágar Mac Conkey, Ágar sangue e Ágar sabouraund. Os resultados mostraram que a viscosidade diminui em função da concentração do espessante e do aumento da temperatura. As formulações se mostraram livres de contaminação microbiológica. A saliva artificial em gel apresenta características adequadas para amenizar os sintomas de boca seca causados pela xerostomia.

Palavras chave: saliva, saliva artificial, xerostomia.

Abstract: Saliva is one of the multifunctional fluid that contributes to the protection and lubrication of the oral mucosa, phonation, swallowing and oral health. The low production of saliva causes the individual to present intense pictures of dry mouth and hyposalivation, known as xerostomia. The main causes of xerostomia are smoking, alcoholism, excessive medication consumption, depression, stress, diabetes, autoimmune diseases, chemotherapy and radiotherapy. The aim of this study was to develop a salivary gel replacement to alleviate the symptoms caused by xerostomia. The formulation of artificial saliva was obtained by incorporating potassium chloride, sodium chloride, magnesium chloride, calcium chloride dihydrate, potassium phosphate, xylitol, methylparaben, monobasic, carboxymethylcellulose and xanthan gum. The thickeners were incorporated in different concentrations to produce daytime and nighttime artificial saliva. The artificial gel saliva was packed in its own package

containing applicator nozzle. Viscosity characterization was performed in a rotational viscometer at 25ºC and 37ºC. The microbiological evaluation of the formulations was performed in a petri dish containing Mac Conkey Agar, Blood Agar and Sabouraund Agar. The results showed that the viscosity decreases as a function of thickener concentration and temperature increase. The formulations were free from microbiological contamination. Artificial gel saliva has adequate characteristics to alleviate dry mouth symptoms caused by xerostomia.

Key words: saliva, artificial saliva, xerostomia

INTRODUÇÃO

A saliva desempenha um papel fundamental na manutenção da cavidade oral, sendo um fluído corporal que apresenta propriedades multifuncional complexa e versáteis. A saliva possui propriedades essenciais para a proteção e lubrificação da mucosa oral, mastigação, digestão, deglutição, limpeza dos tecidos orais e cicatrização. Além disso, a saliva é responsável por manter a saúde bucal, pois proporciona controle antibacteriano, antivirais e antimicóticos, inibindo a proliferação bacteriana dos dentes responsável pelo aparecimento de cáries (BARTELS 2009, SCARABELOT, 2010). A saliva apresenta ainda, função imunológica e propriedades analgésicas superiores a morfina (BASCONES et al., 2008).

A saliva é secretada pelas glândulas salivares maiores, sendo elas: parótida, submandibular e sublingual (CAMARGO, 2008). A saliva é constituída por 99% de água e 1% de sais minerais, proteínas e eletrólitos. Um ser humano saudável pode produzir diariamente cerca de 1 a 1,5 L de saliva, sendo que o pH pode variar entre 6,0 e 7,0 (ALMEIDA et al., 2008).

A redução do fluxo salivar (hiposalivação) faz com que o indivíduo apresente quadros intensos de secura bucal, conhecido como xerostomia. A palavra xerostomia vem do grego onde ”Xeros”, significa secos, e “estoma”, significa boca, termo utilizado para descrever a falta ou a diminuição do fluxo salivar (BROCHADO, 2014). Diversos fatores podem causar a xerostomia entre eles estão o stress, alterações hormonais, doença de Parkinson, tabagismo, alcoolismo, doenças autoimune e uso de medicamentos. Entre os fármacos, os maiores responsáveis por causar a xerostomia são os opióides, anti-histamínicos, antidepressivos, antiepilépticos, ansiolíticos e anticolinérgicos. A xerostomia também pode ser causada por tumores e pelo tratamento

quimoterápico e/ou radioterápico, em especial, quando utilizados no tratamento do câncer de cabeça-pescoço e boca (ALMEIDA et al., 2005; SCARABELOT, 2010; VILA et al., 2011).

O câncer de boca (CB) é considerado o quinto maior tipo de câncer do país. Segundo os dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), cerca de 90% dos pacientes diagnosticados com CB eram tabagistas ou etilistas. O CB pode afetar os lábios e/ou cavidade oral. Quando localizado na região interna da boca o CB pode acometer a gengiva, músculos faciais, região do palato, língua e região embaixo da língua. Pesquisas indicam o aparecimento de 14.700 novos casos por ano, entre eles 11.200 serão homens e 3.500 serão mulheres (INCA, 2018). O tratamento com radioterapia em pacientes diagnosticados com CB podem destruir as glândulas salivares causando a xerostomia (CHAMBERS et al., 2007).

O diagnóstico precoce da xerostomia pode amenizar o sofrimento dos que apresentam hiposalivação. A avaliação é realizada quando a taxa de fluxo salivar estimulada é ≤ 0,5 a 0,7 mL/min. e a taxa de fluxo salivar não estimulado é ≤ 0,1 mL/min, análise conhecida como sialometria. A xerostomia em pacientes com hiposalivação é diagnosticada quando a taxa de fluxo de saliva é menor que a taxa de absorção de líquido na mucosa oral mais a taxa de evaporação do líquido boca (FEIO, 2005; VILLA; CONNELL; ABATI, 2015).

Diversos tratamentos podem ser utilizados para restaurar produção de saliva, aliviando os sintomas e prevenindo as consequências ocasionadas pela redução do fluxo salivar. Os métodos terapêuticos podem ser endógenos ou exógenos. A abordagem endógena envolve a substituição ou aumento da função das glândulas salivares com o uso de estímulos mecânicos, tratamento farmacológicos ou modificações genéticas. Esses tratamentos procuram estimular a secreção de água, eletrólitos e macromoléculas ou evitar/diminuir os danos causados pela radiação ionizante. Os tratamentos exógenos envolve a aplicação tópica de substitutos salivares no intuito de substituir a saliva produzida naturalmente (VILLA; CONNELL; ABATI, 2015).

Os substitutos salivares serão utilizados para minimizar os sintomas da xerostomia e proporcionar melhor qualidade de vida aos pacientes (CHAMBERS et al., 2007). As salivas artificiais são formuladas para serem substitutos da saliva natural na sua composição e biofísicas, porém não são capazes de estimular a

produção de saliva pelas glândulas salivares. Devem ser usadas quando o paciente tiver pouca ou nenhuma função salivar. As salivas artificiais são consideradas terapias de substituição, com função lubrificante, hidratante e antimicrobiana (BARTELS, 2009).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi produzir saliva artificial na forma farmacêutica de gel nos laboratórios da Faculdade Max Planck, para amenizar os sintomas de boca seca apresentados por pacientes portadores de xerostomia.

MÉTODO

A Tabela 1 descreve a concentração dos materiais utilizados para preparação da saliva artificial em gel. As formulações, diurna e noturna, foram preparadas com os mesmos componentes, porém concentrações de espessantes diferentes.

Tabela 1 - Formulação das salivas artificiais em gel para aplicação diurna e noturna

Material	Concentração (%)	
	Saliva diurna	Saliva noturna
Cloreto de potássio	0,092	0,092
Cloreto de sódio	0,07	0,07
Cloreto de magnésio hexahidradato	0,004	0,004
Cloreto de cálcio dihidratado	0,1	0,1
Fosfato de potássio monobásico	0,026	0,026
Carboximetilcelulose (CMC)	0,4	0,8
Xilitol	2,0	2,0
metilparebeno	0,05	0,05
Goma Xantana	0,1	0,2
Água purificada (qsp)	97,16	97,16

A formulação de saliva artificial em gel teve como base para sua preparação a formulação de saliva artificial disponível na Farmacopéia Brasileira 5ª ed**.** A goma xanta e xilitol foram propostos pelo autor**,** esses insumos foram adicionados com o objetivo de melhorar o aspecto físico de viscosidade e de palatividade.

O cloreto de potássio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio hexahidratado, cloreto de cálcio di-hidratado, o fosfato de potássio monobásico e o xilitol foram dissolvidos em água purificada. O CMC foi disperso em água ultrapura. O metilparabeno foi disperso em água purificada e aquecido a 60ºC até total solubilização. A goma xantana foi dispersa em água purificada e mantida sob agitação mecânica (Fisaton, modelo 710, São Paulo, Brasil) até total homogeneização. O CMC foi adicionado a dispersão de goma xantana e homogeneizado. A solução de sais foi adicionada a dispersão de CMC e goma xantana, por último foi adicionado o metilparabeno. A saliva artificial permaneceu em repouso, sob refrigeração (18 ºC) durante 24 h. Após esse período o pH (Ms Tecnopon mPa 210 – Piracicaba Brasil) foi ajustado para um intervalo entre 6,0 – 7,0.

Para a determinação da viscosidade aparente o *spindle* foi previamente selecionado, por tentativa e erro, até que a medida do erro relativo (% torque) fosse maior do que 10 e menor que 100% (Viscosímetro rotativo digital - Brookfield – DVI Prime, Massachusetts, USA). Quando o % torque era superior a 100% o tamanho do *spindle* era reduzido. Inversamente, se leitura era inferior a 10% o tamanho do *spindle* era aumentado. A viscosidade das formulações nas temperaturas de 25 ºC ± 1ºC e 37 ºC ± 1ºC foi mantida com auxílio de banho-maria (Brookfield – TC 550, Massachusetts, USA). Os resultados da viscosidade (cP) aparente foi registrado. A análise foi realizada em triplicata *(n=3)*.

Para a preparação das placas Petri os meios de cultura foram preparados de acordo com as instruções do fabricante. O meio de cultura foi levado para aquecimento sob agitação constante até solubilização. Posteriormente foi esterilizado em autoclave (cristófoli Vitali Brasil), mantido a 120ºC durante 20 min. Após a esterilização o meio de cultura foi resfriado a 50ºC e distribuir 20 a 25 ml em placas de Petri (90 mm) estéreis. As placas foram resfriadas, embaladas e armazenadas sob refrigeração (8ºC).

Para a realização da semeadura da saliva artificial em gel uma alíquota das salivas artificiais (diurna e noturna) foi retirada com auxílio de uma alça estéril. A semeadura foi realizada por esgotamento do meio em três ou quatro setores. As placas foram deixadas em estufa de cultura para fungos (Ethiktecnology, São Paulo, Brasil) a 29 ºC, e estufa de cultura bacteriológica (Sinergia científica, São Paulo, Brasil), a 35°C, durante 72 h. No período de 24

h, 48 h e 72 h as placas foram retiradas da estufa e avaliado se ocorreu crescimento de microrganismos. Os resultados foram registrados por imagem fotográfica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A saliva fisiológica é constituída por componentes sólidos dissolvidos em cerca de 99% de água, sua composição sofre variações em função do fluxo salivar, estando relacionado ao tipo, intensidade e duração do estímulo das glândulas pelas glândulas, parótidas, submandibular e sublingual (MOURA et al., 2007; CAMARGO, 2008). O presente estudo produziu uma saliva artificial na forma de gel para ser aplicada no período diurno e noturno em pacientes que apresentam xerostomia. Contendo em sua composição eletrólitos e agentes espessantes (CMC e goma xantana), sendo estes utilizados em concentrações diferentes para a obtenção de diferentes viscosidades.

Na formulação proposta pela Farmacopeia 5ª ed., utilizada como base para o desenvolvimento desse estudo, foi incorporado a goma xantana e o xilitol. A goma xantana é um polissacarídeo produzido por bactérias do gênero Xanthomonas. Esse polímero permite a formação de soluções viscosas em baixas concentrações (0,05 a 1,0%) e estabilidade físico-quimica em ampla faixa de pH e temperatura (LUVIEINO; SAMPARINI, 2009). O xilitol é um poliálcool com propriedade adoçante capaz de substituir a sacarose em formulações, sendo bem tolerado por portadores de diabetes (KANDEMAN,1997). Segundo Makinen (2000), o xilitol contribui para a saúde bucal, reduzindo a incidência de cárie, remineralizando os dentes, estabilizando as cáries, reduzindo o crescimento de *Streptococcus mutans e lactobacillus* de saliva, sem aumentar a placa dentária, controlando o pH da placa, e tamponamento.

O pH da formulação foi ajustado entre 6,0 e 7,0 após a sua preparação. O pH salivar pode contribuir para as trocas iônicas durante a Xerostomia e desmineralização e remineralização do esmalte, com supersaturação de cálcio e fosfato (PREETHA; BANERJEE, 2005). No intuito de contribuir para o processo de remineralização dentária, foi adicionado na formulação da saliva artificial fosfato e cálcio, pois segundo Preetha e Banerjee (2005), a presença de eletrólitos de fosfato e cálcio ajudam na remineralização dos dentres através da ligação à superfície destes.

A finalidade de uma saliva artificial para o tratamento da xerostomia é aliviar o desconforto oral, mantendo a boca úmida e reduzindo as lesões resultantes da xerostomia (HANNING et al., 2013). Apesar dos substitutos salivares apresentarem alívio a curto prazo, a saliva artificial produzida neste estudo não contém em sua formulação nenhum ativo farmacológico que limitaria o seu uso diário, além disso, a formulação produzida apresenta baixo custo. Esse diferencial possibilita a reaplicação da saliva durante várias vezes ao dia, e durante a noite, sem apresentar contra indicações, atendendo desta forma, um maior número de pessoas portadoras de xerostomia.

.

A análise dos resultados de viscosidade obtidos pela ensaio de viscosidade das salivas artificiais (diurna e noturna) realizado nas temperaturas de 25ºC e 37ºC a 50 rpm estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Viscosidade aparente das salivas artificiais (diurna e noturna)

	VISCOSIDADE APARENTE (*n*=3)	
SALIVA	**Temperatura 25º C**	**Temperatura 37º C**
DIURNA	**137,7 cp ± 0,1**	**116,5 cp ± 0,1**
NOTURNA	**1361,3 cp ± 0,1**	**1251,3 cp ± 0,1**

Fonte:

Elaborado pelos autores

. A análise dos resultados de viscosidade mostra que a saliva noturna apresentou maior grau de viscosidade do que a saliva diurna. Esse resultado era esperado tendo em vista que a saliva noturna apresenta maior concentração de agente de viscosidade.

Existe uma variedade de salivas artificiais baseadas em sistemas aquosos contendo CMC como agente de viscosidade, porém, alguns autores relatam que sua eficácia em manter o filme na cavidade bucal é de curta duração (DOST, FARAH, 2013). A goma xantana contribui para manter a viscosidade em uma faixa variável de pH e em temperaturas variáveis (NACHTIGALL et al., 2004). Além da capacidade de conferir viscosidade a formulação o CMC proporciona a proteção dos tecidos moles bucais e os eletrólitos como cálcio favorece os tecidos duros dos dentes (OH et al., 2008).

A Figura 3 mostra as placas de Ágar Mac Conckey (painel I), Ágar sangue (painel II) e Ágar Sabouraud (painel III) semeadas com saliva artificial diurna (D) e noturna (N) e mantidas em estufa durante 24 h, 48 h e 72 h.

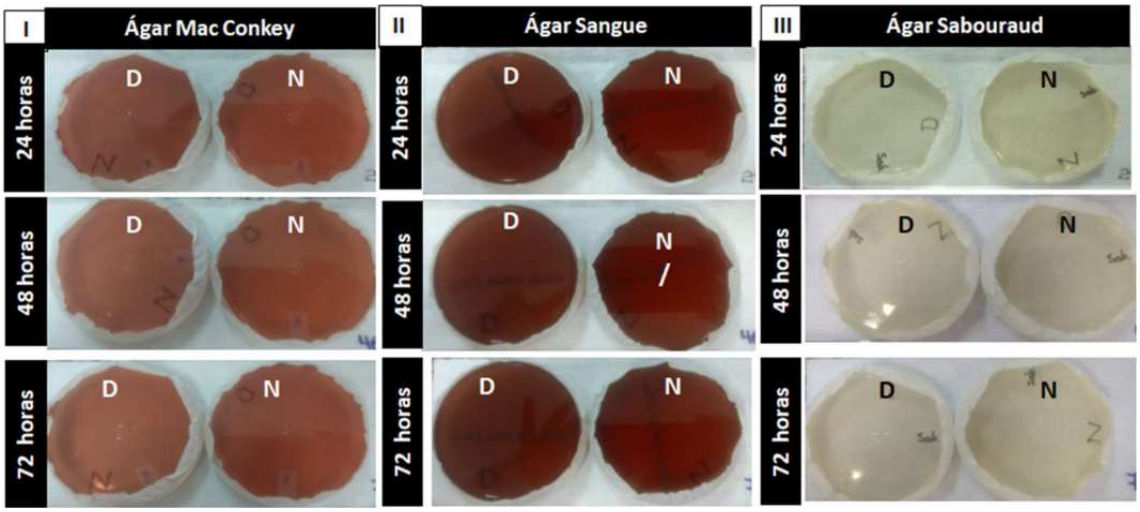


Figura 3 - Placas de Ágar Mac Conkey (I), Ágar sangue (II) e Ágar sabouraud (III) semeadas com saliva artificial diurna (D) e noturna (N) mantidas em estufa durante 24 h, 48 h e 72 h.
Fonte: Elaborado pelos autores

A análise da contaminação microbiana se faz necessário devido o risco de possíveis infecções associadas aos produtos administrados por via oral. A segurança do usuário (paciente) pode ser afetada pela contaminação microbiana, pois acarreta problemas na estabilidade, alteração do pH e das características organolépticas (cor, odor, sabor e textura). Além disso, em pacientes imunodeficientes ou de extrema idade pode ocorrer infecção, estando associada a quantidade de microrganismos disponíveis e o seu grau de patogenia (OLIVEIRA; ROSSATO; BERTOL, 2016).

Pode-se constatar através das imagens de semeadura por meio Agar, que não houve crescimento de fungos nem de bactérias no período de até 72 h, sendo assim a formulação está aprovada para o envase, rotulagem e teste clínico *in vivo*.

As salivas artificiais em forma de gel diurna e noturna foram veiculadas em embalagens próprias (Figura 1), para desta forma, facilitar a aplicação desde a região mais profunda da boca e facilitando a aplicação em toda mucosa bucal.

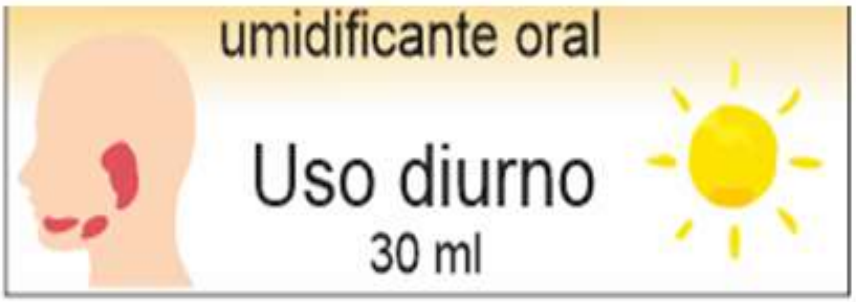


Figura 1 - Embalagem com bico aplicador para veiculação da saliva artificial em gel (diurna e noturna)

Fonte: Elaborado pelos autores

As salivas artificiais comercializadas são veiculadas na forma farmacêutica de spray, drágeas e gel. No intuito de favorecer a formação do filme na cavidade bucal as salivas artificiais (diurna e noturna) foram produzidas na forma de gel, com os mesmos componentes, mas viscosidade diferenciada. Além disso, a escolha das embalagens com bico aplicador (Figura 1) teve como objetivo, facilitar melhor umidificação de toda a mucosa oral, principalmente por se tratarem de pacientes portadores de câncer bucal que podem sofrer mutilações de estruturas presentes na região bucal, acometendo as gengivas, bochechas, céu da boca, língua, e embaixo da língua, o assoalho, com perda parcial ou até mesmo total de língua onde dificulta espalhar a formulação.

A escolha do rótulo (Figura 2) foi desenvolvido visando diferenciar as formulações diurna e noturna, seguida de cores e imagens.



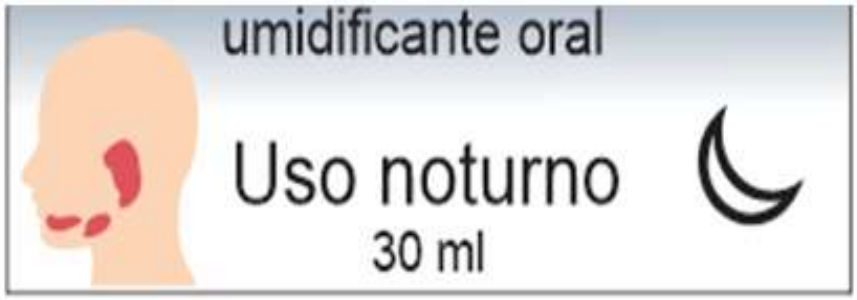


Figura 2 - Rótulos das salivas artificiais (diurna e noturna)

Fonte: Elaborado pelos autores

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A saliva em gel produzida neste estudo apresentou características físico química de viscosidade adequada para substituição da saliva natural e o controle microbiológico realizado não apresentou crescimento de microrganismos. Diante dos resultados obtidos a saliva artificial em gel é promissora para o início dos estudos *in vivo*.

REFERÊNCIAS:

ALMEIDA, D. P. V et al .Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. **The journal of contemporary dental practice,** v.9, n. 3,p.072, 2008.

BARTELS, C. L. (2009). Xerostomia information for dentists-helping patients with dry mouth. **RD Online Dental Education**, pp. 1-15.

BASCONES, A. et al. Conclusiones del simposium de la Sociedad Española de Medicina Oral sobre "Xerostomia. Síndrome de boca seca. Boca ardiente". **Avances en Odontoestomatologia.Madrid**,v, 23, n,3, p 119-126, 2007.

BROCHADO,J.I.V Xerostomia e produção de saliva artificial na doença oncológica. Universidade de João Pessoa, faculdade de ciências da saúde, Porto, 2014.

CAMARGO,G.**Funções e composição da saliva, Monografia**(graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, São Paulo.(s.n.), 2008.

CHAMBERS, M. S., et al.. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer: pathogenesis, impact on quality of life, and management. **Head & Neck**, 26, pp. 796-807, 2004.

ANVISA. Agência de Vigillância Sanitária. Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos, Modulo IV, 2004.

FEIO.M;SAPETA.P. Xerostomia em cuidados Paliativos. **Acta Medica Portuguesa,** v.18,p.459-466,Abri 2005.

HANNING, S. M., et al. Lecithin-based emulsions for potential use as saliva substitutes in patients with xerostomia – viscoelastic properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 456, p. 560-568, 2013.

INCA. Disponível em: < http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/bo>. Acesso em: 24 mar 2018

KANDELMAN, D. Sugar, alternative sweeteners and meal frequency in relation to caries prevention: newperspectives. **British Journal of Nutrition***,* v.77, p.S121-S128, 1997.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos Tecnológicos**, v. 5, n. 1, p. 50-67, 2009.

MANZ, U., VANNINEN, E., VOIROL, F. Xylitol - it'sproperties and use as a sugar substitute in foods. In: F. R.A. SYMPOSIUM ON SUGAR AND SUGAR, 1973.

MOURA, S. A. B de et al. Diagnostic Value of Saliva in Oral and Systemic Diseases: A Literature Rewiew**, Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 7, n. 2, p. 187-194, 2007

NACHTIGALL, A. M., SOUZA, E. L., MALGARIM , M. B., ZAMBIAZI, R. C. Geléias Light de Amora-Preta. **B. CEPPA**, C v. 22, n. 2, p. 337 – 354, 2004.

Oh, D. J., et al.. Effects of carboxymethylcellulose (CMC)-based artificial saliva in patients with xerostomia. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery - Elsevier**, 37, p. 1027-1031, 2008..

OLIVERIA, L. S. de OLIVEIRA; ROSSATO, L. G.; BERTOL, C. D. Microbiological contamination evaluation of different dentrifices. **Revista de Odontologia da UNESP,** v. 45, n. 2, p. 85-89, 2016.

Oplustil**,** C.P.**;** Zoccoli**,** C.M.**;** Tobouti**,** N.R.**;** Sinto**,** S.I**. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica,** 3 ª Ed. Sarvier**,** São Paulo**,** Agosto 2016.

PREETHA, A. E BANERJEE, R.. Comparison of artificial saliva substitutes. Trends Biomater **Artificial Organs**, v.18, n. 2, p. 178-186, 2005

SCARABELOT, V.L . Análise de fatores psicológicos e sistêmicos associados à queixa de xerostomia. Dissertação (mestrado em Medicina) **– faculdade de Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.**

Villa A, Polimeni A, Strohmenger L, Cicciù D, Gherlone E, Abati S. Dental patients' self-reports of xerostomia and associated risk factors. **American Dental Association,** v. 142, n. 7. P. 811-816, 2011.

VILLA, A.; CONNELL, C. L.; ABATI, S. Diagnosis and management of xerostomia and hyposalivation. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 11, p. 45-51, 2015.