

STUDIUL MICROCRISTALIZĂRII FLUIDULUI ORAL LA COPII

Rezumat

Este actual studiul dinamicii cristalogenezei fasciilor fluidului oral pentru a elabora parametri cantitativi exacti de evaluare a structurilor fractale și standardizarea ulterioară a procesului de analiză a microcristalizării fluidului oral.

Scopul lucrării: studiul particularităților microcristalizării fluidului oral la copii.

Materiale și metode: au fost examinați clinic 100 de copii de 7-10 ani. Fluidul oral (FO) a fost colectat cu o pipetă sterilă în cantitate de 0,2-0,3 ml. Pe lame de sticlă au fost aplicate câte trei picături de FO preluat de la fiecare copil. Studiul modificărilor cristalografice ale FO a fost efectuat după metoda elaborată de Șatohina S, și coaut., 2006. Deshidratarea picăturilor de FO s-a produs în termostat la t 37°C, fiind protejate de praf. Micropreparatele au fost examinate la microscopul optic. Studiul a fost efectuat în conformitate cu cerințele Codului de etică în cercetarea științifică.

Rezultate: gradul de microcristalizare a FO la copiii cu leziuni carioase este redus comparativ cu copiii liberi de carie și este corelat cu gradul de carioactivitate.

Concluzii: studiul particularităților structurale ale picăturii deshidratate de FO la copiii cu carie dentară a elucidat un șir de markeri ai modificărilor produse la nivelul cavității orale care pot fi utilizați ulterior în cadrul cercetărilor screening, în practica stomatologică și la elaborarea măsurilor cariopreventive și evaluarea eficienței acestora.

Cuvinte cheie: Fluid oral, microcristalizare, carie dentară.

Aurelia Spinei,
conferențiar universitar

Catedra de chirurgie
oro-maxilo-facială
pediatrică, pedodonție și
ortodonție
IP USMF „Nicolae
Testemițanu“

Irina Guțan,
studentă anul V

Facultatea Stomatologie,
IP USMF „Nicolae
Testemițanu“

Summary

THE STUDY OF ORAL FLUID MICROCRYSTALLIZATION IN CHILDREN

The study of crystallogeneze oral fluid dynamics is up to date to produce precise quantitative assessment parameters of fractal structures and further standardization of analysis process of oral fluid microcrystallization.

Aim: to study the particularities of oral fluid microcrystallization in children.

Material and methods. The clinical data of this study is based on the examination of 100 children aged 7-10. The study of crystallographic changes of the oral fluid in children with dental caries and in caries free ones was performed using the method developed by Shatohina S. et al., 2006. Oral fluid (OF) was collected with a sterile pipette in the amount of 0.2-0.3 ml from the oral cavity floor. Then, three drops of oral liquid have been applied on a glass slide. Dehydration of OF drops happened in the thermostat at t 37°C, being protected from dust. Micropreparations have been examined with the optical microscope. The study was conducted in accordance with the requirements of the Code of Ethics for scientific research.

Results: the degree of microcrystallization of oral liquid in children with carious lesions is 2.1 times lower than the same indicator considered in caries-free children, which was correlated with the duration of dental caries and the work of caries process.

Conclusions: the study of structural particularities of dehydrated droplet of oral liquid in children with dental caries has elucidated a number of markers of the changes produced in the oral cavity that can be applied later in the screening research in dental practice, development of cariopreventive measures and evaluation of their effectiveness.

Key words: Oral fluid, microcrystallization, dental caries.

Introducere

Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății, caria dentară prezintă în continuare o problemă importantă de sănătate publică în țările din Europa de Est și grupurile defavorizate din toate țările membre ale Uniunii Europene, afectând 60% — 90% din copiii de vârstă școlară și majoritatea adulților [13, 19]. Astfel, caria dentară, prin frecvența înaltă și complicațiile locale, loco-regionale și generale pe care le provoacă și impactul asupra calității vieții, reprezintă o problemă complexă nu numai din punct de vedere medical, dar și social. Tratamentul cariei dentare, chiar în perioada preșcolară, este deseori tardiv, sau paliativ, fapt pentru care profilaxia afecțiunilor orale trebuie să devină obiectivul prioritar în activitatea medicului stomatolog [19]. Analiza rezultatelor studiilor epidemiologice efectuate în țara noastră în conformitate cu cerințele OMS a elucidat necesitatea inițierii și realizării programelor de sănătate orală, fapt care vor contribui la reducerea prevalenței și incidenței principalelor afecțiuni stomatologice [10].

Interacțiunea dintre factorii care creează situația cariogenă în cavitatea orală influențează considerabil rezistența smalțului dentar la acțiunea acizilor, ceea ce conduce ulterior la formarea leziunilor carioase, iar gradul de intensitate al acestui efect determină activitatea procesului carios [5-9]. Rezultatele multiplelor cercetări efectuate în domeniul cariologiei au constituit suportul teoretic pentru elaborarea conceptului care interpretează caria dentară ca o afecțiune provocată de un șir de factori patologici, determinați de starea de sănătate a organismului, și care acționează direct asupra țesuturilor dure dentare, sau indirect, prin acțiuni asupra ratei secreției salivare și a compoziției chimice a salivei [4, 6, 8, 16, 17].

Demineralizarea smalțului dentar în cadrul procesului carios se reflectă asupra proprietăților fluidului oral. Astfel, studiul particularităților fizico-chimice ale fluidului oral poate servi drept test de predicție, care identifică dereglarea mecanismelor de protecție a cavității orale. [26-28].

Principalele avantaje al studiului proprietăților biofizice ale salivei sunt non-invazivitatea, simplitatea realizării și accesibilitatea prelevării substratului studiat, oferind astfel noi perspective în cadrul studiilor clinice [18]. Prin urmare, este actual studiul dinamicii indicatorilor fluidului oral pentru a elabora parametri cantitativi individuali, exacti de evaluare a riscului carios și prognozarea cariei dentare. Deoarece eficiența prevenției primare și secundare a cariei dentare este maximă atunci când se acționează ținut și diferențiat în dependență de factorii de risc individuali, pentru majorarea eficienței strategiilor preventive aplicate la copii, este necesar de a studia minuțios factorii de risc, inclusiv modificările care se produc la nivelul fluidului oral.

Scopul

Studiul particularităților microcristalizării fluidului oral la copii.

Materiale și metode

Materialul prezentei lucrări se bazează pe examinarea clinică a 100 de copii cu vârstele cuprinse între 7 și 10 ani care locuiesc permanent în municipiul Chișinău.

Criteriile de includere în cercetare: copii în vârstă de 7-10 ani, acordul informat în formă scrisă a părinților sau reprezentanților legali pentru participarea copiilor în studiu.

Criterii de excludere a pacienților din studiu: lipsa acordului informat a părinților sau reprezentanților legali pentru participarea copiilor în studiu și manifestări de fluoroză dentară.

Metodologia examinării pacienților a fost efectuată după următoarea schemă: acuze și anamneza, examenul clinic obiectiv și examene complementare. Examenul clinic obiectiv a inclus metode specifice de evaluare a afectării prin carie dentară: inspecția, palparea și percuția; determinarea indicilor: frecvența cariei dentare, indicele COA, rata cariei. Metodele complementare au inclus; termodiagnosticul, colorimetria și transiluminarea țesuturilor dure dentare.

Evaluarea proprietăților fizico-chimice ale fluidului oral a inclus:

- determinarea vitezei de remineralizare a smalțului dentar;
- evaluarea parametrilor fizico-chimici ai fluidului oral;
- studiul modificărilor cristalografice ale fluidului oral.

Determinarea vitezei de remineralizare a smalțului a fost efectuată după metoda descrisă de Redinova T.L., Leontiev V.C. și Ovrutkii G.D., 1982. Această metodă permite aprecierea rezistenței dinților la carie și capacitatea de remineralizare a salivei și se realizează în modul următor: placa bacteriană de pe suprafața dintelui cercetat este înlăturată minuțios cu un bulete de vată umectat în soluția 3% H₂O₂, suprafața dinților se usucă cu un get de aer. Pe suprafața vestibulară uscată a unui incisiv superior central, la distanța de 2 mm de la marginea incizală, în zona centrală, se aplică cu ajutorul unei pipete o picătură de soluție de acid clorhidric cu pH 0,3-0,6. După 5 sec suprafața dintelui se spală și se usucă. Pe suprafața gravată se aplică o picătură de soluție de 2,0% de albastru de metilen, apoi surplusul de colorant se înlătură utilizând numai bulete uscate de vată.

Gradul de demineralizare a smalțului se apreciază după intensitatea colorării porțiunii cercetate de smalț, care este comparată cu cheia standardă de 10 culori, fiecare nuanță fiind notată cu 10 puncte. În zilele următoare se efectuează colorarea porțiunii demineralizate a smalțului: pînă la momentul cînd smalțul nu se mai colorează. Lipsa colorației demonstrează remineralizarea completă a smalțului. Deci, maleabilitatea smalțului la acțiunea acizilor se exprimă în procente, iar capacitatea de remineralizare a smalțului — în zile.

Interpretarea rezultatelor:

- maleabilitatea smalțului la acțiunea acizilor mai joasă de 40% și capacitatea de remineralizare a salivei mare (1-3 zile) indică o cariorezistență înaltă,
- maleabilitatea smalțului la acțiunea acizilor mai mare de 40% și capacitatea de remineralizare a salivei joasă (mai mare de 3 zile) indică o rezistență redusă la acțiunea factorilor cariogeni [24].

Parametrii biofizici ai fluidului oral au fost apreciați utilizând Kitul *Saliva-Check Buffer, GC*, care reflectă: rata fluxului salivar, Ph-ul și capacitatea de tampon a salivei (Fig. 1). Algoritmul de evaluare a rezultatelor studiului proprietăților fluidului oral, utilizând Kitul *Saliva-Check Buffer, GC*, este prezentat în figura 2.



Fig. 1. Kitul Saliva-Check Buffer, GC

Test results		GC	
Name of patient	File reference	Date	
Saliva-Check Buffer / Saliva-Test			
Resting saliva		Stimulated saliva	
Step 1 Hydration	Step 2 Viscosity	Step 3 pH	Step 4 Quantity
> 60 sec. <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	sticky frothy <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	5.0-5.8 <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	< 3.5 ml <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
< 60 sec. <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	frothy bubbly <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	6.0-6.6 <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	3.5-5.0 ml <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
	waterly clear <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	6.8-7.8 <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	> 5.0 ml <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
Step 5 Buffering		Step 5 Buffering	
	0-5 points <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>		6-9 points <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
	10-12 points <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>		
Saliva-Check Mutans / Streptococcus mutans-Test			
> 500,000 cfu/ml <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	Plaque Indicator Kit / Plaque-Test		
< 500,000 cfu/ml <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	pH	Mature plaque	Fresh plaque
	5.0-5.8 <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	visible <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	visible <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
	6.0-6.6 <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	not visible <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	not visible <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
	6.8-7.8 <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>		

Fig. 2. Algoritmul de evaluare a rezultatelor studiului proprietăților fluidului oral, utilizând Kitul Saliva-Check Buffer, GC

Studiul modificărilor cristalografice ale fluidului oral (FO) a fost efectuat după metoda elaborată de Șatohina S, și coaut., 2006. Fluidul oral a fost colectat cu o pipetă sterilă în cantitate de 0,2 — 0,3 ml din zona planșeului cavității orale. Apoi, pe o lamă de sticlă, pretrată cu alcool și eter au fost aplicate trei picături de lichid oral. Deshidratarea picăturilor de FO s-a produs în termostat la $t = 37^{\circ}\text{C}$, fiind protejate de praf. Micropreparatele au fost examinate la microscopul optic AmScope B120C-E1 (Fig. 3). Prin metoda de cercetare a microcristalogramelor fluidului oral (MCG FO) au fost cercetate zonele centrale și periferice ale faciilor de FO. S-au analizat structurile fractale, cristalele separate și substanța amorfă. Interpretarea componentelor cristalografice s-a realizat prin aplicarea tabelor speciale cu notificarea caracteristicilor structurilor studiate [30].



Fig. 3. Microscopul optic AmScope B120C-E1

Pentru cuantificarea microcristalelor a fost elaborat un algoritm de analiză a MCG FO, conform căruia se examinează micropreparatul pentru evidențierea straturilor faciilor și determinarea celui de bază. Pentru descrierea cristalului se apreciază următorii parametri: lungimea, lățimea și gradul de curbură a ramurii principale, raportul dintre lățimea ramurii principale la baza și la vârful microcristalului, raportul perimetrului și suprafeței microcristalului, frecvența și unghiul de deviere a dendritelor de gradul I, caracterul simetric al ramificațiilor dendritelor de gradul I de la ramura principală [28].

Ulterior se cercetează integritatea ramurei principale a trunchiului și a zonei de conexiune a trunchiului cu dendritele de gradul I, forma vârfului dendritelor (conică, ovală sau divizată). De asemenea, se apreciază incluziunile organice: proporția între suprafața incluziunilor organice și câmpul de vedere; localizarea incluziunilor organice (la periferie, în zona centrală, sau pe întreaga suprafață a câmpului de vedere); raportul cu cristalul (aderare sau izolare). Evaluarea gradului de microcristalizare (MCG) a fost efectuată după examinarea picăturilor uscate de FO, rezultatele fiind exprimate în puncte medii în dependență de tipurile identificate de formare a cristalelor: 0,0-1,0 — grad foarte scăzut, 1,1-2, 0 — grad scăzut, 2,1-3,0 — satisfăcător, 3,1-4,0 — grad înalt, 4,1-5,0 — grad foarte înalt de microcristalizare. Riscul devierii gradului de microcristalizare (RDM) a fost apreciat după formula: $RDM = (RR-1) / RR \times 100$, unde RR - riscul relativ [28].

Studiul a fost realizat în conformitate cu cerințele etice, cu obținerea acordului scris al părinților copiilor sau reprezentanților lor legali. Procesarea statistică a materialului a fost realizată la PC în programele Excel-2003 și SPSS.

Rezultate și discuții

Au fost examinați 100 de copii practic sănătoși cu vârstele cuprinse între 7 și 10 ani: 40% fete și 60% băieți (Fig. 4). Toți copiii luați în studiu s-au născut și locuiesc permanent în mun. Chișinău. Din numărul total de copii 16% au vârsta de 7 ani, 29% — 8 ani, 29% — 9 ani și 26% — 10 ani (Fig. 5).

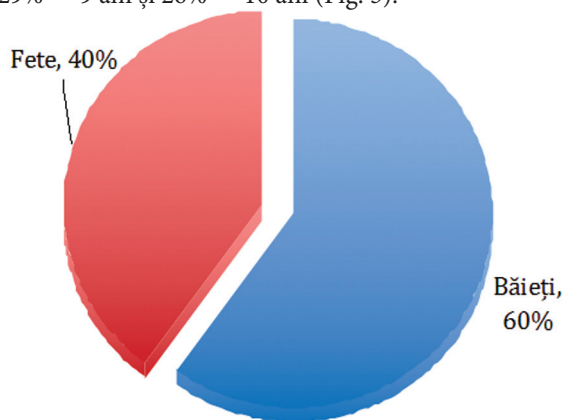


Fig. 4. Repartizarea după sexe a copiilor (%)

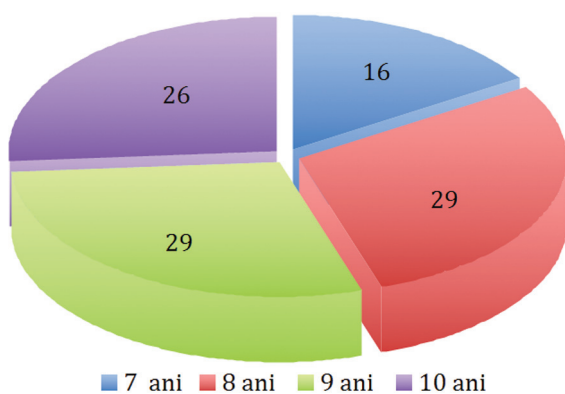


Fig. 5. Repartizarea copiilor după vârste (%)

Repartizarea copiilor în loturi după vârstă și sexe este reprezentată în tabelul 1. În cercetare au fost incluși copiii practic sănătoși, ai căror părinți sau reprezentanți legali au dat acordul în formă scrisă pentru participarea copiilor în studiu. Au fost excluși din studiu copiii cu manifestări de fluoroză dentară.

Tabelul 1. Repartizarea copiilor în loturi după vârstă și sexe

Vârsta, ani	Fete		Băieți		Total	
	nr	%	nr	%	nr	%
7	6	6	10	10	16	16
8	10	10	19	19	29	29
9	13	13	16	16	29	29
10	11	11	15	15	26	26
Total	40	40	60	60	100	100

La examenul clinic al 100 copii cu vârstele cuprinse între 7 și 10 ani caria dentară s-a depistat la 48% din subiecți, 52% fiind liberi de carie (Fig. 6). Valoarea medie a indicelui co+COA la copiii examinați este de $2,25 \pm 0,6$, fiind la fete de 1,46 mai crescut comparativ cu băieții ($p=0,05$). Acest indicator crește la copiii de 8 ani de 1,3 ori în comparație cu cei de 7 ani. De

asemenea, s-a înregistrat reducerea indicatorului de intensitate a cariei dentare de la $3,17 \pm$ la 8 ani până la $1,38 \pm$ la 10 ani, fapt care coincide cu schimbul fiziologic al dinților.

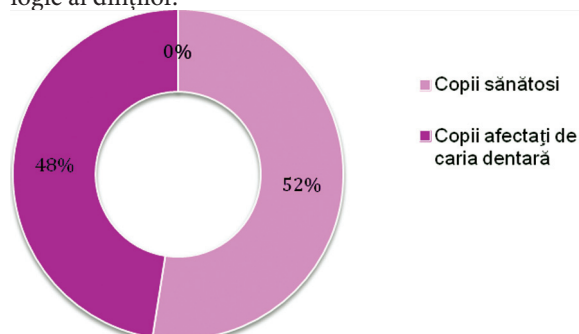


Fig. 6. Frecvența cariei dentare la copiii luați în studiu

La majoritatea copiilor luați în studiu (90%) a fost stabilit gradul redus de activitate carioasă. La 8% din copii s-a estimat o carioactivitate moderată, iar la 2% din copiii examinați a fost stabilit gradul intens de activitate carioasă (Fig. 7).

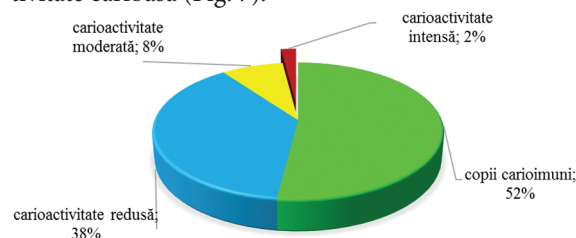


Fig. 7. Gradul de activitate a cariei dentare la copiii luați în studiu

În literatura de specialitate studiată este elucidată creșterea succesibilității la caria dentară, cauzată atât de starea defectuoasă a igienei orale, reducerea pH-ului, cât și de scăderea fluxului salivar și a capacității de tamponare salivară. În acest compartiment al studiului ne-am propus să studiem factorii locali de risc carios penru a realiza ulterior o planificare rațională a măsurilor cariopreventive [11-14, 24, 28].

Starea de igienă orală a fost apreciată prin estimarea indicelui OHI-S, G.Green, I.Vermillion, 1964. La aprecierea inițială a stării de igienă orală, s-a constatat faptul că din numărul total de copii, doar la 24% din copii a fost constatat nivelul bun de igienă orală. Majoritatea copiilor examinați 68% aveau un nivel satisfăcător de igienă orală. Valoarea medie a indicelui OHI-S la copiii luați în studiu a constituit $1,27 \pm 0,1$. La 14% din copii a fost depistată igiena orală defectuoasă și prezența plăcii bacteriene „mature“, aceștia din urmă având un grad moderat și intens de activitate carioasă.

Proprietățile lichidului oral (rata fluxului salivar, pH-ul salivei și capacitatea de tamponare salivară) la copiii au fost studiate cu utilizarea kitul-ui *Saliva-Check Buffer*, GC care este împărțit în 5 etape diferite, din care primele 3 implică studiul salivei nestimulate, în timp ce ultimele 2 implică cercetarea salivei stimulate:

etapele 1-2 — determinarea ratei fluxului salivar, vâscozității și consistenței salivei nestimulate, care furnizează informații despre stilul de viață al pacientului și modul în care afectează sănătatea orală;

etapa 3 — pH-ul salivei de repaus determină nivelurile de acid care pot fi periculoase de mari, cauzând apariția eroziunilor sau cariilor dentare;

etapa 4 — măsurarea cantității de salivă stimulată identifică eventuale disfuncții ale glandelor salivare;

etapa 5 — capacitatea tampon as alivei stimulate arată eficiența alivei în a neutraliza acizii din mediul bucal [24].

Deoarece funcțiile și caracteristicile acestor două tipuri de salivă sunt diferite, prin evaluarea ambelor, rezultatele testelor devin instrumente extrem de puternice de identificare a riscului carios și de comunicare ulterioară cu pacientul într-o discuție despre metodele de prevenire și planul de tratament.

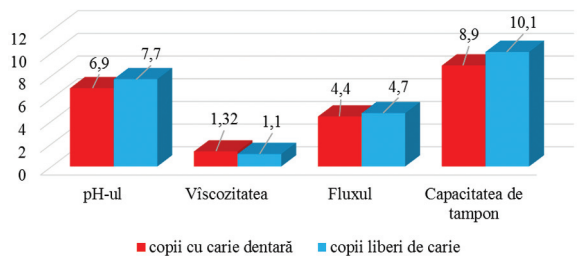


Fig. 8. Proprietățile fluidului oral la copii

Astfel, prin aplicarea kitul-ui *Saliva-Check Buffer*, GC s-a constatat viteza normală a cantității de salivă stimulată eliminată, atât la copiii afectați de carie dentară, cât și la cei liberi de carie (Fig. 8). Diferențe semnificative s-au elucidat la analiza comparativă a pH-ului și a capacității de tamponare salivară la copiii cu carie dentară și cei carioimuni. Astfel, la copiii cu activitate carioasă intensă și moderată reducerea pH-ului FO ($pH=6,2\pm 0,2$) și capacitatea de tamponare mai redusă ($8,9\pm 0,4$) a FO, precum și viscozitatea relativ crescută ($1,32\pm 0,3$) a FO constituie factori importanți de risc carios. Riscul sporit de demineralizare a țesuturilor dure dentare cauzată de rezistența redusă a smalțului la acțiunea acizilor ($RSA=68,22\pm 2,18\%$) și capacitatea redusă de remineralizare a salivei ($4,28\pm 0,2$ zile) depistată la copiii cu carie dentară prin metoda de determinare a vitezei de remineralizare a smalțului propusă de Redinova T.L., Leontiev V.C. și Ovrutkii G.D., 1982. La copiii liberi de carie capacitatea de remineralizare a salivei este de 1,62 ori mai mare ($p<0,01$), iar rezistența smalțului la acțiunea acizilor — de 1,94 ($p<0,001$) ori mai mare comparativ cu cei afectați de carie dentară (Fig. 9).

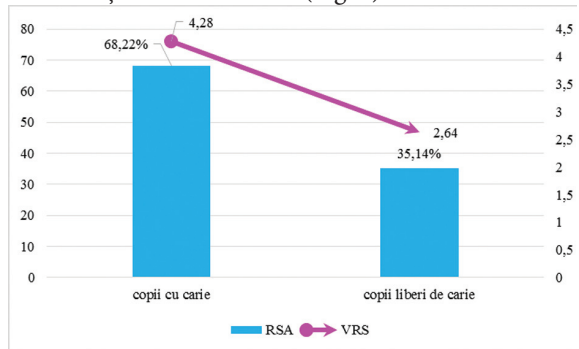


Fig. 9. Valorile rezistenței smalțului la acțiunea acizilor (RSA) și a vitezei de remineralizare a smalțului (VRS) la copii

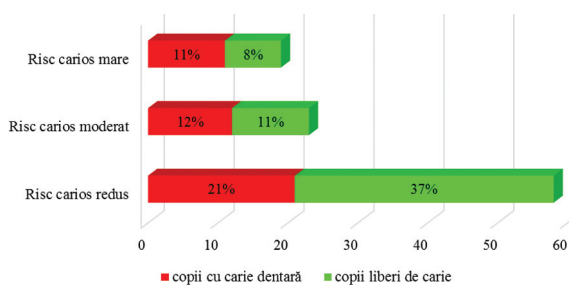


Fig. 10. Riscul carios la copii

Așadar, prin sumarea tuturor factorilor de risc studiați (rata fluxului salivar, pH-ul salivei, capacitatea de tamponare salivară și rezistența smalțului la acțiunea acizilor), la 19% din copii a fost depistat riscul carios sporit, la 23% — riscul carios moderat și la 58% din copii — riscul carios redus (Fig. 10).

În prezenta lucrare a fost efectuată analiza comparativă a modificărilor cristalografice a fluidului oral (FO) la copiii cu carie dentară și cei liberi de carie după metoda elaborată de Șatohina S. și col., 2006 [30]. La deshidratarea picăturilor de FO pe lama de sticlă rămâne un sediment, structura lui microcristalină fiind dependentă de starea de sănătate a cavității orale. Au fost cercetate zonele centrale și periferice ale faciilor de FO.

În rezultatul investigației au fost specificate principalele tipuri de microcristalizare (MC) a fluidului oral. Pentru I tip de MC este caracteristică prezența structurilor cristaline prismatice de dimensiuni mari fuzionate având forma de „ferigă” (Fig. 11). Pentru obiectivizarea cantitativă a datelor, tipul I de MC a fost apreciat cu 5 puncte. Structurile fractale fuzionate aleatoriu sunt caracteristice pentru tipul II de MC, apreciat cu 4 puncte (Fig. 12). În cazul tipului III de MC (Fig. 13) în zona centrală sunt prezente cristale separate cu formă stelată, iar la periferie se mențin cristalele fractale de dimensiuni mai mari (3 puncte).

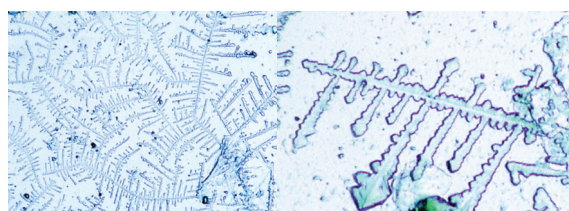


Fig. 11. Fascia fluidului oral. Tipul I de microcristalizare

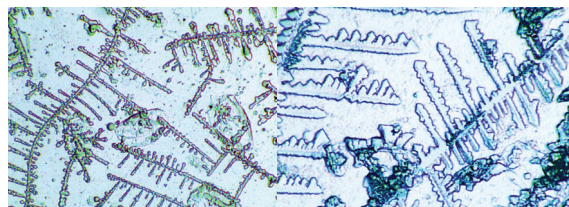


Fig. 12. Fascia fluidului oral. Tipul III de microcristalizare

Tipul IV de MC este caracterizat prin prezența cristalelor separate cruciate, în formă de ramură (Fig. 14) sau tijă, plasate relativ uniform pe toată suprafața picăturii deshidratate (2 puncte). O mare cantitate de cristale separate cu formă neregulată, situate izo-

metric sau conglomerate de frânturi de cristale sunt caracteristice pentru tipul V de MC (1 punct) (Fig. 15). În cazul lipsei complete a cristalelor, este constat tipul VI de MC (0 puncte).

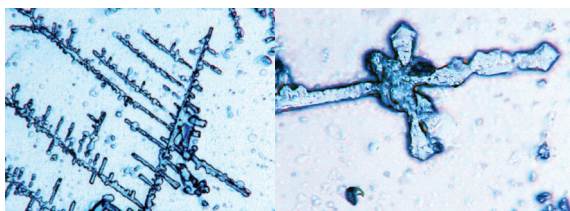


Fig. 13. Fascia fluidului oral. Tipul IV de microcristalizare

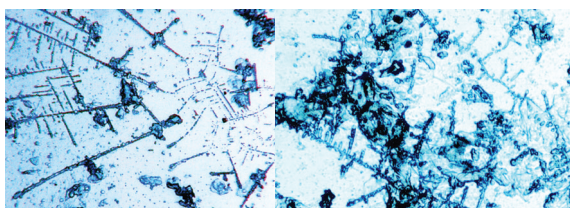


Fig. 14. Fascia fluidului oral. Tipul V de microcristalizare

În rezultatul prezentului studiu s-a constatat că la copiii cu grad înalt de rezistență carioasă predomină tipul I și II de MC, iar la cei cu intensitate sporită a cariei dentare — tipurile IV — VI de MC. Prin metoda de cercetare MCG FO au fost examinate nu doar structurile fractale, cristalele separate, dar și substanța amorfă. În rezultatul analizei MCG fluidului oral s-a stabilit că în zona centrală sunt prezente structuri lineare, având o imagine dendritică, în formă de „ferigă“, dimensiuni corpurilor amorse sunt reduse, precum și acumularea la suprafața lor a cristalelor de dimensiuni mai mari. În zona periferică a fașilor FO la copiii sănătoși predomină structuri „cruciate“ și „prismărice“.

La pacienții afectați de carie dentară structura cristalelor este dereglată considerabil, pe întreaga suprafață a feței fiind prezente în abundență elemente de deteriorare a integrității structurii. MCG a FO la copiii cu carie complicată sunt marcate de caracterul evidențiat, lărgit și fisurat a zonei periferice, precum și prezența structurilor cristaline de tip „ferigă“ situate atât în zonele periferice, cât și centrale. Caracterul evidențiat, lărgit și fisurat a zonei periferice reflectă conținutul majorat de proteine în lichidul oral și derularea proceselor patologice provocate de radicali liberi. Gradul distrugerii feței variază ca urmare a perturbării integrității structurii.

La copiii liberi de carie dentară în zona periferică a MCG FO nu s-au depistat incluziuni suplimentare, iar zona centrală era constituită preponderent de cristale dendritice. La copiii cu leziuni carioase în zona periferică a fasciilor lichidului oral a fost stabilit un șir de particularități morfologice:

1. cristalizarea patologică a compușilor minerali în mediul proteic, manifestată prin prezența incluziunilor cristaline, care s-au depistat în zona periferică a fasciei FO;
2. prezența rețelei fisurilor radiale, care în cristalografia clinică este considerată markerul pro-

ceselor de distrugere tisulară, depistat la copii cu leziuni carioase netratate sau complicațiile cariei dentare;

3. prezența porțiunilor de pigmentare (markerul de intoxicație) care pot fi asociate cu fenomenul de cristalizare patologică a sărurilor în mediul proteic au fost depistate la copiii cu activitate carioasă intensă, leziuni carioase netratate sau complicațiile cariei dentare (Fig. 16).

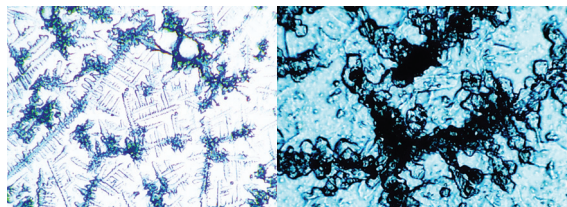


Fig. 15. Fascia fluidului oral. Porțiuni de pigmentare (marker de intoxicație)

În continuare, s-au comparat particularitățile MCG fluidului oral la copiii sănătoși și cei afectați de carie dentară. Astfel, la majoritatea copiilor cu carie dentară s-a depistat cristalizarea patologică a compușilor minerali în mediul proteic. S-a supoziționat că acest marker caracterizează capacitatea cristalelor de „a lega“ microorganismele și produsele activității lor în agregate cristaline cu incluziuni organice.

La copiii cu activitate carioasă intensă, leziuni carioase netratate și/sau complicațiile cariei dentare, în cazul persistenței focarelor cronice de infecție odontogenă se constată markerul intoxicație și/sau degradare tisulară.

S-a constatat că gradul de MC a LO la copiii cu leziuni carioase este redus considerabil, constituind $(1,53 \pm 0,15)$ puncte) și fiind de 2,1 ori mai redus comparativ cu acest indicator apreciat la copiii din lotul martor $(3,22 \pm 0,16)$ puncte) ($p < 0,01$, $RR=2$). La copiii cu carii dentare s-a remarcat o tendință de reducere a gradului de MC corelată cu durata de afectare prin carie dentară. Astfel, la copiii cu durată de afectare până la 1 an, gradul de MC a LO este de 1,4 ori mai redus ($p < 0,05$, $RR=1,9$), la copiii cu durată de îmbolnăvire de la 1 la 2 ani — de 1,96 ori ($p < 0,01$, $RR=2,4$), iar la copiii cu durată de îmbolnăvire de la 2 la 3 ani — de 4,1 ori mai redus în comparație cu valorile acestui indicator estimat la copiii din lotul martor ($p < 0,05$, $RR=3,8$).

Analiza tabloului morfologic a picăturii deshidratate de lichid oral a elucidat relația între gradul de MC a LO și activitatea procesului carios, astfel la copiii cu activitate carioasă moderată gradul de MC a LO este de 1,9 ori ($p < 0,05$, $RR=2,1$), iar la copii cu activitate carioasă intensă — de 2,3 ori mai redus comparativ cu lotul martor ($p < 0,01$, $RR=2,6$). Rezultatele cercetării permit de a concluziona că gradul de microcristalizare a lichidului oral la copii se află în relație directă cu durata de afectare prin carie dentară ($r_{xy}=0,647$) și gradul de activitate carioasă ($r_{xy} = 0,248$).

Principalii indicatori ai procesului de secreție a salivei sunt cantitatea eliminată, compoziția, pH-ul

și capacitatea de tamponare. Cercetarea proprietăților salivei în vederea identificării riscului cariogen și monitorizarea activității carioase a luat amploare în a doua jumătate a sec. XX, și continuă până în prezent. Un interes deosebit prezintă studiile longitudinale ale parametrilor biofizici și biochimici ai salivei, corelați cu evoluția maladiilor psihosomatice, severitatea sau remisia acestora. Conform opiniei expuse de Elderton R. J. în 2003 „procesele carioase sunt ... manifestarea dezechilibrului global dintre ionii de calciu și fosfat în țesutul dentar și salivă, mediat de microorganismele biofilmului dentar, sub influența unor factori, dintre care cel mai important este fluorul“ [4, 6, 8, 24].

Caria dentară este consecința interacțiunii unui complex de factori etiologici. Un rol esențial revine reducerii cantității de salivă eliminată, ceea ce duce la formarea de leziuni carioase multiple într-o perioadă redusă de timp, localizate inclusiv pe suprafețele imune la carie dentară [1-9]. În condiții fiziologice, în cavitatea orală există un echilibru între procesele de demineralizare și mineralizare, un schimb de substanțe între smalț și salivă și substituirea permanentă a componentelor minerale de la suprafața smalțului dentar. Acest schimb de ioni se produce deosebit de activ la etapa de „maturizare“ a smalțului, în perioada imediată după erupția dinților, asigurând furnizarea elementelor minerale în structurile smalțului [4, 24].

Densitatea salivei variază, în funcție de alimentele ingerate, între 1,003-1,008, fiind hipotonică comparativ cu plasma sanguină. Reglatorul principal al homeostazei, componentelor și echilibrului salivei este nivelul pH-ului. La un nivel neutru al pH-lui, saliva este saturată în ioni de calciu, prin urmare calciul din smalțul dentar nu se eliberează în lichidul oral, iar la un nivel acid al pH-lui are loc reducerea considerabilă a concentrației calciului din componența smalțului [2-6, 8, 11, 12].

Fosfații de calciu salivari, în compoziția sistemelor de tamponare ale salivei, au un rol important în menținerea stabilității echilibrului mineral al țesuturilor dure dentare în procesele de demineralizare/reminerizare care au loc în permanență în cavitatea orală. Saturarea salivei cu fosfat de calciu reprezintă un factor determinant în menținerea solubilității reduse a smalțului, ionii de Ca^{2+} și H_2PO_4^- diminuând dislocarea calciului din țesuturile dure dentare. Contactarea salivei saturate cu fosfat de calciu cu suprafețele dentare previne eliberarea calciului din structura țesuturilor dure dentare [2, 3, 6, 16, 24].

Datorită saturării cu hidroxiapatită, saliva constituie mediul care asigură derularea procesului de mineralizare posteruptivă a dinților și remineralizarea leziunilor carioase incipiente, reglând activ componența și proprietățile straturilor superficiale ale smalțului dentar [8, 11]. Pentru a se produce mineralizarea smalțului dentar este necesară penetrarea ionilor de fluor, calciu și fosfat, care participă la procesul de cristalizare a hidroxiapatitei și altor apatite. Fluorul acționează ca element de activare a procesului de formare a cristalelor. În cazul insuficienței în salivă a ionilor de

fluor, are loc încorporarea ionilor de clor, iar a ionilor de calciu — încorporarea ionilor de brom, fapt care reduce rezistența smalțului dentar la acțiunea acizilor [5, 6, 17].

Cercetările recente efectuate de un număr impunător de autori au demonstrat relația directă dintre rata fluxului salivar, clearance-ul și capacitatea de tamponare a salivei, menționând faptul că cele mai importante proprietăți ale salivei pentru prevenirea cariei dentare sunt efectul de neutralizare a acizilor, cunoscut sub numele de „clearance salivar“ sau „capacitatea orală de clearance“, iar reducerea fluxului salivar, simultan cu reducerea sistemelor de apărare în cavitatea orală, pot fi cauza evoluției severe a cariei dentare [3, 6, 8, 12, 16, 24].

În conformitate cu obiectivele medicinei bazate pe dovezi apare necesitatea aplicării metodelor de investigație clinice și de laborator care asigură obținerea parametrilor cantitativi de precizie înaltă pentru argumentarea și selectarea rațională a tratamentului patologiei studiate [22].

Lichidele organismului uman sunt utilizate pe scară largă în diagnosticul de laborator. Cu toate acestea, obținerea lor pentru cercetare este însoțită de anumite dificultăți (introducerea în mediul intern al organismului, leziuni tisulare, respectarea unor algoritmi speciali temporari și nu întotdeauna fiziologici). În ultimii ani, au apărut primii pași în studiul manifestărilor diverselor maladii asupra organizării structurale a lichidelor biologice [15, 21, 23, 26].

Odată cu trecerea anilor, în diverse domenii ale medicinei este implementată o nouă tehnologie de diagnosticare — cercetarea morfologică a lichidelor biologice [22]. Obținerea structurilor lichidelor biologice investigate se realizează pe calea transferului fazic a acestora din starea lichidă în stare solidă prin deshidratare. În rezultatul unor studii experimentale s-a demonstrat faptul că informația conținută în faza lichidă la nivel molecular, în procesul de deshidratare este transferată la nivel macrosopic sub forma diferitor structuri, care devin vizibile pentru cercetător [15].

Cercetarea proceselor de auto-organizare a diferitelor medii lichide fiziologice și patologice au elucidat importanța primordială în formarea structurilor a componentelor organice prezente în lichidele biologice chiar într-o cantitate redusă (de la 0,01 microni până la 100 g/l și mai mult). Separarea structurilor în componente organice și anorganice se realizează prin metoda deshidratării prin aplicarea lichidului biologic pe o suprafață transparentă sub formă de picătură, care se deshidratează în condiții speciale. Volumul picăturii este determinat de raportul dintre greutatea specifică a lichidului și forțele sale de tensiune superficială [25-27].

Conform concepțiilor teoretice, în deshidratarea lichidului biologic interacționează mecanisme specifice, care asigură formarea structurilor sistemice și subsistemice de fază solidă. Termenul „fascia“ se referă la ceea ce a mai rămas dintr-o picătură de salivă,

după uscare. O reprezentare grafică a acțiunii acestor mecanisme ne oferă schema picăturii de lichid biologic (amplasată pe un plan orizontal) în secțiune sagitală, elaborată de Тарасевич, Ю. și Аюпова А., 2003 [28].

Autorii au relatat că evaporarea lichidului nu se produce uniform de pe întreaga suprafață deschisă a picăturii. Dat fiind faptul că semisfera are o grosime diferită în zona centrală și la cea periferică, în picătura analizată la evaporarea apei, concentrația substanțelor dizolvate se schimbă neuniform, astfel în special în zona periferică (care are grosime redusă) majorându-se mai rapid, comparativ cu zona centrală (cu grosime maximă) a picăturii. În asemenea procese interacționează forțele osmotice și oncotice. Datorită faptului că puterea forțelor osmotice depășește considerabil puterea forțelor oncotice, sărurile migrează spre centrul picăturii, spre zona cu concentrație redusă a substanțelor dizolvate. În zona centrală proteinele și alte substanțe dizolvate cu greutate moleculară mare cedează apa și sunt deplasate spre periferia picăturii. Ca rezultat, zona marginală amorfă a picăturii deshidratate este prezentată de structurile de origine organică, iar cea centrală cristalizată — de săruri. Astfel, se produce transformarea structurilor instabile, deosebit de dinamice la nivel molecular în macrostructuri stabile de fază solidă [28]. Conform cercetărilor Annarelli și col., 2001 zona centrală este denumită zona structurilor cristalizate, iar cea periferică — zona amorfă: zona tranzitorie poate fi observată doar la cercetarea serului sanguin. Raportul lățimii zonei periferice la diametrul picăturii este utilizat pentru determinarea conținutului de proteine în lichidelor biologice. Volumul picăturii este determinat de raportul dintre greutatea specifică a lichidului și forțelor tensiunii superficiale [1].

Lichidul oral reprezintă un mediu biologic specific foarte bine organizat, cu proprietăți unice, universale, este un mediu dinamic, care reflectă toate schimbările din organism, inclusiv și procesele patologice. În decursul ultimilor decenii s-au făcut primii pași în studierea manifestărilor diverselor maladii în organizarea structurală a FO [1, 15, 23, 30]. Luând în considerație conceptul cristalografiei clasice, în diagnosticul timpuriu sau prenozologic al afecțiunilor stomatologice și al maladiilor sistemice, s-a propus aplicarea metodei cristalografice de cercetare a celui mai accesibil lichid biologic, a fluidului oral [28].

Primele cercetări ale cristalogramelor au elucidat că la deshidratarea picăturilor de FO pe lama de sticlă rămâne un sediment, structura lui microcristalină fiind dependentă de starea de sănătate cavității orale și a întregului organism. Rezultatele studiului tipurilor de microcristalizare evidențiate caracterizează capacitatea de remineralizare a salivei. Proprietățile optice ale cristalelor variază semnificativ în dependență de factorii exo- și endogeni, acest fenomen fiind aplicat în cercetare, în scop de diagnostic [22]. Astfel, estomparea sau modificarea imaginii morfologice a lichidului oral reprezintă un indicator al tulburărilor calitative și cantitative ale proteinelor salivare, a mu-

cinelor, constituind unul din cei mai timpurii markeri ai proceselor patologice care se produc în organism și poate fi utilizat pentru a depista maladiile la etapa premorbidă, pentru a aplica eficient măsurile de prevenire și tratament minim-invaziv [25].

Particularitățile structurale ale microcristalogramelor (MCG) sunt determinate de echilibrul componentelor organice și minerale și de proprietățile fizico-chimice ale fluidului oral [26].

Este bine cunoscut faptul că saliva, fiind un lichid suprasaturat cu ioni de calciu și fosfați, posedă capacitatea de mineralizare a smalțului dentar. Starea de lichid suprasaturat este asigurată de structura sa, întregul volum al căruia este distribuit între micelii (Fig. 17). În condiții fiziologice cristalele de salivă au formă ramificată datorită prezenței în lichidul oral a micelilor $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, protejate de agregare de mucină care are o formă ramificată. Mucinele participă în transportul transepitelial al ionilor (Na^+ , K^+ , Cl^-), precum și la procesul de biocristalizare în care sunt implicați ionii de Ca^{2+} , constituind matricea organică care reglează volumul și configurația structurilor cristalice și formarea de structuri cristaline dendritice la uscare lichidului oral [21, 29, 30]. În condiții patologice, structurile cristaline sunt intrerupte, și în locul lor la microscop se observă formațiuni amorfă [28].

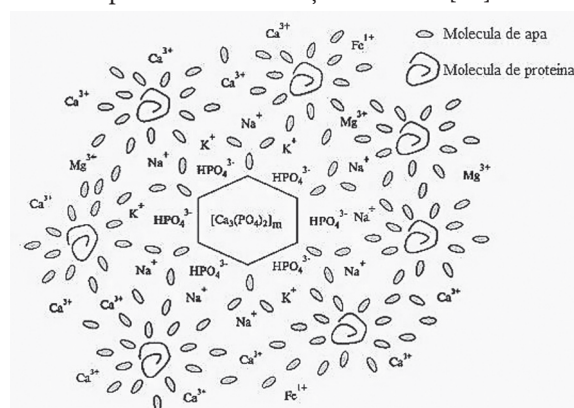


Fig. 16. Structura miceliilor salivei cu nucleul din fosfatul de calciu [21]

Proprietățile optice ale cristalelor variază semnificativ în dependență de factorii exo- și endogeni, acest fenomen fiind aplicat în cercetare, în scop de diagnosticare [27]. În condiții nefavorabile, în cavitatea orală se modifică structura salivei, prin urmare, se dereglează funcția ei de mineralizare urmată de modificarea formei și proprietăților structurilor cristalice [23, 29, 30].

Astfel, modificările imaginii morfologice a lichidului oral, datorită proprietății sale de microcristalizare este un indicator al tulburărilor calitative și cantitative a proteinelor salivare, în special a mucinelor și este unul din cei mai timpurii markeri ai proceselor patologice care se produc în organism și poate fi utilizat pentru a depista maladiile la etapa premorbidă, pentru a aplica eficient măsurile de prevenire și tratament minim-invaziv. Prin urmare, tulburarea microcristalizării FO reflectă dereglările cantitative și cali-

tative a componentei mucinelor, fapt care reprezintă un risc sporit în apariția leziunilor carioase [1, 26, 28].

Stabilirea semnelor distinctive ale modificărilor cristalografice în saliva care sunt influențate de modificările funcționale și metabolice, majorează exactitatea stabilirii diagnosticului și eficiența predicției riscului carios. Metoda de deshidratare (cristalizarea biolichidelor pe lama de sticlă) poate oferi o viziune de ansamblu a stării de sănătate a întregului organism. Modificarea formei cristalelor este consecința schimbărilor proprietăților fizico — chimice ale salivei [23, 28].

Demineralizarea smalțului dentar în cadrul procesului carios se reflectă asupra proprietăților salivei, fapt care se manifestă prin modificarea structurilor cristaline MCG FO. Gradul de microcristalizare a FO la copii se află în corelație directă cu durata și activitatea procesului carios. Astfel, studiul particularităților morfologice ale lichidului oral poate servi drept test de predicție, care identifică dereglarea mecanismelor de protecție a cavității orale. Cunoașterea mecanismelor de formare a acestor modificări este necesară pentru elaborarea măsurilor cariopreventive țintite pe factorii individuali de risc, iar accesibilitatea cercetării FO, simplitatea realizării metodologiei de cercetare, cheltuielile minime permite aplicarea acestei metode în practica stomatologică [26-28].

Metoda de cercetare a cristalogenezei lichidului oral poate fi aplicată nu doar în diagnosticul și predicția afecțiunilor cavității orale, dar pot utilizate în calitate de indicatori sensibili ai stării de funcționare al întregului organism. Elaborarea metodologiei înalt informative și neinvazive de diagnosticare a stărilor premorbide și precăutarea metodelor pentru diagnosticul oportun al modificărilor survenite în starea de sănătate a populației reprezintă cele mai importante domenii de cercetare în medicină.

Utilizarea fluidului oral în studiul stării de sănătate poate fi justificată printr-un șir de argumente:

1. Proprietățile fizico-chimice ale fluidului oral pot servi drept marker al modificărilor patologice nu numai în glandele salivare și cavitatea orală, dar și în alte organe și sisteme ale organismului uman [1-4, 11, 12, 18].

Componenta FO reflectă starea psihoemoțională [29], intensitatea metabolismului [30] și gradul de severitate a proceselor inflamatorii, proprietățile structurale și funcționale ale smalțului și rezistența lui la atacul carios [22-28]. S-a remarcat o tulburare a conținutului de salivă și vitezei de secreție salivară în cazul afecțiunilor cardio-vasculare. Modificarea formei cristalelor reprezintă o consecință a modificării caracteristicilor fizico-chimice ale salivei [15]. Modificările din compoziția salivei pot fi asociate nu numai cu prezența proceselor inflamatorii și afecțiuni (acute și cronice), dar și cu administrarea unor medicamente [1, 21, 28-30].

2. Cercetarea particularităților structurale ale fluidului oral în studiul stării de sănătate este promițătoare datorită metodei neinvazive de obținere a materialului biologic și simplă în aplicare.

3. Metoda de cercetare a cristalogenezei fluidului oral prin deshidratare cu obținerea microcristalogramelor fluidului oral (MCG FO) nu perturbă conținutul probei de testare și poate oferi o viziune de ansamblu a stării întregului organism.

Așadar, principalele avantaje ale MCG FO sunt non-invazivitatea, simplitatea realizării și accesibilitatea prelevării substratului studiat, oferind astfel noi perspective în cadrul studiilor clinice. Prin urmare, este actual studiul dinamicii cristalogenezei faciilor lichidului oral pentru a elabora parametrii cantitativi exacti de evaluare a structurilor fractale și standardizarea ulterioară a procesului de analiză a MCG FO [22-30].

Așadar, principalele avantaje al studiului proprietăților biofizice ale salivei sunt caracterul non-invaziv, simplitatea realizării și accesibilitatea prelevării substratului studiat, oferind astfel noi perspective în cadrul studiilor clinice. Prin urmare, este actual studiul dinamicii indicatorilor fluidului oral pentru a elabora parametrii cantitativi individuali, exacti de evaluare a riscului carios și prognozarea a cariei dentare. Deoarece eficiența prevenției primare și secundare a cariei dentare este maximă atunci când se acționează țintit și diferențiat în dependență de factorii de risc individuali, pentru majorarea eficienței strategiilor preventive aplicate la copii, este necesar de a studia minuțios factorii de risc, inclusiv modificările care se produc la nivelul fluidului oral.

Concluzii

1. Frecvența cariei dentare la copiii de 7-10 ani din municipiul Chișinău este de 48%, iar valoarea medie a indicelui co+COA constituie $2,25 \pm 0,6$, fiind la fete de 1,46 mai crescut comparativ cu băieții ($p=0,05$).
2. Gradul redus de activitate carioasă a fost stabilit la 90%, moderat — la 8%, iar intens — la 2% din copiii de 7-10 ani examinați.
3. La copiii cu activitate carioasă intensă și moderată reducerea pH-ului ($pH=6,2 \pm 0,2$) și capacitatea de tamponare joasă ($8,9 \pm 0,4$), precum și viscozitatea relativ crescută ($1,32 \pm 0,3$) a fluidului oral constituie factori importanți de risc carios. La copiii liberi de carie capacitatea de remineralizare a salivei este de 1,62 ori mai mare ($p<0,01$), iar rezistența smalțului la acțiunea acizilor — de 1,94 ($p<0,001$) ori mai mare comparativ cu cei afectați de carie dentară.
4. La copiii cu activitate carioasă intensă și moderată reducerea pH-ului ($pH=6,2$) și capacitatea de tamponare joasă ($8,9 \pm 0,4$) a fluidului oral constituie factori importanți de risc carios. Viteza normală a cantității de salivă stimulată eliminată s-a constatat atât la copiii afectați de carie dentară, cât și la cei liberi de carie. La copiii liberi de carie capacitatea de remineralizare a salivei este de 1,62 ori mai mare ($p<0,01$), comparativ cu cei afectați de carie dentară.

5. Gradul de microcristalizare a fluidului oral la copiii cu leziuni carioase este redus considerabil, constituind $(1,53 \pm 0,15)$ puncte) și fiind de 2,1 ori mai redus comparativ cu acest indicator apreciat la copiii din lotul martor $(3,22 \pm 0,16)$ puncte) ($p < 0,01$, $RR = 2$).
6. Studiul microcristalizării fluidului oral a depistat la copiii cu activitate carioasă intensă, leziuni carioase netratate și/sau complicațiile cariei dentare și în cazul persistenței focarelor cronice de infecție odontogenă markerii de intoxicație și/sau degradare tisulară.

Bibliografie

1. Annarelli C., Fornazero J., Bert J., Colombaria J. „Crack patterns in drying protein solution drops”, *Eur. Phys. J.*, Nr.5/2001, pp. 599-603.
2. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. „Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation”, *Clin Chim. Acta*, Nr.1-2 (383)/2007, pp. 30-40.
3. Cornejo S., Brunotto M., Hilar E. „Salivary factors associated to the prevalence and increase of dental caries in rural school children”, *Rev. Saude Publica*, Nr. 1(42)/2008, pp. 19-25.
4. Featherstone J.D. „The caries balance: the basis for caries management by risk assessment”, *Oral Health Prev Dent*, Nr. 2(3)/2004, pp.259-264.
5. Godoroja P., Spinei A., Spinei I. Stomatologie terapeutică pediatrică. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic Medicina. 2003, p. 56-57, 129-141.
6. Iliescu A., Gafar M. Cariologie și odontologie restauratoare. București, Romania: Editura Medicală, 2002. p. 35-43, 68-80, 91-96, 109-120.
7. Luca R. Pedodonție (vol. 2). București, Romania: Editura Cerma, 2003, p. 25, 35-47.
8. Luca R., Munteanu A., Vinereanu A. „Modalități de prevenire a cariei severe precoce la dinții temporari”, *Revista Română de Medicină Dentară*, Nr. 5(9)/2006, pp. 20-29.
9. Luca R., Prelipcean D., Farcașiu T. „Studiu epidemiologic privind patologia odontală la un lot de copii de 6-7 ani”, *Medicina stomatologică*, Nr. 3/2010, pp. 90-93.
10. Lupan I., Spinei A., Spinei I. „Experiența carioasă la copiii în Republica Moldova”, *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe medicale*, Nr. 2.(24)/2012, pp. 40-48.
11. Marthaler T. M. „Changes in dental caries 1953—2003”, *Caries Res*. Nr. 2.(38)/2004, pp.173-181.
12. Miller C., Foley J., Bailey A., Campell C., Humphries R., Christodoulides N. „Current developments in salivary diagnostics”, *Biomarkers Med*. Nr.1(4)/2010, pp.171-189.
13. Monitoring and evaluation of oral health. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: WHO Technical Report Series No. 782. 2007. p. 69-73.
14. Oral health in community health programs. WHO. Copenhagen: Regional office for Europe. 2010. p. 64.
15. Petricek V., Dusek M. Crystallographic computing system of ordinary and modulated structures. Praha: JANA2000. Institute of Physics, Academy of Sciences of the Czech Republic. 2003. p. 28-32.
16. Preethi B.P., Pyati A., Dodawad R. „Evaluation of flow rate, pH, buffering capacity, calcium, total protein and total antioxidant levels of saliva in caries free and caries active children — an in vivo study”, *Biomedical Research*, Nr. 3(21)/2010, pp. 289-294.
17. Spielmann N, Wong DT. „Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives”, *Oral Dis*, Nr. 4(17)/2011, pp. 345-354.
18. Spinei A. „Studiul particularităților microcristalizării lichidului oral la copiii cu carie dentară”, *Revista Română de Medicină Dentară*, Nr. 2(17)/2014, pp. 82-99.
19. Spinei A., Leous P., Spinei I. „Perspective de monitorizare a sănătății orale cu ajutorul indicatorilor europeni la copiii de vârstă școlară”, *Revista Română de Medicină Dentară*, Nr. 3 (18)/2015, pp. 205-220.
20. Spinei A., Picos A. M., Romanciu I., Berar A., Mihailescu A.M. „The study of oral liquid microcrystallization in children with gastro-esophageal reflux disease”, *Clujul Medical*, Nr. 4 (87)/2014, pp. 269-277.
21. Stephen Barrett, M.D. Herbal Crystallization Analysis. http://www.quackwatch.org/01_QuackeryRelatedTopics/Tests/hca.html consultat la 04.03.2016.
22. Барер Г.М., Денисов А.Б. Кристаллографический метод изучения слюны. Москва: ВУНМЦ Росздрава. 2008. с. 14-22.
23. Гайфулина В.Р. „Микрокристаллизация ротовой жидкости у разных групп пациентов и её компьютерный анализ”. In: Сборник научных студенческих работ „Студенты БГМУ — медицинской науке и здравоохранению Беларуси”, Минск, БГМУ, 2009, с. 15-16.
24. Леус П.А. „Доказательная стоматология как основа программ профилактики кариеса зубов у детей”, *Стоматология детского возраста и профилактика*, Nr. 2(7)/2008, с. 3-11.
25. Мартусевич А.К. „К раскрытию индикаторной роли кристаллографических методов исследования”, *Естествознание и гуманизм*, Nr.3(2)/2005, с. 24-27.
26. Мартусевич А.К. „Поведение биологических жидкостей и функциональный статус организма человека”, *Известия высших учебных заведений, Поволжский регион*, Nr.2/2007, с. 24-30.
27. Постникова И.В. „Перспективы применения комплексного кристаллографического исследования биологических жидкостей”, *Успехи естествознания*, Nr. 6/2007, с. 91-92.
28. Тарасевич, Ю. Ю., Аюпова А. К. „Влияние диффузии на разделение компонентов биологической жидкости при клиновидной дегидратации”, *Журнал технической физики*, Nr. 5(73)/2003, с. 13-18.
29. Уразаева Ф.Х., Уразаев К.Ф., Ларина М.В. „Пути изучения психофизиологических особенностей состава и свойств слюны”, *Современные наукоемкие технологии*, Nr. 3/2005, с. 44-45.
30. Шатохина С., Разумова С., Шабалин В. „Морфологическая картина ротовой жидкости: диагностические возможности”, *Стоматология*, Nr.4/2006, с. 14-17.

Data prezentării: 01.06.2016

Recenzent: Valentin Topalo