

RELAȚIA DINTRE MICROCRISTALIZAREA FLUIDULUI ORAL ȘI AFECTAREA COPIILOR PRIN CARIE DENTARĂ

Nicolae Dimitriu,
student, anul V
Facultatea de Stomatologie, USMF „Nicolae
Testemițanu” Chișinău, Republica Moldova, stu-
dent, anul V

Aurelia Spinei
dr.hab.șt.med., conf.univ.,
Facultatea de Stomatologie, USMF „Nicolae
Testemițanu” Chișinău, Republica Moldova, Ca-
tedra de chirurgie oro-maxilo-facială pediatrică și
pedodonție „Ion Lupan”

THE RELATIONSHIP BETWEEN ORAL FLUID MICROCRYSTALLIZATION AND CHILD AFFECTION BY DENTAL CARIES

Nicolae Dimitriu,
5th year student
Faculty of Dentistry, „Nicolae Testemitanu” State
University of Medicine and Pharmacy, Chisinau,
Republic of Moldova, 5th year student

Aurelia Spinei
Doctor Habilitat in Medical Sciences, Associate
Professor
Faculty of Dentistry, „Nicolae Testemitanu” State
University of Medicine and Pharmacy, Chisinau,
Republic of Moldova, the Department of pediatric oral
and maxillofacial surgery and pedodontics „Ion Lupan”

Rezumat

Scopul lucrării a constituit în studierea mi-
crocrystalizării fluidului oral și afectarea copii-
lor prin carie dentară. Au fost examinați clinic
148 de copii cu vârste cuprinse între 7 și 10 ani.
S-au estimat indicii de frecvență a cariei den-
tare și de experiență carioasă. Rata fluxului sa-
livar, pH-ul salivei și capacitatea de tamponare
salivară au fost studiate cu aplicarea Kitului
Saliva-Check Buffer, GC. Studiul microcrista-
lizării fluidului oral (FO) a fost efectuat prin
metoda de deshidratare a picăturilor. Studiul
a fost efectuat în conformitate cu cerințele
Codului de etică în cercetarea științifică. S-a
stabilit o relație directă dintre activitate cari-
oasă intensă și scăderea gradului de microcris-
talizare a FO. Concluzii: Principalele avantaje
ale cercetării proprietăților cristalografice ale
FO sunt non-invasivitatea, simplitatea reali-
zării și accesibilitatea prelevării substratului
studiat, oferind astfel noi perspective în cadrul
studiilor clinice. Studiul microcrystalizării 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 stom-
atologică, la elaborarea măsurilor preventive
și evaluarea eficienței acestora.

Cuvinte cheie: fluid oral, microcrystalizare,
carie dentară.

Summary

The aim of the paper was to study the mi-
crocrystallization of oral fluid and to affect
children through tooth decay. 148 children
between the ages of 7 and 10 were clinically
examined. Indices of tooth decay frequency
and carious experience were estimated. Sali-
vary flow rate, saliva pH and salivary buffering
capacity were studied using the *Saliva-Check
Buffer Kit, GC*. The study of microcrystalliza-
tion of oral fluid (OF) was performed by the
method of drop dehydration. The study was
performed in accordance with the require-
ments of the Code of Ethics in scientific re-
search. A direct relationship was established
between intense carious activity and the de-
crease of the degree of microcrystallization of
OF. Conclusions: the main advantages of the
research of the crystallographic properties of
OF are the non-invasiveness, the simplicity of
the realization and the accessibility of the sam-
pling of the studied substrate, thus offering
new perspectives in clinical trials. The study
of OF microcrystallization in children with
dental caries elucidated a series of markers of
changes in the oral cavity that can be used later
in screening research, in dental practice, in the
development of preventive measures and eval-
uation of their effectiveness.

Keywords: oral fluid, microcrystallization,
tooth decay.

Introducere

Conform obiectivelor medicinei bazate pe dovezi
apare necesitatea aplicării metodelor de investigație
clinice și de laborator care asigură obținerea paramet-
rilor cantitativi de precizie înaltă pentru argumenta-
rea și selectarea rațională a tratamentului patologiei

Introduction

According to the objectives of evidence-based
medicine, there is a need to apply clinical and labora-
tory investigation methods that ensure the obtaining
of high-precision quantitative parameters for the ar-
gumentation and rational selection of the treatment

studiate [1, 2, 4]. Lichidele organismului uman sunt utilizate pe scară largă în diagnosticul de laborator. Cu toate acestea, obținerea lor pentru cercetare este însoțită deseori de anumite dificultăți (leziuni tisulare, respectarea unor algoritmi speciali temporari ș.a.). În decursul ultimilor decenii, s-au întreprins primii pași în studiul manifestărilor diverselor maladii asupra organizării structurale a lichidelor biologice [2, 4-7, 15, 20].

În diverse domenii ale medicinei este implementată o nouă tehnologie de diagnosticare — cercetarea morfologică a lichidelor biologice [18]. 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 macroscopic sub forma diferitor structuri, care devin vizibile pentru cercetător [6].

Principalele avantaje ale studiului proprietăților biofizice a fluidului oral (FO) sunt non-invasivitatea, simplitatea realizării și accesibilitatea prelevării substratului studiat, oferind astfel noi perspective în cadrul studiilor clinice [8]. Prin urmare, este actual studiul dinamicii indicatorilor FO 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 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 FO.

Scopul lucrării: studierea relației dintre proprietățile fizico-chimice ale fluidului oral și afectarea copiilor prin carie dentară.

Materiale și metode

Studiul a fost efectuat în cadrul Catedrei de chirurgie oro-maxilo-facială pediatrică și pedodontie „Ion Lupan” a USMF „Nicolae Testemițanu”, în perioada anilor 2021—2022. Materialul prezentei lucrări se bazează pe examinarea clinică a 148 de copii cu vârstele cuprinse între 7 și 11 ani.

Datele clinice pentru aprecierea indicilor de experiență carioasă au fost colectate în conformitate cu criteriile Organizației Mondiale a Sănătății (OMS). Au fost estimați indicii de prevalență a cariei dentare (IP), COA și COAS, COA+co și COAS+cos. Starea igienei orale a fost apreciată folosind indicele de igienă orală OHI-S (G.Green, I.Vermillion 1964) [3, 12, 18]. 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.

Studiul modificărilor cristalografice ale FO a fost efectuat după metoda elaborată de Leous P. Fluidul

of the studied pathology [1, 2, 4]. Human body fluids are widely used in laboratory diagnosis. However, obtaining them for research is often accompanied by certain difficulties (tissue damage, compliance with temporary special algorithms, etc.). During the last decades, the first steps have been taken in the study of the manifestations of various diseases on the structural organization of biological fluids [2, 4-7, 15, 20].

A new diagnostic technology is being implemented in various fields of medicine — the morphological research of biological fluids [18]. Obtaining the structures of the investigated biological liquids is done by way of their phase transfer from the liquid state to the solid state by dehydration. As a result of experimental studies, it has been shown that the information contained in the liquid phase at the molecular level in the dehydration process is transferred at the macroscopic level in the form of various structures, which become visible to the researcher [6].

The main advantages of the study of the biophysical properties of oral fluid (OF) are the non-invasiveness, the simplicity of the realization and the accessibility of the sampling of the studied substrate, thus offering new perspectives in clinical trials [8]. Therefore, the study of the dynamics of FO indicators is current in order to elaborate the individual, exact quantitative parameters of caries risk assessment and prediction of dental caries. As the effectiveness of primary and secondary prevention of dental caries is maximized when targeted and differentiated according to individual risk factors, in order to increase the effectiveness of preventive strategies applied in children, it is necessary to study carefully the risk factors, including changes that occur at the OF level.

The aim of the paper: to study the relationship between the physicochemical properties of oral fluid and the damage of children through tooth decay.

Materials and methods

The study was performed in the Department of Pediatric Oro-maxillofacial Surgery and pedodontics „Ion Lupan” of USMF „Nicolae Testemițanu”, during the years 2021—2022. The material of this paper is based on the clinical examination of 148 children aged 7 to 11 years.

Clinical data for the assessment of carious experience indices were collected in accordance with the criteria of the World Health Organization (WHO). Indices of prevalence of dental caries (PI), DMFT and DMFS, DMFT+dft and DMFS+ cos were estimated. The state of oral hygiene was assessed using the OHI-S oral hygiene index (G. Green, I. Vermillion 1964) [3, 12, 18]. The biophysical parameters of the oral fluid were assessed using the *Saliva-Check Buffer* Kit, GC, which reflects: salivary flow rate, pH and saliva buffering capacity.

The study of the crystallographic changes of OF was performed according to the method developed by Leous P. The oral fluid was collected with a sterile

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, pretratăată cu alcool și eter au fost aplicate trei picături de FO. 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. Prin metoda de cercetare a microcristalogramelor fluidului oral (MCG FO) au fost cercetate zonele centrale și periferice ale fasciilor de FO, cristalele separate și substanța amorfă. Interpretarea componentelor cristaloscopice s-a realizat prin aplicarea tabelelor speciale cu notificarea caracteristicilor structurilor studiate [17]. Tipul de microcristalizare a FO a fost apreciat după un algoritm descris anterior [8]. Evaluarea gradului de microcristalizare a fluidului oral (GMCC FO) a fost efectuată după examinarea picăturilor uscate de FO, rezultatele fiind exprimate în puncte medii în dependență de tipurile identificate de formare a cristalelor după cum urmează: 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: $\text{RDM}=(\text{RR1})/\text{RR}\times 100$, unde RR — riscul relativ [20].

Criteriile de includere în cercetare: copii cu vârste între 7 și 11 ani, acordul informat în formă scrisă a părinților sau reprezentanților legali pentru participarea copiilor în studiu.

Criterii de excludere din studiu: copii proveniți din zone endemice de fluoroză, lipsa acordului informat a părinților sau reprezentanților legali pentru participarea copiilor în studiu.

Studiul a fost realizat în conformitate cu cerințele etice, cu obținerea acordului scris al părinților pentru participarea copiilor în studiu. Analiza datelor obținute a fost efectuată folosind teste parametrice și non-parametrice a *Software Excel* și *Epi Info*, cu ajutorul funcțiilor și modulelor acestora.

Rezultate

Toți copiii luați în studiu s-au născut și locuiesc permanent în municipiul Chișinău. Din numărul total de 148 de copii, ponderea băieților a fost de 51%, iar a fetelor — de 49%. La momentul examenului clinic, 21,62% din toți copiii examinați au avut vârsta de 7ani (32 copii), 15,55% - 8 ani (23 copii), 21,62% - 9 ani (32 copii), 21,62% - 10 ani (32 copii) și 19,59% -11 ani (29 copii). La examenul clinic caria dentară s-a depistat la 80,41% din subiecți (119 copii), 19,59% (29 copii) fiind liberi de carie (**Figura 1**).

Valoarea medie a indicelui $\text{CO}+\text{COA}$ la copiii examinați a fost de $1,45\pm 0,97$, fiind la fete

pipette in the amount of 0.2 — 0.3 ml from the floor area of the oral cavity. Then, three drops of OF were applied to a glass slide, pretreated with alcohol and ether. Dehydration of the OF droplets occurred in the thermostat at $t = 37^{\circ}\text{C}$, being protected from dust. Micropreparations were examined under the AmScope B120C-E1 light microscope. The central and peripheral areas of the OF bundles, the separate crystals and the amorphous substance were investigated by the method of research of oral fluid microcristallograms (OF MCG). The interpretation of the crystalloscopic components was made by applying special tables with the notification of the characteristics of the studied structures [17]. The type of microcristalization of OF was assessed according to an algorithm described above [8]. The evaluation of the degree of microcristalization of the oral fluid (DMCC OF) was performed after the examination of the dry drops of OF, the results being expressed in average points depending on the identified types of crystal formation as follows: 0.0-1.0 — very low degree low; 1.1-2.0 — low degree; 2.1-3.0 — satisfactory; 3.1-4.0 — high degree; 4.1-5.0 — very high degree of microcristalization. The risk of microcristalization deviation (RMD) was assessed according to the formula: $\text{RMD}=(\text{RR}-1)/\text{RR}\times 100$, where RR — relative risk [20].

Criteria for inclusion in the research: children aged 7 to 11 years, written informed consent of parents or legal representatives for the participation of children in the study.

Exclusion criteria from the study: children from endemic areas of fluorosis, lack of informed consent of parents or legal representatives for the participation of children in the study.

The study was conducted in accordance with ethical requirements, with the written consent of the parents for the participation of children in the study. The analysis of the obtained data was performed using parametric and non-parametric tests of *Excel* and *Epi Info Software*, with the help of their functions and modules.

Result

All the children studied were born and live permanently in Chisinau. Out of the total number of 148 children, including 76 boys (51%) and 72 girls (49%) At the time of the clinical examination, 21.62% of all children examined were 7 years old (32 children), 15.55% — 8 years (23 children), 21.62% — 9 years (32 children), 21.62 — 10 years (32 children) and 19.59% -11 years (29 children). At the clinical examination, dental caries was found in 80.41% of subjects (119 children), 19.59% (29 children) being free of caries (**Figure 1**).

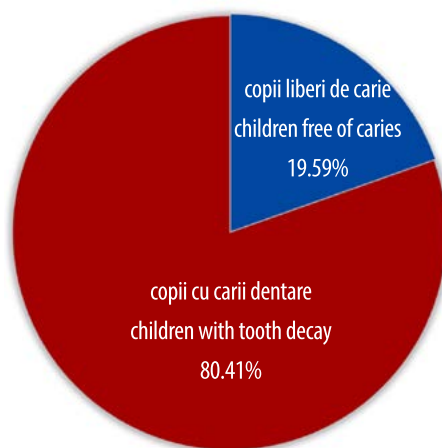


Fig. 1. Frecvența cariei dentare la copiii luați în studiu (%).
Fig. 1. Frequency of dental caries in children studied (%).

de 1,47 mai crescute comparativ cu băieții (1,38±0,26). Acest indicator s-a modificat în dependență de vârstă: la copiii de 7 ani co+COA a constituit 1,53±0,08, la 8 ani — 1,17±0,11; 9 ani — 1,09±0,34; 10 ani — 1,75±0,78 și 11 ani — 1,51±1,31.

Din numărul total de subiecți luați în studiu, la majoritatea copiilor (47,97%) s-a apreciat carioactivitatea redusă, la 41 (27,70%) — carioactivitate moderată, iar la 4,73% din copiii examinați a fost stabilit gradul intens de activitate carioasă (Figura 2).

Valoarea medie a indicelui OHI-S la copiii luați în studiu a constituit 1,28±0,32. Aprecierea indicelui OHI-S a constatat doar la 19,59% din copii nivelul bun de igienă orală. La majoritatea din copii examinați (66,89%) s-a estimat nivelul satisfăcător de igienă orală. Valoarea medie a indicelui OHI-S la copiii luați în studiu a constituit 1,28±1,03. La 5,41% 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.

Rata fluxului salivar, pH-ul salivei și capacitatea de tamponare salivară la copii au fost studiate cu ajutorul kitului *Saliva-Check Buffer, GC* (Figura 3).

La copiii afectați de carie dentară s-a apreciat viteza relativ scăzută a cantității de FO eliminat (4,31 ml), spre deosebire de cei liberi de carie (5,12 ml). Diferențe semnificative s-au prezentat la analiza comparativă a proprietăților fizico-chimice ale FO ($p < 0,001$) la copiii cu carie den-

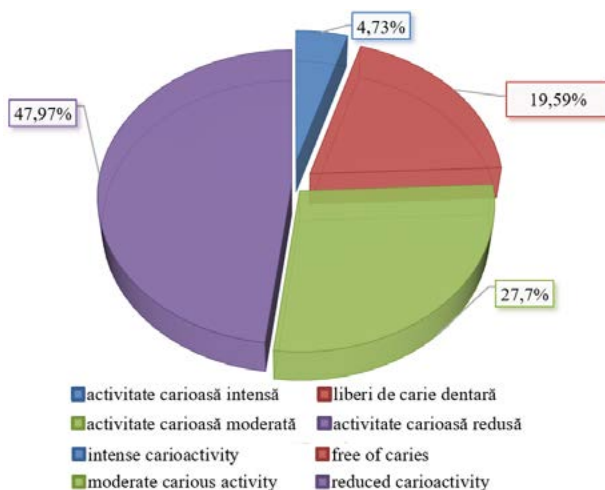


Fig. 2. Gradul de activitate a cariei dentare la copiii luați în studiu (%).
Fig. 2. The degree of activity of dental caries in the children studied (%).

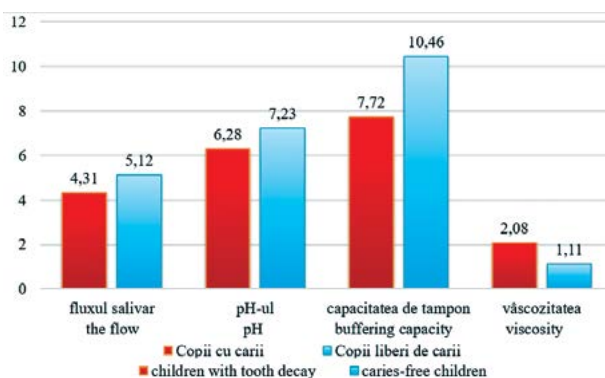


Fig. 3. Proprietățile fizico-chimice ale fluidului oral la copii.
Fig. 3. Physico-chemical properties of oral fluid in children.

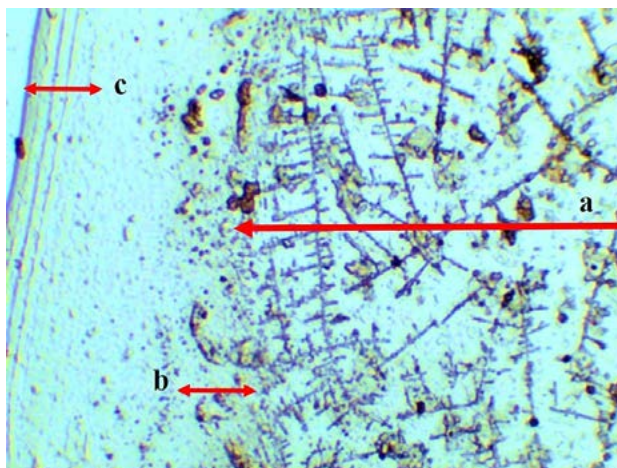


Fig. 4. Microcrystallograma fluidului oral: a — zona centrală; b — zona tranzitorie; c — zona periferică.
Fig. 4. Microcrystallogram of oral fluid: a — central area; b — transitional zone; c — peripheral area.

The average value of the dft+DMFT index in the examined children was 1.45±0.97, being 1.47 higher in girls compared to boys (1.38±0.26). This indicator changed depending on age: in 7-year-olds dft+DMFT was 1.53±0.08, at 8 years — 1.17±0.11; 9 years — 1.09±0.34; 10 years — 1.75±0.78 and 11 years — 1.51±1.31.

Out of the total number of subjects studied, the majority of children (47.97%) had a reduced carioactivity, 41 (27.70%) — moderate carioactivity, and 4.73% of the children examined had an intense degree of carious activity (Figure 2).

The mean OHI-S index in the children studied was 1.28±0.32. The assessment of the OHI-S index found in only 19.59% of children the good level of oral hygiene. A satisfactory level of oral hygiene was estimated in most of the children examined (66.89%). The mean OHI-S index in the study children was 1.28±1.03. In 5.41% of children, poor oral hygiene and the presence of „mature” bacterial plaque were detected, the latter having a moderate and intense degree of carious activity.

Salivary flow rate, saliva pH, and salivary buffering capacity in children were studied using the *Saliva-Check Buffer, GC* kit (Figure 3). In children affected

by dental caries, the relatively low rate of the amount of OF eliminated (4.31 ml) was seen, in contrast to those free of caries (5.12 ml). Significant differences were presented in the comparative analysis of the physicochemical properties of OF ($p < 0.001$) in

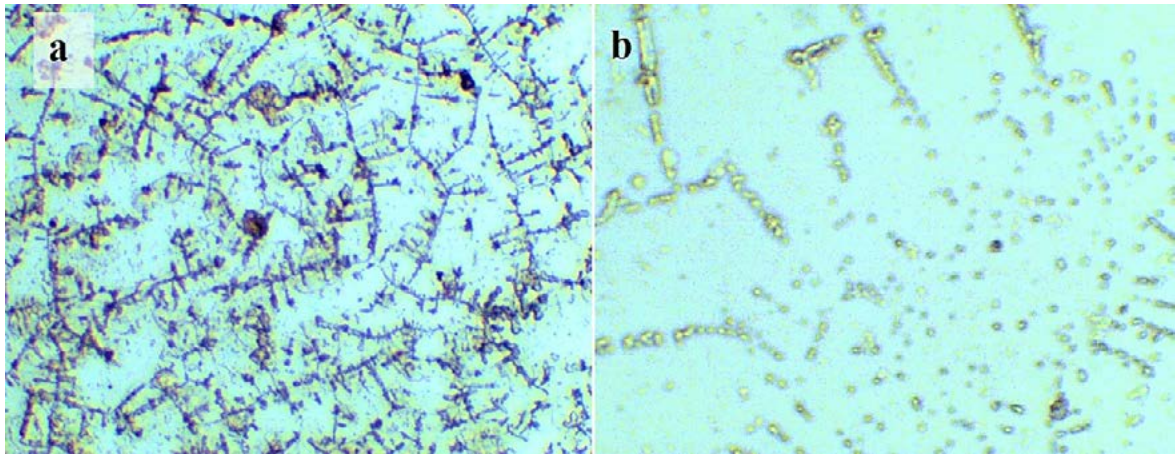


Fig. 5. Microcristalograma fluidului oral: a — zona centrală; b — zona tranzitorie.

Fig. 5. Microcrystallogram of oral fluid: a — central area; b — transitional zone.

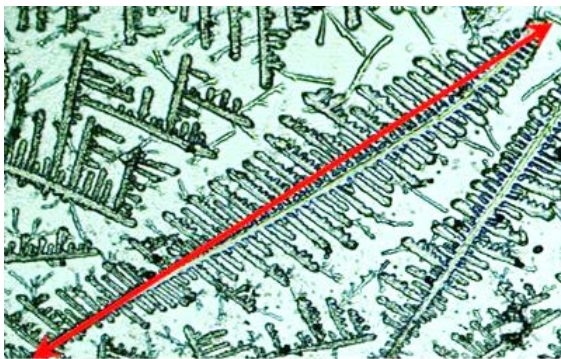


Fig. 6. Gradul de curbură a a ramurii principale a microcristalului de fluid oral.

Fig. 6. The degree of curvature of the main branch of the oral fluid microcrystalline.



Fig. 7. Lungimea ramurii principale a microcristalului de fluid oral.

Fig. 7. Length of the main branch of the oral fluid microcrystal.

tară și cei carioimuni. Astfel, la copiii cu carie dentară, s-a depistat scăderea semnificativă a pH-ului FO ($\text{pH}=6,28\pm 0,11$, $p<0,01$), capacitatea de tamponare salivară joasă ($7,72\pm 0,23$, $p<0,001$) și vâscozitate crescută a FO ($2,08\pm 0,53$, $p<0,01$), fiind factori importanți de risc carios.

Pentru cuantificarea rezultatelor studiului microcristalizării salivei mixte în urma deshidratării picăturilor de FO a fost elaborat un algoritm de analiză a MCG FO, conform căruia la microscopul optic s-a examinat micropreparatul pentru examinarea tuturor structurilor observate: zona centrală, tranzitorie și periferică. Analizei descriptive au fost supuse toate componentele MCG, iar interpretarea componentelor cristaloscopice a fost efectuată cu ajutorul unui tabel specializat de structuri amorfe și cristaline și altor criterii suplimentare (Figura 4).

În zona centrală s-a observat acumularea structurilor cristalizate, în zona tranzitorie — cristale solitare, iar în cea periferică — zona amorfă (Figura 5). Astfel, în zona periferică a fasciilor FO se observă prevalența figurilor de tip „cruciate” și „prismatice”. Tabloul dendritic din zona centrală este reprezentat prin formațiuni liniare, prin structuri de tip „coada calului” sau „ferigă”.

children with tooth decay and caries. Thus, in children with dental caries, a significant decrease in the pH of OF was detected ($\text{pH}=6.28 \pm 0.11$, $p<0.01$), low salivary buffering capacity (7.72 ± 0.23 , $p<0.001$) and increased viscosity of OF (2.08 ± 0.53 , $p<0.01$), being important carious risk factors.

To quantify the results of the study of microcrystallization of mixed saliva after dehydration of OF droplets, an algorithm for the analysis of OF MCG was developed, according to which the optical microscope examined the micropreparation to examine all observed structures: central, transient and peripheral. All MCG components were subjected to descriptive analysis, and the interpretation of crystalloscopic components was performed using a specialized table of amorphous and crystalline structures and other additional criteria (Figure 4).

In the central zone, the accumulation of crystallized structures was observed, in the transient zone — solitary crystals, and in the peripheral zone — the amorphous zone (Figure 5). Thus, in the peripheral area of the OF fascias, the prevalence of „crusader” and „prismatic” type figures is observed. The dendritic picture in the central area is represented by linear formations, by „ponytail” or „fern” type structures.

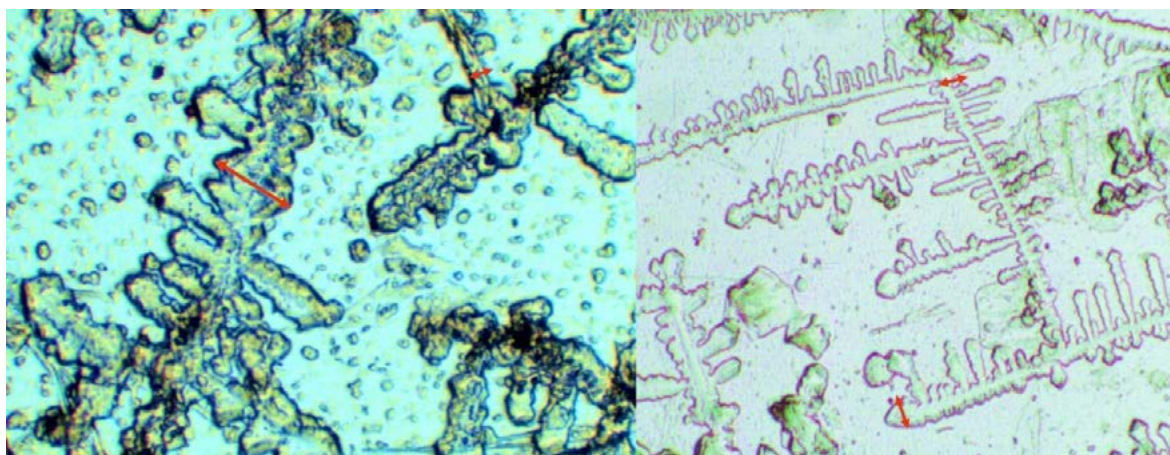


Fig. 8. Raportul dintre lățimea ramurii principale la baza și la vârful microcristalului de fluid oral.
Fig. 8. The ratio of the width of the main branch to the base and to the tip of the oral fluid microcrystal.

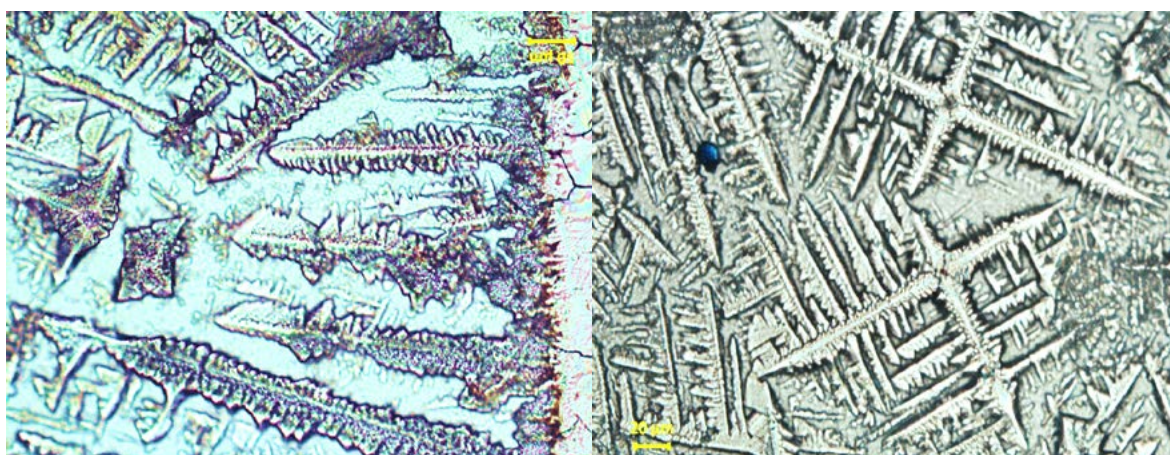


Fig. 9. Fascia fluidului oral unui copil fără leziuni carioase. Tipul I și II de microcristalizare a fluidului oral.
Fig. 9. Oral fluid fascia of a child without carious lesions. Type I and II microcrystallization of oral fluid.

Pentru descrierea microcristalelor de FO s-au apreciat 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 ramificărilor dendritelor de gradul I de la ramura principală (**Figurele 6-8**).

S-a cercetat integritatea ramurei principale a trunchiului și a zonei de conexiune a trunchiului cu dendritele de gradul I, forma vârfului dendritelor (conică, ovală sau divizată) și s-au apreciat 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) și raportul cu cristalul (aderare sau izolare).

La examinarea MCG FO copiilor cu leziuni carioase și a celor liberi de carie dentară s-au depistat structuri microcristaline diferite. La copiii fără leziuni carioase microcristalele FO aveau o structură clară în formă de arbore sau ferigă (**Figure 9**).

La subiecții cu leziuni carioase multiple nerezolvate și complicațiile cariei dentare predomina struc-

For the description of OF microcrystals, the following parameters were assessed: length, width and degree of curvature of the main branch, the ratio between the width of the main branch at the base and tip of the microcrystal, the ratio of perimeter and surface of the microcrystal, frequency and angle of dendrites I, the symmetrical character of the branches of the first degree dendrites from the main branch (**Figures 6-8**).

The integrity of the main branch of the trunk and the connection area of the trunk with grade I dendrites, the shape of the dendritic tip (conical, oval or divided) were investigated and the organic inclusions were assessed: the proportion between the surface of the organic inclusions and the field of view; the location of the organic inclusions (at the periphery, in the central area, or on the entire surface of the field of view) and the relationship with the crystal (adhesion or isolation).

Different microcrystalline structures were found in the examination of OF MCG in children with carious lesions and those free of tooth decay. In children without carious lesions, the OF microcrystals had a clear tree or fern structure (**Figure 9**).

In subjects with unresolved multiple carious lesions and complications of dental caries, the cruci-

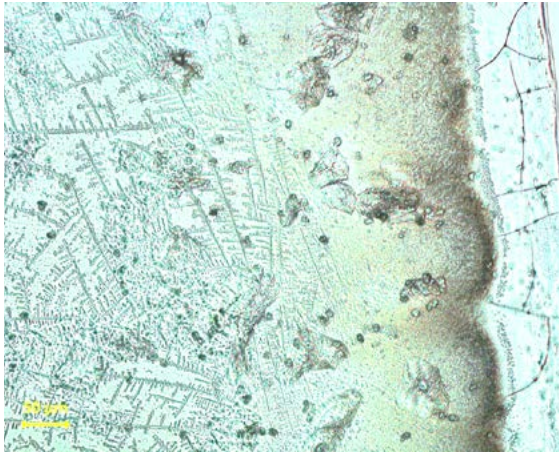


Fig. 10. Fascia fluidului oral unui copil cu activitate carioasă moderată. Tipul I-III de microcristalizare a fluidului oral.

Fig. 10. Oral fluid fascia of a child with moderate carious activity. Type I–III microcrystallization of oral fluid.

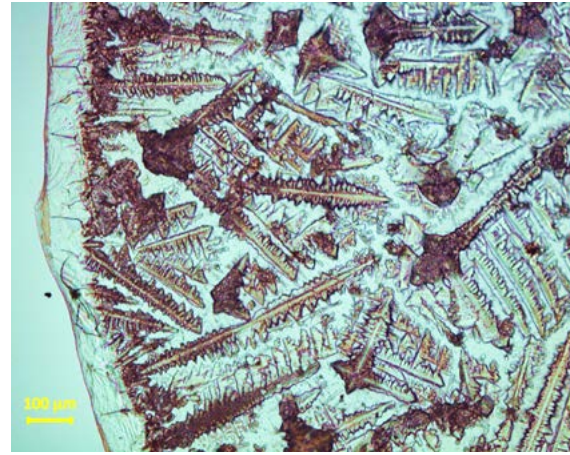


Fig. 11. Fascia fluidului oral unui copil cu activitate carioasă intensă. Tipul II-V de microcristalizare a fluidului oral. Incluziuni organice amorfe abundente.

Fig. 11. Oral fluid fascia of a child with intense carious activity. Type II–V microcrystallization of oral fluid. Abundant amorphous organic inclusions.

tura cruciată sau denaturată totalmente a microcristalelor de FO, cristalizarea patologică a compușilor minerali în mediul proteic și o cantitate mare de incluziuni organice amorfe, zona periferică era lărgită și se observau elemente de distrugere a integrității structurale (**Figurele 10, 11**).

La copiii cu leziuni carioase s-a constatat gradul scăzut de GMCC a FO, constituind $(1,68 \pm 0,24)$ puncte și fiind de 2,1 ori mai redus comparativ cu acest indicator apreciat la copiii liberi de carie dentară $(3,89 \pm 0,31)$ puncte ($p < 0,001$). La copiii cu activitate carioasă moderată și intensă s-a remarcat o tendință de scădere a GMCC FO. Astfel, la copiii cu activitate carioasă moderată, GMCC FO este de 1,02 ori mai redus ($p > 0,5$), datele nefiind statistic semnificative. La copiii cu activitate carioasă intensă GMCC FO este 2,43 ori mai redus în comparație cu valorile acestui indicator estimat la copiii liberi de carie dentară ($p < 0,05$).

Discuții

FO reprezintă un mediu biologic specific foarte bine organizat și dinamic, cu proprietăți unice, care reflectă toate schimbările din organism, inclusiv și procesele patologice. 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. 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 cu 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 cristaline și formarea de structuri cristaline dendritice la uscarea fluidului oral [21-23].

ate or totally distorted structure of OF microcrystals, pathological crystallization of mineral compounds in the protein environment and a large amount of amorphous organic inclusions predominated, the peripheral area was enlarged and elements of structural integrity (**Figure 10, 11**).

Thus, in children with carious lesions, a low degree of DMCC of FO was found, constituting (1.68 ± 0.24) points) and being 2.1 times lower compared to this indicator appreciated in children free of tooth decay $(3,89 \pm 0.31)$ points ($p < 0.001$). In children with moderate and intense carious activity, a decreasing tendency of DMCC FO was noticed. Thus, in children with moderate carious activity, DMCC FO is 1.02 times lower ($p > 0.5$), the data not being statistically significant. In children with intense carious activity, the OF DMCC is 2.43 times lower compared to the values of this indicator estimated in children free of tooth decay ($p < 0.05$).

Discussions

OF is a specific biological environment very well organized and dynamic, with unique properties that reflect all changes in the body, including pathological processes. It is well known that saliva, being a supersaturated liquid with calcium ions and phosphates, has the ability to mineralize tooth enamel. The state of supersaturated liquid is ensured by its structure, the entire volume of which is distributed between the micelles. Under physiological conditions, the saliva crystals have a branched shape due to the presence in the oral fluid of the micelles $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, protected by the aggregation of mucin with a branched form. Mucins participate in the transepithelial transport of ions (Na^+ , K^+ , Cl^-), as well as in the biocrystallization process in which Ca^{2+} ions are involved, constituting the organic matrix that regulates the volume and configuration of crystalline structures and the

În decursul ultimilor decenii s-au făcut primii pași în studierea manifestărilor diverselor maladii în organizarea structurală a FO [1, 2, 4, 11, 13, 20]. Luând în considerație conceptul cristalografiei clasice, în diagnosticul timpuriu sau prenosologic al afecțiunilor stomatologice și al maladiilor sistemice, s-a propus aplicarea metodei cristalografice de cercetare a celui mai accesibil lichid biologic — a fluidului oral [5, 17]. Proprietățile optice ale cristalelor variază semnificativ în funcție de factorii exo- și endogeni. Acest fenomen este aplicat în cercetare, în scop de diagnosticare [17]. 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 cristaline [15, 16, 21-23].

În cadrul prezentului studiu, analiza peisajului morfologic al picăturii deshidratate de FO a depistat că la copiii cu activitate carioasă intensă GMCC a FO a fost de 2,43 ori, iar la copii cu subiecții liberi de carie dentară. Aceste date sunt în concordanță cu rezultatele studiilor efectuate anterior [8, 9]. Autorii au supoziționat că demineralizarea smalțului dentar în cadrul evoluției procesului carios se reflectă asupra proprietăților salivei prin modificarea structurilor cristaline MCG FO. Gradul de microcristalizare a FO la copii se află în corelație directă cu durata și activitatea procesului carios [8-10].

Astfel, modificările imaginii morfologice a FO, datorită proprietății sale de microcristalizare, sunt un indicator al tulburărilor calitative și cantitative ale proteinelor salivare, în special a mucinelor și unul dintre cei mai timpurii markeri ai proceselor patologice din organism și pot fi utilizate 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 calitative ale componenței mucinelor, ceea ce reprezintă un risc sporit pentru apariția leziunilor carioase [15-17]. Stabilirea semnelor distinctive ale modificărilor cristalografice în salivă, generate de modificările funcționale și metabolice, sporește 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 [22].

Astfel, studiul particularităților morfologice ale fluidului oral poate servi drept test de predicție, care identifică dereglarea mecanismelor de protecție a cavității orale, contribuind astfel la elaborarea metodologiei înalt informative și neinvazive de diagnosticare a stărilor premorbide și de diagnostic oportun al modificărilor survenite în starea de sănătate a populației. Cunoașterea mecanismelor de dezvoltare a acestor modificări este necesară pentru elaborarea măsurilor cariopreventive țintite pe factorii individuali de risc.

formation of dendritic crystalline structures when oral fluid dries. [21–23].

During the last decades, the first steps were taken in studying the manifestations of various diseases in the structural organization of OF [1, 2, 4, 11, 13, 20]. Taking into account the concept of classical crystallography, in the early or prenosological diagnosis of dental diseases and systemic diseases, it was proposed to apply the crystallographic method of research of the most accessible biological fluid — oral fluid [5, 17]. The optical properties of crystals vary significantly depending on exo- and endogenous factors. This phenomenon is applied in research for diagnostic purposes [17]. Under unfavorable conditions, the structure of the saliva changes in the oral cavity, therefore, its mineralization function is disturbed, followed by the change in the shape and properties of the crystalline structures [15, 16, 21–23].

In the present study, the analysis of the morphological landscape of the dehydrated drop of OF found that in children with intense carious activity the DMCC of OF was 2.43 times, and in children with free subjects of tooth decay. These data are consistent with the results of previous studies [8, 9]. The authors assumed that the demineralization of tooth enamel in the evolution of the caries process is reflected in the properties of saliva by modifying the crystalline structures of MCG OF. The degree of microcrystallization of OF in children is directly correlated with the duration and activity of the caries process [8–10].

Thus, changes in the morphological image of OF, due to its microcrystallization property, are an indicator of qualitative and quantitative disorders of salivary proteins, especially mucins and one of the earliest markers of pathological processes in the body and can be used to detect diseases in the premorbid stage, in order to effectively apply the measures of prevention and minimally invasive treatment. Therefore, the disturbance of oral fluid microcrystallization reflects quantitative and qualitative disorders of mucin composition, which poses an increased risk for carious lesions [15–17]. Establishing the hallmarks of crystallographic changes in saliva, generated by functional and metabolic changes, increases the accuracy of the diagnosis and the efficiency of caries risk prediction. The method of dehydration (crystallization of bioliquids on the glass slide) can provide an overview of the health of the whole body. The change in the shape of the crystals is the consequence of changes in the physicochemical properties of saliva [22].

Thus, the study of the morphological features of the oral fluid can serve as a prediction test, which identifies the disorder of the protection mechanisms of the oral cavity, thus contributing to the development of highly informative and non-invasive methodology for diagnosing premorbid conditions and timely diagnosis of changes in health. of the population. Knowledge of the mechanisms for developing these changes is necessary for the development of cariopreventive measures targeted at individual risk factors.

Concluzii:

1. Principalele avantaje ale cercetării proprietăților cristalografice ale fluidului oral sunt non-invasivitatea, simplitatea realizării și accesibilitatea prelevării substratului studiat, oferind astfel noi perspective în cadrul studiilor clinice.
2. Studiul microcristalizării fluidului oral la copii 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, la elaborarea măsurilor preventive și evaluarea eficienței acestora.

Bibliografie

1. Elamin A., Garemo M., Mulder A. Determinants of dental caries in children in the Middle East and North Africa region: a systematic review based on literature published from 2000 to 2019. *BMC Oral Health*. 2021; 21(1):237. doi: 10.1186/s12903-021-01482-7. PMID: 33947387; PMCID: PMC8097819.
2. Giorgiutti-Dauphiné F., Pauchard L. Drying drops. *Eur. Phys. J. E*. 2018; 41(32). <https://doi.org/10.1140/epje/i2018-11639-2>
3. Godoroja P, Spinei A, Spinei Iu. Stomatologie terapeutică pediatrică. Centrul Editorial-Poligrafic Medicina, Chișinău; 2003, 338 p.
4. Guozhen He et al., Point-of-care COPD diagnostics: biomarkers, sampling, paper-based analytical devices, and perspectives. *Analyst*, 2022; 147:1273-1293.
5. Pancu G. et. al. On the salivary microcrystallization index variation in patients with dental erosion lesion. *International Journal of Medical Dentistry*. 2015; 5(3): 189-193.
6. Petricek V., Dusek M. Crystallographic computing system of ordinary and modulated structures. Praha: JANA2000. Institute of Physics, Academy of Sciences of the Czech Republic. 2013; 28-32.
7. Spinei A., Picos A. M., Romanciuc I., Berar A., Mihailescu A.M. The study of oral liquid microcrystallization in children with gastro-esophageal reflux disease. *Clujul Medical*. 2014; 87(4):269-277.

Conclusions:

1. The main advantages of the research of the crystallographic properties of the oral fluid are the non-invasiveness, the simplicity of the realization and the accessibility of the sampling of the studied substrate, thus offering new perspectives in clinical trials.
2. The study of microcrystallization of oral fluid in children with dental caries has elucidated a series of markers of changes in the oral cavity that can be used later in screening research, in dental practice, in developing preventive measures and evaluating their effectiveness.

8. Spinei A. Studiul particularităților microcristalizării lichidului oral la copii cu carie dentară. *Revista Română de Medicină Dentară*. 2014; 17(2): 82-99.
9. Spinei A., Gavriliuc L., Spinei I. State of antioxidant system glutathione-glutathione S-transferase in deep fluoridation of tooth enamel in children with high risk of dental caries. *Curierul medical*. 2015; 58(3): 3-5.
10. Zvir M., Beliak A., Pohoretska Y., et. al. The Relationship of Saliva Microcrystalline Characterization and Contractile Duration of Skeletal Muscle in Medical Students. *Southeastern European Medical Journal*. 2017; 1(1): 59-66.
11. Wang J., et. al. Novel Microcrystal Formulations of Sorafenib Facilitate a Long-Acting Antitumor Effect and Relieve Treatment Side Effects as Observed With Fundus Microcirculation Imaging. *Front Oncol*. 2021; 26(11):743055. doi: 10.3389/fonc.2021.743055. PMID: 34513717; PMCID: PMC8426437.
12. World Health Organization. *Oral Health Surveys Methods*, 5thEd, WHO Geneva; 2013, 170 p.
13. Yakhno, T.A., Yakhno, V.G. Structural evolution of drying drops of biological fluids. *Tech. Phys*. 2009; 54: 1219—1227. <https://doi.org/10.1134/S1063784209080210>
14. Денисов. А.Б. Муцины слюны. *Стоматология*. 2006; 7:15-20.
15. Еловикова Т.М. Слюна как биологическая жидкость и ее роль в здоровье полости рта. *Екатеренбург*, 2018, 136 с.
16. Камиллов Ф.Х., Чуйкин С.В., Чемикосова Т.С. Биохимия в стоматологии. Уфа, 2000, 85 с.
17. Леус, П.А. Диагностическое значение гомеостаза слюны в клинике терапевтической стоматологии. Минск: БГМУ, 2011, 67 с.
18. Леус П., et al. Европейские индикаторы стоматологического здоровья детей школьного возраста. *Стоматология детского возраста*. 2013; 3: 3-9.
19. Леус П. Доказательная стоматология как основа программ профилактики кариеса зубов у детей. *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2018; 17(2): 3-11.
20. Мартусевич А.К. Поведение биологических жидкостей и функциональный статус организма человека, Известия высших учебных заведений, Поволжский регион. 2007; 2:24-30.
21. Мартусевич А.К. Унифицированный алгоритм исследования свободного и иницированного кристаллогенеза биологических жидкостей. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2007; 6:21-23.
22. Шатохина С., Разумова С., Шабалин В. Морфологическая картина ротовой жидкости: диагностические возможности. *Стоматология*, 2006; 4:14-17.
23. Чемикосова Т.С., Гуляева О.А. Оценка уровня свободно-радикального окисления путем изучения состава ротовой жидкости. *În: Проблемы стоматологии*. 2007; 2:9-10.