

# RELAȚIA DINTRE AFECTAREA PRIN CARIE DENTARĂ ȘI PARTICULARITĂȚILE METABOLISMULUI FOSFOCALCIC LA COPIII CU MALADII SEVERE ALE SISTEMULUI NERVOS CENTRAL PROVOCATE DE HIPOXIA PERINATALĂ

**Aurelia Spinei<sup>1</sup>**  
*dr.hab.șt.med., conf.univ.,*  
**Olga Bălțeanu,**  
*asist.univ.,*  
**Svetlana Plamadeală<sup>1</sup>,**  
*asist.univ.,*  
**Elena Hristea<sup>1</sup>,**  
*asist.univ.,*  
**Iurie Spinei<sup>1</sup>,**  
*dr.șt.med., conf.univ.*  
**Tagadiuc Olga<sup>2</sup>,**  
*dr.hab.șt.med., prof.univ.*

<sup>1</sup>*Catedra de chirurgie oro-maxilo-facială pediatrică și pedodonție „Ion Lupan”  
IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
„Nicolae Testemițanu“*

<sup>2</sup>*Catedra de biochimie și biochimie clinică  
IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
„Nicolae Testemițanu“*

# RELATIONSHIP BETWEEN DENTAL CARIES AND PHOSPHOCALCIC METABOLISM IN CHILDREN WITH SEVERE CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISEASES CAUSED BY PERINATAL HYPOXIA

**Aurelia Spinei<sup>1</sup>**  
*doctor habilitat, associate professor,*  
**Olga Bălțeanu,**  
*assistant of professor,*  
**Svetlana Plamadeală<sup>1</sup>**  
*assistant of professor,*  
**Elena Hristea<sup>1</sup>,**  
*assistant of professor,*  
**Iurie Spinei<sup>1</sup>,**  
*doctor, associate professor.*  
**Tagadiuc Olga<sup>2</sup>,**  
*doctor habilitat, professor*

<sup>1</sup>*Department of Pediatric Oro-Maxillofacial  
Surgery and Pedodontics „Ion Lupan”  
PI „Nicolae Testemițanu” State University of  
Medicine and Pharmacy*

<sup>2</sup>*Department of Biochemistry and Clinical  
Biochemistry  
PI „Nicolae Testemițanu” State University of  
Medicine and Pharmacy*

## Rezumat

Scopul prezentei lucrări a fost studierea relației dintre afectarea prin carie dentară și markerii metabolismului fosfocalcic la copiii cu maladii severe ale sistemului nervos central (SNC) provocate de hipoxia perinatală. Materiale și metode. Pentru a evidenția impactul dereglărilor de metabolism asupra susceptibilității la carie dentară a copiilor cu maladii severe a SNC au fost studiate markerii biochimici ai proceselor redox, metabolismului osos și fosfocalcic în serul sanguin și fluidul oral (FO). Rezultate. Studiul a depistat tulburarea cronică a proceselor redox, metabolismului fosfocalcic la nivel de macroorganism și local care influențează semnificativ gradul de afectare prin carie dentară a copiilor cu patologie severă a SNC confirmate prin: majorarea nivelului lactatului și activității LDH; activitatea redusă a fosfatazei alcaline termolabile (FATL) în serul sanguin și în FO, precum și creșterea statistic semnificativă a activității fosfatazei acide tartratrezistente (FATR) în serul sanguin; scăderea statistic semnificativă, sub limitele normei, a nivelului Ca, Mg și

## Summary

The purpose of this paper was to study the relationship between dental caries damage and markers of phosphocalcic metabolism in children with severe diseases of the central nervous system (CNS) caused by perinatal hypoxia. To highlight the impact of metabolic disorders on the susceptibility to dental caries of children with severe CNS disease, were studied the biochemical markers of redox processes, bone and phosphocalcic metabolism in blood serum and oral fluid (OF). The study found a chronic disorder of redox processes, phosphocalcic metabolism at the macro and local level that significantly influences the degree of dental caries of children with severe CNS pathology confirms by: increased lactate level and lactate dehydrogenase (LDH) activity; reduced thermolabile alkaline phosphatase (TLAP) activity in the blood serum and OF, as well as a statistically significant increase in tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) activity in the blood serum as the statistically significant decrease, below the norm, of the level of Ca, Mg and vitamin D<sub>3</sub> in

vitaminei D<sub>3</sub> în serul sangvin precum și reducerea semnificativă a raportului Ca/Pi în FO. Concluzii: Depistarea la copiii cu maladiile SNC provocate de hipoxie perinatală a unor factori importanți de risc carios și indicatori ai evoluției agresive a CD precum creșterea concentrației produselor glicolizei anaerobe și dereglarea metabolismului fosfocalcic, impune aprofundarea studiilor interdisciplinare și abordarea complexă în planificarea măsurilor cariopreventive, elaborate de echipe polivalente de medici specialiști.

**Cuvinte cheie:** carie dentară, risc carios, prevenția cariei dentare.

## Introducere

Nivelul de afectare prin carie dentară (CD) reprezintă unul dintre indicatorii majori de apreciere a stării de sănătate a populației și eficienței asistenței medico-sanitare din țară [1-4]. Fiind semnalată din timpurile cele mai vechi, cu progresul civilizației afectarea populației prin CD a crescut semnificativ, fiind considerată afecțiunea cu cea mai îndelungată durată de evoluție în viața omului, întâlnită cu o prevalență și incidență înaltă în toate regiunile globului, ceea ce îi conferă un caracter endemo-epidemic [5-7].

Afectarea prin CD a copiilor cu patologie severă a sistemului nervos central (SNC) a fost obiectul studiilor întreprinse în diverse țări ale lumii, totodată, datele prezentate de diferiți autori sunt foarte variate. Astfel, conform rezultatelor cercetărilor, indicele de prevalență (IP) a CD la copiii cu nevoi speciale variază semnificativ, de la 20,2% până la 94,7%, la copiii cu patologie severă a SNC fiind estimate cele mai ridicate valori — de la 83,8% până la 97,37% [8-32]. Diéguez-Pérez M. și coaut., 2016, în urma unui studiu amplu de sinteză au semnalat activitatea carioasă intensă, apariția cavitațiilor multiple, distrugerea totală a părții coronare a dinților frontali ai maxilarului superior și perturbarea termenilor de erupție a dinților la copiii cu paralizie cerebrală infantilă (PCI) [10].

Zhou N. și coaut., 2017, au menționat impactul direct asupra patologiei aparatului dentomaxilar a afectării perinatale a SNC și a tulburărilor severe ale metabolismului osos [9]. Волобуев В., 2017, a stabilit relația dintre frecvența înaltă a CD și caracterul complex al tulburărilor funcționale [18]. Creșterea indicilor de morbiditate prin CD la persoanele maladiile SNC, după opinia mai multor autori, ar putea fi influențată de întârzierea în dezvoltarea intelectuală, reducerea funcțiilor cognitive, senzoriale și de coordonare motorie care afectează igienizarea cavității orale, îngrijirile profesionale, particularitățile alimentației [21-17, 19-37], precum și inegalitatea socială [24, 29, 30-33]. Totodată, unii autori menționează un nivel mai scăzut de afectare prin CD la copiii cu sindromul Down, deficiențe de vâz și auz, comparativ cu subiecții sănătoși [8, 10, 16, 25, 33, 34].

the blood serum as well as the significant reduction of the Ca/Pi ratio in OF. Conclusions: the detection in children with CNS diseases caused by perinatal hypoxia of important caries risk factors and indicators of aggressive evolution of DC such as increased concentration of anaerobic glycolysis products and disorders of phosphocalcic metabolism, requires the deepening of interdisciplinary studies and the complex approach in the planning of preventive measures, developed by multipurpose teams of specialists.

**Keywords:** dental caries, caries risk, prevention of dental caries.

## Introduction

The level of damage caused by dental caries (DC) is one of the major indicators for assessing the health of the population and the efficiency of health care in the country [1-4]. It has been reported since ancient times, with the progress of civilization the damage to the population by DC has increased significantly, being considered the disease with the longest evolution in human life, encountered with a high prevalence and incidence in all regions of the globe, which gives it a endemic-epidemic character [5-7].

DC damage in children with severe central nervous system (CNS) pathology has been the subject of studies conducted in various countries around the world, at the same time, the data presented by different authors are very varied. Thus, according to the research results, the prevalence index (PI) of DC in children with special needs varies significantly, from 20.2% to 94.7%, in children with severe CNS pathology being estimated the highest values — of at 83.8% to 97.37% [8-32]. Diéguez-Pérez M. et coauthors, 2016, following an extensive synthesis study, reported intense carious activity, the appearance of multiple cavities, total destruction of the coronary part of the front teeth of the upper jaw and disturbance of the eruption of teeth in children with paralysis infantile cerebral palsy (ICP) [10].

Zhou N. et coauthors, 2017, mentioned the direct impact on the pathology of the dentomaxillary apparatus of perinatal CNS damage and severe disorders of bone metabolism [9]. Волобуев В., 2017, established the relationship between the high frequency of DC and the complex nature of functional disorders [18]. The increase in CD morbidity rates in people with CNS diseases, according to several authors, could be influenced by the delay in intellectual development, reduction of cognitive, sensory and motor coordination functions that affect oral hygiene, professional care, dietary particularities [21-17, 19-37], as well as social inequality [24, 29, 30-33]. At the same time, some authors mention a lower level of CD damage in children with Down syndrome, visual and hearing impairments, compared to healthy subjects [8, 10, 16, 25, 33, 34].

Extinderea în timp a perioadei de formare a organului dentar măjorează probabilitatea acțiunii unor factori patologici și de risc variați, ereditari, congenitali și dobândiți, care influențează starea de sănătate orală a copiilor ș.a. [9, 10, 18, 23, 26, 28, 31]. S-a supoziționat că factorii patologici, care provoacă maladiile psihosomatice, ar influența și starea de sănătate a cavității orale a copiilor [9, 10, 23, 31, 37]. În urma studiilor clinice, la pacienții cu maladii ale sistemului nervos central (SNC) provocate de hipoxie perinatală s-a constatat tulburarea proceselor bioenergetice care, conform opiniei mai multor autori, perturbază aprovizionarea celulei cu energie. Conform opiniei mai multor autori, dereglările metabolismului perturbază aprovizionarea celulei cu energie, ceea ce provoacă afecțiuni polisistemice, cu implicarea organelor și țesuturilor energodependente: SNC, sistemului muscular și organelor endocrine. Pentru aceste maladii sunt specifice tulburări grave de dezvoltare și de creștere a organismului, soldate frecvent cu mortalitate infantilă sau dizabilitate severă la copii [39-44].

În caz de boli sistemice, asociate cu sindromul de hipoxie în perioadele de creștere a copilului, riscul de instalare a modificărilor patologice în țesuturi, caracterizate de creșterea activității proceselor de glicoliză anaerobă cu intensificarea formării acidului lactic, este sporit [39, 41, 44]. Fenomene similare se produc și în țesuturile dentare aflate în proces de dezvoltare [45], celulele glandelor salivare, generând o situație cariogenă [45-47].

Deși mai mulți autori în urma studiilor clinice au semnalat creșterea afectării prin carie dentară și a cazurilor de hipomineralizare a smalțului la copiii cu maladii ale SNC provocate de hipoxie perinatală [45-49], rolul tulburărilor metabolismului fosfocalcic, în special al proceselor bioenergetice, în declanșarea procesului carios nu au fost suficient studiate, iar stabilirea acestuia va permite elaborarea unor noi strategii de prevenire și de tratament al patologiei dentare.

### Scopul lucrării

Studierea relației dintre afectarea prin carie dentară și markerii metabolismului fosfocalcic la copiii cu maladii severe ale sistemului nervos central provocate de hipoxia perinatală.

### Materiale și metode

Lucrarea a fost efectuată în cadrul Catedrei de chirurgie oro-maxilo-facială pediatrică și pedodontie „Ion Lupan” a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. Pentru realizarea scopului trasat a fost realizată o cercetare cliică de tip caz-martor. Pentru a evidenția impactul dereglărilor de metabolism asupra susceptibilității la carie dentară a copiilor cu maladii severe ale SNC au fost studiați markerii biochimici ai proceselor redox și metabolismului fosfocalcic în serul sangvin și fluidul oral (FO) la un eșantion de 1272 de copii cu vârste cuprinse între 1 și 18 ani, repartizați în 2 loturi identice după structură. Astfel, *lotul de cerce-*

The extension in time of the period of formation of the dental organ increases the probability of the action of various pathological and risk factors, hereditary, congenital and acquired, which influence the oral health of children, etc. [9, 10, 18, 23, 26, 28, 31]. It was assumed that pathological factors, which cause psychosomatic illnesses, would also influence the health of the children's oral cavity [9, 10, 23, 31, 37]. Clinical trials have shown that patients with central nervous system (CNS) disease caused by perinatal hypoxia have been found to be disrupting bioenergetic processes that, according to several authors, disrupt the cell's energy supply. According to several authors, metabolic disorders disrupt the cell's energy supply, which causes polysystemic disorders, involving energy-dependent organs and tissues: CNS, muscular system and endocrine organs. These diseases are specific to severe developmental and growth disorders of the body, often resulting in infant mortality or severe disability in children [39 — 44].

In the case of systemic diseases, associated with hypoxia syndrome during the growth of the child, the risk of pathological changes in the tissues, characterized by increased activity of anaerobic glycolysis processes with increased lactic acid formation, is increased [39, 41, 44]. Similar phenomena occur in the developing dental tissues [45], the cells of the salivary glands, generating a cariogenic situation [45-47].

Although several authors in clinical trials have reported an increase in tooth decay damage and cases of enamel hypomineralization in children with CNS disease caused by perinatal hypoxia [45-49], the role of phosphocalcic metabolism disorders, especially bioenergetic processes, in the onset of the caries process has not been sufficiently studied, and its establishment will allow the development of new strategies for the prevention and treatment of dental pathology.

### Purpose of this paper

To study the relationship between dental caries and markers of phosphocalcic metabolism in children with severe central nervous system disease caused by perinatal hypoxia.

### Materials and methods

The work was performed within the *Department of Pediatric Oro-Maxillofacial Surgery and Pedodontics „Ion Lupan” of PI „Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy (SUMPh)*. In order to achieve the stated goal, was performed a case-control clinical research. In order to highlight the impact of metabolic disorders on the susceptibility to dental caries of children with severe CNS disease, the biochemical markers of redox processes and phosphocalcic metabolism in blood serum and oral fluid (OF) were studied in a sample of 1272 children aged 1 and 18 years, divided into 2 identical lots by structure. Thus, the L<sub>1</sub> research group consisted of 636 children with severe CNS pathology, and the L<sub>0</sub> control group

tare  $L_1$  a fost constituit din 636 de copii cu patologie severă a SNC, iar lotul martor  $L_0$  — din 636 de copii convențional sănătoși.

*Criteriile de selectare a copiilor în studiu:* vârsta 1- 18 ani, subiecți la maladii severe ale SNC, acordul informat al părinților sau reprezentanților legali.

*Criteriile de excludere a copiilor din studiu:* lipsa acordului informat al părinților sau reprezentanților legali pentru participarea în studiu, fluoroza dentară.

**Metode clinice de cercetare.** Colectarea datelor s-a efectuat prin aplicarea instrumentelor conform chestionarelor pentru înregistrarea statutului oral propuse de OMS (WHO Oral Health Questionnaire for Children, 2013) [2]. Au fost estimați indicii de experiența carioasă (indicele de prevalență a CD (IP) și indicii co, cos, COA, COAS, COA+co, COAS+cos).

**Metode paraclinice de cercetare.** *Metode biochimice de cercetare a serului sangvin.* Analizele serului sangvin au inclus determinarea markerilor metabolismului fosfocalcic și evaluarea hipoxiei la copiii cu patologie severă a SNC și cei convențional sănătoși. Sângele venos a fost colectat dimineața, à jeun, cu o seringă de 5 ml, apoi trecut în eprubete și transportat la Laboratorul Științific de biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu” (pentru cercetări biochimice), director, dr. hab. în științe medicale, V. Gudumac și la Laboratorul științific de reproducere umană și investigații imunochimice a IMSP IMC (pentru investigații imunologice) în primele 3 ore după colectare. Serul sangvin s-a congelat și s-a păstrat la temperatura de  $-40^{\circ}\text{C}$ , fiind utilizat ulterior în calitate de material biologic pentru investigațiile biochimice.

*Metode biochimice și biofizice de cercetare a fluidului oral.* Pentru efectuarea studiilor biochimice și biofizice fluidul oral (FO) s-a colectat nestimulat, dimineața à jeun, în eprubete de plastic sterile care au fost transportate în Laboratorul Științific de biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu”.

**Markerii metabolismului osos și fosfocalcic.** Metodele tradiționale de determinare a  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  și a Pi nu sunt suficient de informative pentru diagnosticul precoce al afecțiunilor stomatologice, deoarece sistemul osos menține nivelul relativ echilibrat al  $\text{Ca}^{2+}$  și Pi (fosfații anorganici) din serul sangvin. Totodată, fosfatazele acidă tartratrezistentă și alcalină termolabilă, sunt indici specifici, sensibili și informativi (conținutul lor se modifică la cele mai mici schimbări în țesutul osos) [50-55]. Evaluarea complexă a indicatorilor metabolismului osos și fosfocalcic (dozarea Ca, Pi, fosfatazei acide tartratrezistente și alcaline termolabile) s-a realizat cu seturile standard EliTech (Franța), în conformitate cu recomandările elaborate de Gudumac V. și coaut., 2010 [51]. Dozarea osteocalcinei s-a efectuat imunoenzimatic (ELISA) cu testul DSL-10-7600 ACTIVE Human Osteocalcin Enzyme-linked Immunosorbent Assay produs de Diagnostic Systems Laboratories Inc. (SUA), iar determinarea activității lactatdehidrogenazei și lactatului prin metoda spectrofotometrică (cinetică) [52].

*Metode microbiologice de cercetare a biofilmului*

— 636 conventionally healthy children.

*Selection criteria for children under study:* age 1–18 years, subjects with severe CNS disease, informed consent of parents or legal representatives.

*Criteria for excluding children from the study:* lack of informed consent of parents or legal representatives to participate in the study, dental fluorosis.

**Clinical research methods** Data collection was performed by applying the tools according to the questionnaires for recording oral status proposed by the WHO (WHO Oral Health Questionnaire for Children, 2013) [2]. Carious experience indices were estimated (DC (PI) prevalence index and dft, dfs, DMFT, DMFS, DMFT+ dft, DMFS+ dfs indices).

**Paraclinical research methods.** *Biochemical blood serum research methods.* Blood serum tests included the determination of markers of phosphocalcic metabolism and the assessment of hypoxia in children with severe CNS pathology and those who are conventionally healthy. The venous blood was collected in the morning on an empty stomach with a 5 ml syringe, then passed into test tubes and transported to the Scientific Laboratory of Biochemistry of „Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy (director, Dr. hab., V. Gudumac) in the first 3 hours after collection. The blood serum was frozen and stored at  $-40^{\circ}\text{C}$ , and was later used as a biological material for biochemical investigations.

*Biochemical and biophysical methods for oral fluid research.* In order to perform biochemical and biophysical studies, the oral fluid (OF) was collected unstimulated, in the morning on an empty stomach, in sterile plastic tubes that were transported to the Scientific Biochemistry Laboratory of „Nicolae Testemițanu” SUMPh.

**Markers of bone and phosphocalcic metabolism.** Traditional methods for determining  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  and Pi are not sufficiently informative for the early diagnosis of dental conditions, because the skeletal system maintains a relatively balanced level of  $\text{Ca}^{2+}$  and Pi (inorganic phosphates) in the blood serum. At the same time, the thermosetting acid and alkaline tartrate-resistant phosphatases are specific, sensitive and informative indices (their content changes at the slightest changes in the bone tissue) [50–55]. The complex evaluation of bone and phosphocalcic metabolism indicators (dosing of Ca, Pi, tartrate-resistant acid phosphatases and thermolabile alkalis) was performed with standard EliTech sets (France), according to the recommendations developed by Gudumac V. et coauthors., 2010 [51]. Osteocalcin dosing was performed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the DSL-10-7600 ACTIVE Human Osteocalcin Enzyme-linked Immunosorbent Assay by Diagnostic Systems Laboratories Inc. (USA), and the determination of lactate dehydrogenase and lactate activity by the spectrophotometric (kinetic) method [52].

*Microbiological methods for dental biofilm research.* The research was performed in the Diag-

dentar. Cercetările au fost efectuate în Laboratorul de diagnostic „Micromed”, secția de microbiologie. Materialul colectat a fost plasat într-un mediu special și transportat în decurs de 1 oră în laborator, unde a fost cultivat pe medii de cultură geloză-sânge. Au fost aplicate și tehnici de însămânțare cu izolarea agentului microbial în cultură pură. Culturile au fost plasate într-un incubator la 37°C timp de 24-72 ore. Identificarea culturilor pure de microorganisme izolate pe medii nutritive din biofilmul dentar s-a efectuat pe baza proprietăților morfologice, tinctoriale, culturale și biochimice. Identificarea bacteriilor din grupul *Streptococcus viridans* (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus salivarius* ș.a.) a fost efectuată cu utilizarea sistemului automat Vitek2 (bioMérieux) [56].

Cercetările au fost aprobate de Comitetul de etică a cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz pozitiv din 14.11.2011) și a fost realizat în conformitate cu cerințele etice.

### Rezultate și discuții

Subiecții luați în observație sunt nativi și rezidenți în Republica Moldova. Rezultatele analizei statistice denotă că 50,95±1,98% dintre copii sunt de vârstă școlară medie, 28,30±1,79% de vârstă școlară primară și 20,75±1,61% preșcolară. Repartiția copiilor pe grupe de vârstă corespunde perioadelor caracterizate de creșterea riscului carios.

Din numărul total de copii examinați au prevalat numeric băieții — 55,35±1,97%, comparativ cu fetele — 44,65±1,97%, frecvența cazurilor de dizabilitate fiind mai mare la băieți. Copiii din ambele loturi locuiau în condiții similare, majoritatea fiind plasați în instituții rezidențiale, provenind din familii social-vulnerabile sau cu o stare materială nefavorabilă. Repartiția copiilor în loturi a fost identică după vârstă, gen și mediul de trai ( $\chi^2=0,61$ ,  $gl=4$ ,  $p>0,05$ ).

Starea de sănătate a copiilor din lotul de cercetare (L<sub>1</sub>) a fost evaluată de specialiștii în domeniul neurologiei pediatrice. Astfel, la toți copiii au fost stabilite deficiențe intelectuale (100,0±0,0%), la 84,91±1,42% din subiecți fiind asociate cu deficiențe senzitive și motorii. Majoritatea copiilor incluși în studiu (70,13±1,82%) sufereau de dizabilități severe, erau ținuiți la pat și necesitau îngrijiri speciale. La 29,87±1,82% dintre subiecți au fost stabilite deficiențe accentuate, acești copii nefiind capabili să se autodeservească și să efectueze de sine stătător igienizarea cavității orale. Retardare mintală profundă a fost stabilită la 39,62±1,94% dintre copii, severă la 35,54±1,89% și moderată la 24,84±1,71%. Cele mai frecvente maladii ale SNC au fost: retardarea mintală, PCI, sindromul Down, asociate la majoritatea copiilor cu epilepsie sau sindrom epileptic.

PCI a fost stabilită la 48,11±1,98% dintre copii, cu forme spastice de PCI fiind diagnosticați 89,9±1,72% dintre subiecți, cu PCI diskinetică 6,86±1,45, cu PCI ataxică 2,26±0,85% și cu PCI mixtă 0,98±0,52%.

nostic Laboratory „Micromed”, Department of Microbiology. The collected material was placed in a special medium and transported within 1 hour to the laboratory, where it was cultured on blood-agar culture medium. Inoculation techniques were also applied with the isolation of the microbial agent in pure culture. The cultures were placed in an incubator at 37 ° C for 24–72 hours. The identification of pure cultures of microorganisms isolated on nutrient media from dental biofilm was performed based on morphological, tinctorial, cultural and biochemical properties. The identification of bacteria from the group *Streptococcus viridans* (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus salivarius*, etc.) was performed using the automatic system Vitek2 (bioMérieux) [56].

The research was approved by the Research Ethics Committee of „Nicolae Testemițanu” *SUMPh* (positive opinion of 14.11.2011) and has been made in accordance with ethical requirements.

### Results and discussions

The subjects observed are natives and residents of the Republic of Moldova. The results of the statistical analysis show that 50.95±1.98% of the children are of average school age, 28.30±1.79% of primary school age and 20.75±1.61% of pre-school. The distribution of children by age groups corresponds to the periods characterized by an increased risk of caries.

Of the total number of children that was examined, boys prevailed numerically — 55.35±1.97%, compared to girls — 44.65±1.97%, the frequency of cases of disability being higher in boys. The children from both groups lived in similar conditions, most of them being placed in residential institutions, coming from socially vulnerable families or with an unfavorable material condition. The distribution of children in groups was identical according to age, gender and living environment ( $\chi^2=0.61$ ,  $gl=4$ ,  $p>0.05$ ).

The health of the children in the research group (L<sub>1</sub>) was assessed by specialists in the field of pediatric neurology. Thus, intellectual deficiencies were established in all children (100.0±0.0%), in 84.91±1.42% of the subjects being associated with sensory and motor deficiencies. Most of the children included in the study (70.13±1.82%) suffered from severe disabilities, were bedridden and needed special care. In 29.87±1.82% of the subjects, were established severe deficiencies, these children not being able to self-serve and perform oral hygiene on their own. Deep mental retardation was established in 39.62±1.94% of children, severe in 35.54±1.89% and moderate in 24.84±1.71%. The most common CNS diseases were: mental retardation, ICP, Down syndrome, associated with most children with epilepsy or epileptic syndrome.

ICP was established in 48.11±1.98% of children, with spastic forms of ICP being diagnosed 89.9±1.72% of subjects, with dyskinetic ICP 6.86±1.45, with ataxic ICP 2, 26±0.85% and with

Epilepsia (sau sindromul epileptic) a fost stabilită la 64,15±1,9% dintre subiecții luați în studiu, cei mai mulți prezentând crize generalizate tonico-clonice (43,09±2,45%), parțiale complexe cu generalizare secundară (21,81±2,04), parțiale simple motorii (18,09±1,91%) sau parțiale complexe (17,01±1,49%). La 64,15±1,9% dintre copiii cu dizabilități au fost identificate și alte maladii asociate congenitale ale SNC (hidrocefalie, microcefalie, encefalopatie, sindromul epileptic, miopatie ș.a.). Majoritatea copiilor (84,59±1,43%) sufereau de dizabilități asociate: motorii (69,18±1,83%), auditive și de vorbire (49,69±1,98%), vizuale (47,8±1,98%). Sindromul Down a fost diagnosticat la 15,72±1,44% dintre copii.

Astfel, la copiii din lotul L<sub>1</sub> cele mai frecvente maladii ale SNC au fost retardarea mintală, paralizia cerebrală infantilă și sindromul Down, asociate la majoritatea copiilor (64,15±1,9%) cu epilepsie sau sindrom epileptic. Stările convulsive au fost depistate la copiii cu afecțiuni pre- și perinatale ale sistemului nervos — tulburări ischemice hipoxice ale SNC, hemoragii intracraniene, malformații cerebrale, infecții intrauterine ș.a. La copiii cu PCI și epilepsie au fost semnalate paroxisme convulsive și tulburări perinatale ale sistemului nervos: encefalopatii hipoxice ischemice, hemoragii intracraniene și leucomalacie periventriculară. Copiii cu întârziere în dezvoltarea fizică prezentau cardiomiopatii, mialgii, toleranță scăzută la efort fizic, dispnee și adinamie. S-au depistat frecvent simptome cerebrale precum excitabilitate și iritabilitate alternată cu perioade de somnolență, tegumentele fiind palide din cauza hipoxiei tisulare.

Analiza amplă a rezultatelor nivelului de morbiditate prin CD a evidențiat decalajul dintre indicatorii de experiență carioasă la copiii cu maladii ale SNC și cei convențional sănătoși. Astfel, prin estimarea IP a cariei dentare la copiii luați în studiu s-au estimat variații considerabile ale acestui indicator în funcție de vârstă, tipul și severitatea patologiei SNC și maladiilor asociate. Prevalența CD la copiii cu maladiile SNC a fost cu 22,91±1,23% mai mare comparativ cu copiii convențional sănătoși (Figura 1). Valorile maxime ale IP au fost înregistrate la copiii cu deficiențe intelectuale și multiple

Valorile indicatorilor

mixed ICP 0.98±0.52%. Epilepsy (or epileptic syndrome) was established in 64.15±1.9% of the subjects studied, most with generalized tonic-clonic seizures (43.09±2.45%), partial complexes with secondary generalization (21.81±2.04), partly simple motor (18.09±1.91%) or partly complex (17.01±1.49%). In 64.15±1.9% of children with disabilities were identified other congenital associated diseases of the CNS (hydrocephalus, microcephaly, encephalopathy, epileptic syndrome, myopathy, etc.). Most children (84.59±1.43%) suffered from associated disabilities: motor (69.18±1.83%), hearing and speech (49.69±1.98%), visual (47.8±1.98%). Down syndrome was diagnosed in 15.72±1.44% of children.

Thus, of the children in group L<sub>1</sub> the most common diseases of the CNS were mental retardation, infantile cerebral palsy and Down syndrome, associated with most children (64.15±1.9%), with epilepsy or epileptic syndrome. Seizures have been reported in children with pre- and perinatal disorders of the nervous system — hypoxic ischemic CNS disorders, intracranial bleeding, brain malformations, intrauterine infections, etc. of the children with ICP and epilepsy have been reported paroxysms convulsions and perinatal disorders of the nervous system:

ischemic hypoxic encephalopathies, intracranial bleeding and periventricular leukomalacia. Children with a delay in physical development had cardiomyopathies, myalgia, low tolerance to physical effort, dyspnea and adinamie. Were frequently found brain symptoms such as excitability and irritability alternate with periods of sleepiness, the skin being pale due to tissue hypoxia.

Extensive analysis of DC morbidity results revealed a gap between indicators of carious experience in children with CNS disease and conventionally healthy ones. Thus, by estimating the PI of dental caries in the children studied, considerable variations of this indicator were estimated depending on the age, type and severity of CNS pathology and associated diseases. The prevalence of DC in children with CNS was 22.91±1.23% higher compared to conventionally healthy children (Figure 1). Maximum values of PI were recorded in children with intellectual and multiple disabilities (82.71±0.79%).

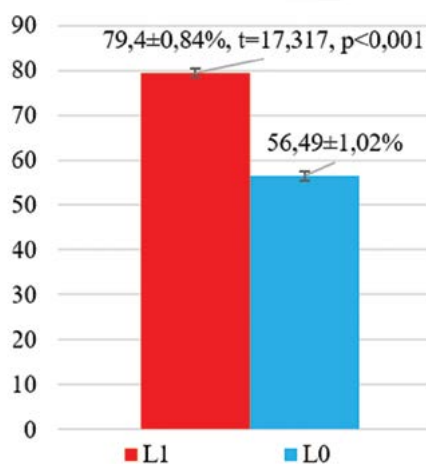


Fig. 1. Prevalența cariei dentare la copii  
Fig. 1. Prevalence of dental caries in children

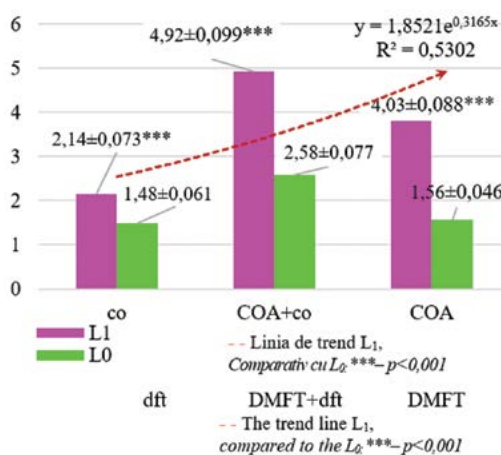


Fig. 2. Indicatorii de experiență carioasă la copii  
Fig. 2. Indicators of carious experience in children



de experiență carioasă au fost majorate statistic semnificativ la copiii cu maladiile SNC, reprezentând:  $co=2,14\pm 0,073$  ( $t=6,896$ ,  $p<0,001$ ) în dentiția temporară,  $COA=4,03\pm 0,088$  ( $t=24,953$ ,  $p<0,001$ ) în cea permanentă și  $COA+co=4,92\pm 0,099$  ( $t=18,588$ ,  $p<0,001$ ) în mixtă, comparativ cu  $co=1,48\pm 0,061$ ,  $COA=1,56\pm 0,046$  și  $COA+co=2,58\pm 0,077$ , respectiv la copiii convențional sănătoși. Linia de trend a indicatorilor de experiență carioasă indică o eventuală creștere semnificativă a acestora la copiii din lotul de cercetare ( $L_1$ ) (Figura 2) și atenționează asupra necesității aplicării metodelor de prevenire a afecțiunilor dentare.

Semnele clinice de hipoxie tisulară observate la examenul clinic au fost confirmate de rezultatele analizei biochimice a serului sangvin, care au arătat o creștere a concentrației produselor glicolizei anaerobe. Astfel, la copiii cu maladii psihosomatice accentuate și severe s-a depistat creșterea activității lactat dehidrogenazei (LDH) de la  $392,21\pm 17,033$  U/L până la  $484,63\pm 3,875$  U/L, valorile medii fiind de  $449,57\pm 5,987$  U/L,  $p<0,001$ , depășind de 1,35 ori valorile maxime normale ( $N\ LDH=120-332$  U/L) (Figura 3). Majorat semnificativ a fost și nivelul de lactat (comparativ cu valorile normale 1-1,7 mmol/l) care variază în limitele  $1,91\pm 0,005$  mmol/l —  $2,139\pm 0,031$  mmol/l,  $p<0,001$  (Figura 2).

Cele mai ridicate valori ale indicatorilor glicolizei anaerobe au fost semnalate la copiii cu epilepsie sau cu sindrom epileptic, PCI, inclusiv la subiecții cărora s-a administrat tratamentul anticonvulsivant (TACV), fapt care denotă tulburarea cronică a proceselor redox în organism (Tabelele I, II). În serul sangvin al copiilor convențional sănătoși nivelul produselor glicolizei anaerobe au fost în limitele normei: activitatea LDH  $174,08\pm 2,554$  U/L, iar concentrația lactatului  $1,04\pm 0,005$  mmol/l.

Modificări similare ale proceselor redox au fost depistate și în FO, dovadă a caracterului sistemic al tulburării proceselor bioenergetice. Conform datelor prezentate în tabelul II, în FO al copiilor din lotul  $L_1$  s-a depistat majorarea moderată a concentrației lactatului  $0,510\pm 0,006$  mmol/l, ( $p<0,001$ ) comparativ cu copiii convențional sănătoși ( $0,333\pm 0,001$  mmol/l).

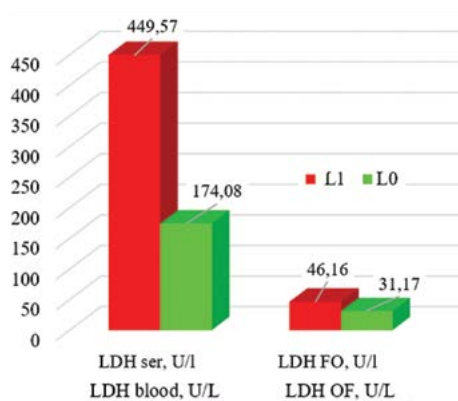


Fig. 3. Activitatea LDH în serul sangvin și fluidul oral  
Fig. 3. LDH activity in blood serum and oral fluid

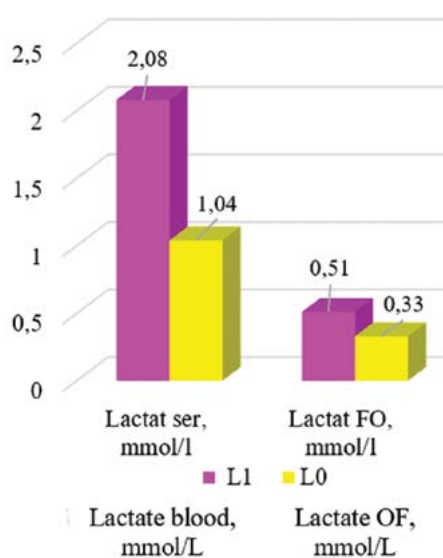


Fig. 4. Nivelul lactatului în serul sangvin și fluidul oral  
Fig. 4. Lactate level in the blood serum and oral fluid

U/L,  $p<0,001$ , excedând de 1,35 ori valorile maxime normale ( $N\ LDH=120-332$  U/L) (Figura 3). Significativ crescut a fost și nivelul de lactat (comparativ cu valorile normale 1-1,7 mmol/l) care variază în limitele  $1,91\pm 0,005$  mmol/l —  $2,139\pm 0,031$  mmol/l,  $p<0,001$  (Figura 2).

Cele mai ridicate valori ale indicatorilor glicolizei anaerobe au fost raportate la copiii cu epilepsie sau cu sindrom epileptic, PCI, inclusiv la subiecții cărora s-a administrat tratamentul anticonvulsivant (TACV), fapt care denotă tulburarea cronică a proceselor redox în organism (Tabelele I, II). În serul sangvin al copiilor convențional sănătoși nivelul produselor glicolizei anaerobe au fost în limitele normei: activitatea LDH  $174,08\pm 2,554$  U/L, iar concentrația lactatului  $1,04\pm 0,005$  mmol/l.

Modificări similare ale proceselor redox au fost depistate și în FO, dovadă a caracterului sistemic al tulburării proceselor bioenergetice. Conform datelor prezentate în Tabelul II, în FO al copiilor din lotul  $L_1$  s-a depistat majorarea moderată a concentrației lactatului  $0,510\pm 0,006$  mmol/l, ( $p<0,001$ ) comparativ cu copiii convențional sănătoși ( $0,333\pm 0,001$  mmol/l).

The values of carious experience indicators were statistically significantly increased in children with CNS disease, representing:  $dft=2.1\pm 0.073$  ( $t=6.896$ ,  $p<0.001$ ) in temporary dentition,  $DMFT=4.03\pm 0.088$  ( $t=24.953$ ,  $p<0.001$ ) in the permanent and  $DMFT+dft=4.92\pm 0.099$  ( $t=18.588$ ,  $p<0.001$ ) in the mixed, compared to  $dft=1.48\pm 0.061$ ,  $DMFT=1.56\pm 0.046$  and  $DMFT+dft=2.58\pm 0.077$ , respectively in conventionally healthy children. The trend line of carious experience indicators indicates a possible significant increase in the number of children in the research group ( $L_1$ ) (Figure 2) and warns of the need to apply methods to prevent dental disease.

The clinical signs of tissue hypoxia observed at the clinical examination were confirmed by the results of the biochemical analysis of the blood serum, which showed an increase in the concentration of anaerobic glycolysis products. Thus, in children with severe and severe psychosomatic illnesses, an increase in lactate dehydrogenase (LDH) activity was found from  $392.21\pm 17.033$  U/L to  $484.63\pm 3.875$  U/L, the average values being  $449.57\pm 5.987$

**Tabelul I.** Concentrația produselor glicolizei anaerobe în serul sangvin și fluidul oral la copii în funcție de patologia neurologică

Loturi de copii	Ser sangvin		Fluid oral	
	LDH, U/L	Lactat, mmol/l	LDH, U/L	Lactat, mmol/l
RM	449,57±5,986	2,08±0,018	46,16±1,489	0,51±0,009
PCI	474,75±5,293	2,139±0,03	48,84±1,966	0,53±0,011
S-m Down	392,21±17,033	1,91±0,005	27,27±0,862	0,39±0,009
S-m epileptic	484,63±3,875	2,16±0,026	55,62±1,952	0,58±0,010
Total L <sub>1</sub>	449,57±5,987	2,08±0,018	46,16±1,489	0,51±0,006
L <sub>0</sub>	174,08±2,554	1,04±0,005	31,17±0,327	0,33±0,001
t, p L <sub>1</sub> /L <sub>0</sub>	42,328, <0,001	56,356, <0,001	9,837, <0,001	20,028, <0,001

**Table I.** Concentration of anaerobic glycolysis products in blood serum and oral fluid in children depending on the neurological pathology

Lots of children	Blood serum		Oral Fluid	
	LDH, U/L	Lactate, mmol/l	LDH, U/L	Lactate, mmol/l
MR	449,57±5,986	2,08±0,018	46,16±1,489	0,51±0,009
ICP	474,75±5,293	2,139±0,03	48,84±1,966	0,53±0,011
Down syndrome	392,21±17,033	1,91±0,005	27,27±0,862	0,39±0,009
Epileptic syndrome	484,63±3,875	2,16±0,026	55,62±1,952	0,58±0,010
Total L <sub>1</sub>	449,57±5,987	2,08±0,018	46,16±1,489	0,51±0,006
L <sub>0</sub>	174,08±2,554	1,04±0,005	31,17±0,327	0,33±0,001
t, p L <sub>1</sub> /L <sub>0</sub>	42,328, <0,001	56,356, <0,001	9,837, <0,001	20,028, <0,001

Această modificare s-a produs simultan cu sporirea activității LDH până la 46,16±1,489 U/L, p<0,001 în raport cu L<sub>0</sub> 31,17±0,327 U/L.

Rezultatele studiului compoziției fluidului oral și a numărului *Streptococcus mutans* ≥10<sup>5</sup> UFC/g în biofilmul dentar denotă sporirea semnificativă a activității glicolizei anaerobe, caracterizată de creșterea concentrației de lactat și activității LDH în FO, fiind unul dintre factorii determinanți ai scăderii continue a pH-ului FO (6,23±0,049, p<0,001), biofilmului dentar (5,61±0,035, p<0,001) și reducerii șanselor de evitare a apariției cavitațiilor carioase noi până la 16,76±1,032, p<0,001. La copiii sănătoși, în FO s-a depistat concentrația admisă a lactatului și activitatea moderată a LDH, dovadă a intensității reduse a proceselor oxidative în celulele glandelor salivare (Tabelul III).

mmol/l). This change occurred simultaneously with increasing LDH activity to 46.16±1.489 U/L, p<0.001 in relation to L<sub>0</sub> 31.17±0.327 U/L.

The results of the study of the composition of the oral fluid and the number of *Streptococcus mutans* ≥10<sup>5</sup> CFU/g in the dental biofilm show a significant increase in anaerobic glycolysis activity, characterized by increased lactate concentration and LDH activity in OF, being some of the determinants of continuous pH decrease of OF (6.23±0.049, p<0.001), dental biofilm (5.61±0.035, p<0.001) and reduced the chances of avoiding the appearance of new carious cavities to 16.76±1.032, p<0.001. In healthy children, the allowable lactate concentration and moderate LDH activity were found in OF, as evidenced by the low intensity of oxidative processes in the cells of the salivary glands (Table III).

**Tabelul II.** Nivelul hormonilor și mediatorilor metabolismului fosfocalcic în serul sangvin la copii în funcție de patologia neurologică

Loturi de copii	Vitamina D <sub>3</sub> , ng/ml	Calcitonina, pg/ml	HPT, pg/ml	Osteocalcina, ng/ml
RM	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
PCI	34,05±1,121	2,52±0,015	52,21±0,494	113,389±1,167
S-m Down	46,61±2,670	2,49±0,032	47,74±0,094	99,88±3,59
S-m epileptic	30,36±0,649	2,53±0,022	53,91±0,478	118,95±0,822
Total L <sub>1</sub>	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
L <sub>0</sub>	50,79±0,339	3,60±0,009	38,59±0,039	101,69±1,816
t, p L <sub>1</sub> /L <sub>0</sub>	15,293, <0,001	51,533, <0,001	37,638, <0,001	4,116, <0,001

**Table II.** Hormone levels and mediators of phosphocalcic metabolism in the blood serum in children according to neurological pathology

Lots of children	Vitamin D <sub>3</sub> , ng/ml	Calcitonin, pg/ml	PTH, pg/ml	Osteocalcin, ng/ml
MR	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
ICP	34,05±1,121	2,52±0,015	52,21±0,494	113,389±1,167
Down syndrome	46,61±2,670	2,49±0,032	47,74±0,094	99,88±3,59
Epileptic syndrome	30,36±0,649	2,53±0,022	53,91±0,478	118,95±0,822
Total L <sub>1</sub>	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
L <sub>0</sub>	50,79±0,339	3,60±0,009	38,59±0,039	101,69±1,816
t, p L <sub>1</sub> /L <sub>0</sub>	15,293, <0,001	51,533, <0,001	37,638, <0,001	4,116, <0,001



**Tabelul III.** Relația dintre concentrația lactatului și activitatea LDH în fluidul oral la copii și rezultatele evaluării riscului cariei la copii

Lotul de copii	Nr. <i>S. Mutans</i> UFC/g	P±ES(%)	LDH (mmol/l min)	Lactat (mmol/l)	pH-ul biofilmului oral	pH-ul fluidului oral	Șansele de evitare a cariilor noi,%
L <sub>1</sub>	< 10 <sup>5</sup>	48,58±3,43	28,17±0,528	0,38±0,004*	6,44±0,042*	7,11±0,039*	60,12±0,649*
	≥ 10 <sup>5</sup>	51,42±3,43	63,17±1,633	0,62±0,008*	5,61±0,035*	6,23±0,049*	16,76±1,032*
	total	100±0,0	46,16±1,489*	0,51±0,009*	6,01±0,039*	6,66±0,044*	37,83±1,614*
L <sub>0</sub>	< 10 <sup>5</sup>	75,47±2,96	30,21±0,269	0,33±0,001*	7,02±0,013*	7,42±0,013*	68,87±1,131*
	≥ 10 <sup>5</sup>	24,53±2,96	34,99±1,090	0,35±0,003*	6,53±0,054*	6,96±0,007*	47,65±1,794*
	total	100±0,0	31,17±0,327*	0,33±0,00*	6,93±0,019*	7,33±0,016*	64,69±1,103*

Notă: Veridicitatea diferențelor: L<sub>1</sub> comparativ cu lotul de control L<sub>0</sub> — \*p<0,001;

Veridicitatea diferențelor: numărul *S. Mutans* <10<sup>5</sup> UFC/g și *S. Mutans* ≥10<sup>5</sup> UFC/g — \*p<0,001.

**Table III.** Relationship between lactate concentration and LDH activity in oral fluid in children and results of caries risk assessment in children

Lots of children	Nr. <i>S. Mutans</i> UFC/g	P±ES(%)	LDH (mmol/l min)	Lactate (mmol/l)	oral biofilm pH	oral fluid pH	Chances of avoiding new caries,%
L <sub>1</sub>	< 10 <sup>5</sup>	48,58±3,43	28,17±0,528	0,38±0,004*	6,44±0,042*	7,11±0,039*	60,12±0,649*
	≥ 10 <sup>5</sup>	51,42±3,43	63,17±1,633	0,62±0,008*	5,61±0,035*	6,23±0,049*	16,76±1,032*
	total	100±0,0	46,16±1,489*	0,51±0,009*	6,01±0,039*	6,66±0,044*	37,83±1,614*
L <sub>0</sub>	< 10 <sup>5</sup>	75,47±2,96	30,21±0,269	0,33±0,001*	7,02±0,013*	7,42±0,013*	68,87±1,131*
	≥ 10 <sup>5</sup>	24,53±2,96	34,99±1,090	0,35±0,003*	6,53±0,054*	6,96±0,007*	47,65±1,794*
	total	100±0,0	31,17±0,327*	0,33±0,00*	6,93±0,019*	7,33±0,016*	64,69±1,103*

Note: The veracity of the differences: L1 compared to the control group L0 — \* p <0.001;

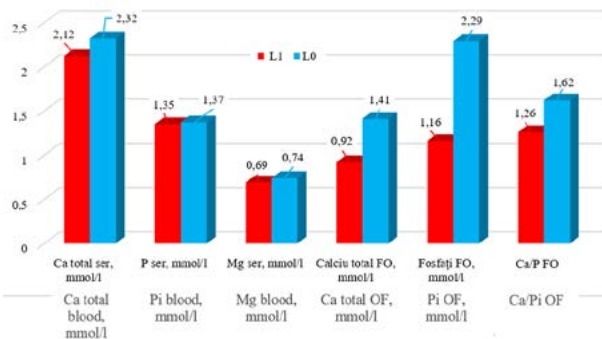
Truthfulness of differences: *S. Mutans* number <105 CFU/g and *S. Mutans* ≥105 CFU/g — \*p<0.001.

La analiza valorilor medii ale concentrației Ca total, fosfați (Pi) și Mg în serul sangvin (Figura 5) s-au depistat diferențe semnificative între acești indicatori la copiii din lotul de cercetare (L<sub>1</sub>) și lotul martor (L<sub>0</sub>), la care markerii menționați erau în limitele fiziologice (Ca=2,32±0,008 mmol/l, Pi=1,37±0,003 mmol/l, Mg=0,74±0,003 mmol/l). La majoritatea copiilor din lotul L<sub>1</sub> s-a depistat tulburarea metabolismului fosfocalcic, caracterizat de scăderea statistic semnificativă a concentrației Ca (2,12±0,009 mmol/l, t=16,466, p<0,001) în raport cu L<sub>0</sub>, fiind totodată sub limitele normei (Ca: N =2,2 – 2,75 mmol/l). În serul sangvin la copiii cu maladii psihosomatice severe s-a constatat și scăderea relativă a concentrației Pi până la 1,35±0,002 mmol/l (t=5,934, p<0,001) și Mg până la 0,69±0,004 mmol/l (t=10,589, p<0,001), comparativ cu subiecții convențional sănătoși.

Scăderea în serul sangvin a nivelului Ca ar putea fi provocată de administrarea TACV, aceasta diminuându-se continuu pe durata tratamentului TACV, aprofundând dereglările metabolismului calciului. Cele mai scăzute concentrații ale Ca și Mg în serul sangvin au fost înregistrate la copiii tratați cu fenitoină, barbiturice sau cu o combinație de preparate cu efect anti-convulsivant pe o perioadă mai mare de 2 ani. Așadar, administrarea TACV s-a soldat cu modificarea semnificativă a indicatorilor metabolismului fosfocalcic, comparativ cu subiecții

When analyzing the mean values of the total Ca concentration, phosphates (Pi) and Mg in the blood serum (Figure 5), significant differences were found between these indicators in the children in the research group (L<sub>1</sub>) and the control group (L<sub>0</sub>), in which the markers mentioned were within physiological limits (Ca=2.32±0.008 mmol/l, Pi=1.37±0.003 mmol/l, Mg=0.74±0.003 mmol/l). In most children in group L<sub>1</sub>, a disorder of phosphocalcic metabolism was detected, characterized by a statistically significant decrease in Ca concentration (2.12±0.009 mmol/l, t=16,466, p<0.001) compared to L<sub>0</sub>, being also below the norm (Ca: N=2.2–2.75 mmol/l). In the blood serum in children with severe psychosomatic illness, a relative decrease in Pi concentration to 1.35±0.002 mmol/l (t=5.934, p<0.001) and Mg to 0.69±0.004 mmol/l (t=10,589, p<0.001), compared to conventionally healthy subjects.

A decrease in the level of Ca in the blood serum could be caused by the administration of ACVT, which is continuously diminished during the treatment of ACVT, deepening the disorders of calcium metabolism. The lowest levels of Ca and Mg in the blood serum were recorded in children treated with phenytoin, barbiturates or a combination of anticonvulsant drugs for more than 2 years. Therefore, ACVT administration resulted in a significant change in phosphocalcic metabolism indicators com-



**Fig. 5.** Concentrația Ca, Pi, Mg în serul sangvin și Ca, Pi în FO la copii  
**Fig. 5.** Concentration of Ca, Pi, Mg in the blood serum and Ca, Pi in OF in children

convențional sănătoși. În literatura de specialitate este menționată dereglarea metabolismului Ca și Pi în funcție de terapia anticonvulsivantă administrată. Studiile noastre sunt în concordanță cu opinia mai multor autori, care au depistat că frecvența hipocalcemiei la pacienții supuși tratamentului anticonvulsivant variază între 7% și 70% [20, 57, 58].

La copiii din lotul L<sub>1</sub>, simultan cu reducerea semnificativă a Ca în serul sangvin, s-a depistat scăderea Ca și în FO (0,92±0,014 mmol/l, t=33,068, p<0,001), comparativ cu L<sub>0</sub> (1,41±0,005 mmol/l), fiind un factor de risc important în apariția noilor cavități carioase, în special la etapa de mineralizare postoperatorivă a dinților. Studiind conținutul de Pi în FO la copiii cu patologie severă a SNC și leziuni carioase s-a depistat reducerea statistic semnificativă a anionilor HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> până la 1,16±0,006 mmol/l, t=94,527, p<0,001, spre deosebire de copiii sănătoși, la care acești indici erau în limitele normei, constituind 2,29±0,010 mmol/l. La copiii din lotul L<sub>1</sub> a fost stabilită reducerea semnificativă a raportului Ca/Pi în FO (1:1,26±0,0087, p<0,001), în raport cu lotul martor (1:1,62±0,0045). Conform opiniei expuse de Леонтьев В.К. și coaut., 2016, reducerea raportului Ca/Pi mai mică de 1:1,52 constituie un factor de prognostic nefavorabil al evoluției CD, cauzat de tulburarea procesului de remineralizare a smalțului [59]. Considerăm că acest fenomen ar putea fi consecința dereglării metabolismului fosfocalcic sau/și a administrării TACV.

Rezultatele studiului activității fosfatazei alcaline termolabile (FATL) și fosfatazei acide tartratrezistente osoase (FATR) au elucidat diferențe statistic semnificative între acești indicatori sensibili ai metabolismului osos la copiii cu maladii severe ale SNC, provocate de hipoxie perinatală sau/și asociate cu hipoxie cronică, și cei convențional sănătoși. Astfel, la copiii din lotul L<sub>0</sub> activitatea acestor enzime în serul sangvin era în limitele normei și corespundea vârstei — FATL=58,07±0,738U/L și FATR 1,25±0,0124 U/L, respectiv. Spre deosebire de subiecții sănătoși, în serul sangvin al copiilor din L<sub>1</sub> s-a observat activitatea redusă a FATL (16,91±0,087U/L, t=55,416, p<0,001) și creșterea statistic semnificativă a activității FATR (1,87±0,023 U/L, t=23,502, p<0,001 (Figura 6).

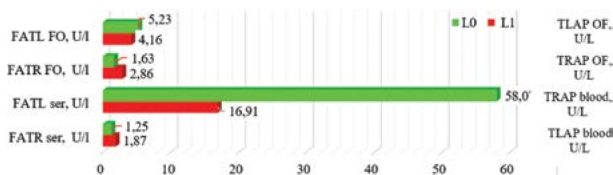
Atât la copiii cu patologia SNC, cât și la cei convențional sănătoși afectați de CD era majorată activitatea FATR și redusă a FATL în serul sangvin și FO, constituind factori de risc de importanță majoră. FATR, eliberată de osteoclaste, determină demineralizarea țesuturilor dentare, iar FATL, secretată de osteoblaste, mărește concentrația Pi în vecinătatea acestor celule până la un nivel în care produsul de solubilitate este depășit și fosfatul de calciu se precipită sub formă de cristale de

pared to conventionally healthy subjects. The literature mentions the disorder of Ca and Pi metabolism depending on the anticonvulsant therapy administered. Our studies are consistent with the opinion of several authors, who found that the frequency of hypocalcemia in patients undergoing anticonvulsant treatment varies between 7% and 70% [20, 57, 58].

In children in group L<sub>1</sub>, simultaneously with a significant reduction in Ca in blood serum, was also found a decrease in Ca and OF (0.92±0.014 mmol/l, t=33.068, p<0.001), compared to L<sub>0</sub> (1.41±0.005 mmol/l), being an important risk factor in the appearance of new carious cavities, especially at the stage of postoperative mineralization of the teeth. Studying the content of Pi in OF in children with severe CNS pathology and carious lesions, was found a statistically significant reduction of HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> anions to 1.16±0.006 mmol/l, t=94.527, p<0.001, as opposed to healthy children, to whom these indices were within the norm, constituting 2.29 ± 0.010 mmol / l. In children in group L<sub>1</sub>, a significant reduction in the Ca/Pi ratio in OF was established (1:1.26±0.0087, p<0.001), compared to the control group (1:1.62±0.0045). According to Леонтьев В.К. and coaut., 2016, the reduction of the Ca/Pi ratio less than 1:1.52 is an unfavorable prognostic factor of the evolution of DC, caused by the disturbance of the enamel remineralization process [59]. We consider that this phenomenon could be the consequence of the disorder of the phosphocalcic metabolism and/or of the administration of ACVT.

The results of the study of thermolabile alkaline phosphatase (TLAP) and bone tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) have elucidated statistically significant differences between these sensitive indicators of bone metabolism in children with severe CNS disease caused by perinatal hypoxia and / or associated with chronic hypoxia and those who are conventionally healthy. Thus, in children in group L<sub>0</sub> the activity of these enzymes in the blood serum was within the norm and corresponded to age — TLAP=58.07±0.738U/L and TRAP=1.25±0.0124 U/L, respectively. In contrast to healthy subjects, the TLAP activity was observed in the blood serum of children in L<sub>1</sub> (16.91±0.087U/L, t=55.416, p<0.001) and the statistically significant increase in TRAP activity (1.87±0.023) was observed. U/L, t=23.502, p<0.001 (Figure 6).

Both in children with CNS pathology and in those conventionally healthy affected by DC TRAP activity was increased and TLAP was reduced in blood serum and OF, constituting risk factors of major importance. TRAP, released by osteoclasts, causes demineralization of dental tissues, and TLAP, secreted by osteoblasts, increases



**Fig. 6.** Activitatea izoenzimelor, fosfatazelor alcalină și acidă, în serul sangvin și FO la copii

**Fig. 6.** Activity of isoenzymes, alkaline and acid phosphatases in blood serum and OF in children

**Tabelul IV.** Concentrația hormonilor și mediatorilor metabolismului fosfocalcic în serul sangvin la copii în funcție de patologia neurologică

Loturi de copii	Vitamina D <sub>3</sub> , ng/ml	Calcitonina, pg/ml	HPT, pg/ml	Osteocalcina, ng/ml
RM	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
PCI	34,05±1,121	2,52±0,015	52,21±0,494	113,389±1,167
S-m Down	46,61±2,670	2,49±0,032	47,74±0,094	99,88±3,59
S-m epileptic	30,36±0,649	2,53±0,022	53,91±0,478	118,95±0,822
Total L <sub>1</sub>	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
L <sub>0</sub>	50,79±0,339	3,60±0,009	38,59±0,039	101,69±1,816
t, p	15,293, p<0,001	51,533, p<0,001	37,638, p<0,001	4,116, p<0,001

**Table IV.** The concentration of hormones and mediators of phosphocalcic metabolism in the blood serum in children depending on neurological pathology

Lots of children	Vitamin D <sub>3</sub> , ng/ml	Calcitonin, pg/ml	PTH, pg/ml	Osteocalcin, ng/ml
MR	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
IPC	34,05±1,121	2,52±0,015	52,21±0,494	113,389±1,167
Down syndrome	46,61±2,670	2,49±0,032	47,74±0,094	99,88±3,59
Epileptic syndrome	30,36±0,649	2,53±0,022	53,91±0,478	118,95±0,822
Total L <sub>1</sub>	37,07±0,831	2,52±0,019	51,78±0,349	110,71±1,223
L <sub>0</sub>	50,79±0,339	3,60±0,009	38,59±0,039	101,69±1,816
t, p	15,293, p<0,001	51,533, p<0,001	37,638, p<0,001	4,116, p<0,001

hidroxiapatită. Presupunem că micșorarea activității fosfatazei alcaline este o manifestare a epuizării mecanismelor de compensare-adaptare pentru a menține metabolismul Ca și Pi în FO, reflectând și tulburarea metabolismului fosfocalcic în organe și țesuturi (care caracterizează puterea homeostazei în cavitatea orală). Din rezultatele obținute se poate deduce că la copiii cu patologie neuropsihică efortul osteoblastelor de refacere a țesutului distrus este mai redus față de cel distructiv al osteoclastelor.

Deoarece unul dintre cele mai importante mecanisme de inițiere a CD ar putea fi tulburarea procesului de mineralizare a țesuturilor dure dentare, am considerat necesar studiul comparativ al concentrației în serul sangvin al hormonilor și reglatorilor metabolismului fosfocalcic la copiii cu maladii severe ale SNC provocate de hipoxie perinatală și/sau asociate cu hipoxie cronică și la cei convențional sănătoși. Rezultatele obținute reflectă o diferență statistic semnificativă a conținutului calcitoninei, vitaminei D<sub>3</sub> și hormonului paratiroidian (HPT) în serul sangvin la copiii cu patologie neuropsihică severă în raport cu semenii lor convențional sănătoși (Figura 7, Tabelele IV, V).

În serul sangvin al copiilor din lotul de cercetare (L<sub>1</sub>) s-a depistat reducerea nivelului vitaminei D<sub>3</sub>=37,07±0,831 ng/ml, t=15,293, p<0,001) comparativ cu lotul martor (50,79±0,339 ng/ml) (Figura 7). Pe fundalul unui tratament pe termen lung cu preparate anticonvulsivante, deficitul de vitamina D<sub>3</sub> (24,54±0,645 — 29,31±0,275 ng/ml) devine un trigger pentru tulburarea metabolismului mineral și osos, descris de mai mulți cercetători. Farhat G. și coaut., 2002, Kotova C.M., și coaut., 2003, Fraser L.A. și coaut., 2015, au semnalat scăderea densității osoase și pierderea de masă osoasă (osteopenie) la

the concentration of Pi in the vicinity of these cells to a level where the solubility product is exceeded and calcium phosphate precipitates as hydroxyapatite crystals. We assume that the decrease in alkaline phosphatase activity is a manifestation of exhaustion of compensation-adaptation mechanisms to maintain Ca and Pi metabolism in OF, reflecting the disturbance of phosphocalcic metabolism in organs and tissues (which characterizes the power of homeostasis in the oral cavity). From the obtained results it can be deduced that in children with neuropsychological pathology the effort of osteoblasts to restore the destroyed tissue is lower than that of destructive osteoclasts.

As one of the most important mechanisms of DC initiation could be the disruption of the hard mineralization process of dental hard tissues, we considered necessary the comparative study of the serum concentration of hormones and regulators of phosphocalcic metabolism in children with severe CNS disease caused by perinatal hypoxia. and/or associated with chronic hypoxia and conventionally healthy. The results obtained reflect a statistically significant difference in the content of calcitonin, vitamin D<sub>3</sub> and parathyroid hormone (PTH) in the blood serum in children with severe neuropsychiatric pathology compared to their conventionally healthy peers (Figure 7, Tables IV, V).

The reduction in vitamin D<sub>3</sub> = 37.07 ± 0.831 ng / ml, t = 15.293, p <0.001) was found in the blood of the children in the research group (L1) compared to the control group (50.79 ± 0.339 ng / ml) (Figure 7). Against the background of long-term treatment with anticonvulsant drugs, vitamin D<sub>3</sub> deficiency (24.54 ± 0.645 — 29.31 ± 0.275 ng / ml) becomes a trigger for disorders of mineral and bone metabolism,

**Tabelul V.** Concentrația hormonilor și mediatorilor metabolismului fosfocalcic în serul sangvin la copiii cu maladiile SNC în funcție de medicația administrată

Medicația administrată	Vitamina D <sub>3</sub> , ng/ml	Calcitonina, pg/ml	HPT, pg/ml	Osteocalcina, ng/ml
TS	37,07±0,501***	2,52±0,029	49,19±0,693	112,92±0,962***
TACV	29,31±0,275***	2,52±0,022	52,85±0,711***	115,92±1,103***
TACV Combinat	26,30±0,532***	2,71±0,111*	56,57±1,239***	123,92±2,182***
TACV Complex	24,54±0,645***	2,47±0,039	57,41±0,752***	125,32±1,597***
Fără TACV	48,62±1,156	2,50±0,036	49,02±0,280	98,58±2,302

Notă: Veridicitatea diferențelor: TACV și fără TACV: \*\*\* p<0,001; \*\*p<0,01, \*p<0,05.

TACV — tratament anticonvulsivant, TS — administrarea preparatelor tranchilizante, sedative.

**Table V.** Concentration of hormones and mediators of phosphocalcic metabolism in the blood serum in children with CNS diseases according to the medication administered

Medication administered	Vitamin D <sub>3</sub> , ng/ml	Calcitonin, pg/ml	PHT, pg/ml	Osteocalcin, ng/ml
TS	37,07±0,501***	2,52±0,029	49,19±0,693	112,92±0,962***
TACV	29,31±0,275***	2,52±0,022	52,85±0,711***	115,92±1,103***
TACV Combinat	26,30±0,532***	2,71±0,111*	56,57±1,239***	123,92±2,182***
TACV Complex	24,54±0,645***	2,47±0,039	57,41±0,752***	125,32±1,597***
Fără TACV	48,62±1,156	2,50±0,036	49,02±0,280	98,58±2,302

Note: Veridicity of differences: TACV and without TACV: \*\*\* p <0.001; \*\* p <0.01, \* p <0.05.

TACV — anticonvulsant treatment, TS — administration of tranquilizers, sedative.

36% dintre pacienții cărora li s-a administrat TACV [60-62]. Cea mai cunoscută funcție a vitaminei D<sub>3</sub> este menținerea homeostazei Ca și Pi în organism și susținerea procesului de mineralizare osoasă [63]. Efectul principal al 25-hidroxicolecalciferolului este stimularea transportului Ca din lumenul intestinului subțire în circulația sangvină, sporind astfel concentrația serică a acestui element. Întrucât concentrațiile adecvate de Ca și Pi influențează mineralizarea osteoidului, deficitul sever de vitamina D<sub>3</sub> și formele ei active duc la insuficiența mineralizării acestuia soldată cu dezvoltarea rahitismului la copil și a osteomalaciei la adult [50, 63].

Investigațiile biochimice au arătat reducerea nivelului calcitoninei în serul sangvin la majoritatea copiilor cu maladii severe ale SNC (2,52±0,019 pg/ml, t=51,533, p<0,001), comparativ cu cei sănătoși (3,60±0,009 pg/ml). Fiind un hormon proteinopeptidic secretat de celulele parafoliculare C din glanda tiroidă, calcitonina inhibă resorbția osoasă prin reglarea numărului și activității celulelor osoase, obstrucționază schimbările instantanee ale concentrației serice de Ca și pierderile excesive ale acestuia [262]. La copiii cu patologie severă a SNC și activitate carioasă intensă nivelul calcitoninei a fost sub limitele valorilor de referință (3,6±0,04 pg/ml), dovadă a unui deficit relativ al acestui hormon. S-a stabilit de asemenea o corelație pozitivă puternică, statistic semnificativă, între concentrația calcitoninei și vitaminei D<sub>3</sub> la copiii cu leziuni carioase (r=0,883, p<0,001, n=212).

În urma studiului efectuat s-a relevat valoarea sporită a concentrației hormonului paratiroidian (HPT) în serul sangvin la copiii cu maladii psihosomatice severe (51,78±0,349, p<0,001), de 1,34 ori mai

described by several researchers. Farhat G. and co., 2002, Котова С.М., and coaut., 2003, Fraser L.A. and coaut., 2015, reported decreased bone density and bone loss (osteopenia) in 36% of patients receiving ACVT [60-62]. The most well-known function of vitamin D<sub>3</sub> is to maintain Ca and Pi homeostasis in the body and to support the process of bone mineralization [63]. The main effect of 25-hydroxycholecalciferol is to stimulate the transport of Ca from the lumen of the small intestine into the bloodstream, thus increasing the serum concentration of this element. As adequate Ca and Pi concentrations influence osteoid mineralization, severe vitamin D<sub>3</sub> deficiency and its active forms lead to insufficient mineralization resulting in the development of rickets in children and osteomalacia in adults [50, 63].

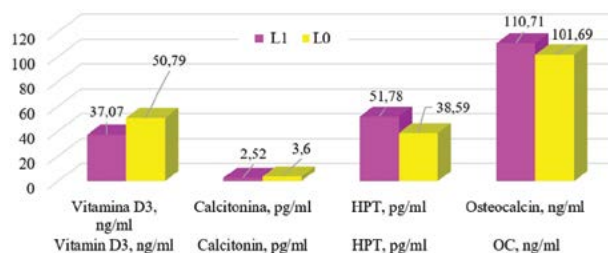
Biochemical investigations have shown a reduction in serum calcitonin levels in most children with severe CNS disease (2.52±0.019 pg/ml, t=51.533, p<0.001) compared to healthy children (3.60±0.009 pg/ml). Being a proteinopeptide hormone secreted by parafollicular C cells in the thyroid gland, calcitonin inhibits bone resorption by regulating the number and activity of bone cells, obstructing instantaneous changes in serum Ca concentration and its excessive loss [262]. In children with severe CNS pathology and intense carious activity, the level of calcitonin was below the reference values (3.6±0.04 pg / ml), evidence of a relative deficiency of this hormone. A strong positive correlation, statistically significant, was also established between the concentration of calcitonin and vitamin D<sub>3</sub> in children with carious lesions (r=0.833, p<0.001, n=212).

The study revealed an increased value of the level of parathyroid hormone (PTH) in the blood serum

mare comparativ cu copiii convențional sănătoși ( $38,59 \pm 0,039$ ), care ar putea fi provocată de deficiența vitaminei  $D_3$ . Studiul concentrației HPT în serul sanguin a arătat o creștere statistic semnificativă a acesteia la pacienții cu epilepsie cărora li s-a administrat fenitoină, barbiturice sau tratament combinat timp de mai mulți ani. Creșterea HPT este un indicator al tulburărilor accentuate ale metabolismului mineral și osos, hiperparatiroidismul secundar fiind o reacție compensatorie a glandelor paratiroidice în urma hipocalcemiei îndelungate pe fundalul TACV. Dereglarea pe termen lung a homeostazei calciului duce la mobilizarea acestuia din depozitele osoase, ceea ce provoacă sindromul de osteopenie [64-67]. Remarcăm că la 28% dintre copiii tratați cu preparate anticonvulsivante a fost depistată modificarea tuturor parametrilor studiați ai metabolismului fosfocalcic.

Rolul tulburărilor metabolismului energetic în cazul unor maladii ereditare și congenitale pe fundal de hipoxie în declanșarea afecțiunilor dentare, inclusiv a CD, nu a fost suficient studiat. A fost demonstrat însă faptul că în cadrul deficiențelor mitocondriale primare (determinate genetic) și dobândite, pe fundal de hipoxie, crește activitatea glicolizei anaerobe cu intensificarea formării acidului lactic [39, 41, 42, 44], inclusiv în țesuturile cavității orale și în celulele glandelor salivare, fapt care poate provoca o situație cariogenă [45]. Sinha K. și coaut., 2013, Zorov D. coaut., 2014, Ding X. și coaut., 2016, au menționat că producerea excesivă de acid lactic are loc în condiții de hipoxie de orice etiologie în afecțiunile sistemului nervos, cardiovascular, respirator și altor maladii sistemice cronice [39, 40, 43]. Astfel, bolile sistemice la copii, asociate cu sindromul de hipoxie, creează un risc sporit de instalare a modificărilor patologice în țesuturile organismului în perioadele de creștere a copilului, inclusiv în țesuturile dentare în proces de dezvoltare [45-47].

Este bine documentat faptul că acidoza influențează negativ metabolismul fosfocalcic și procesul de mineralizare a țesutului osos. În tulburările mitocondriale se produce dereglarea metabolismului Ca, cauzată de disfuncția Ca-ATP-azei membrana-re, provocată, la rândul ei, de insuficiența adenozintrifosfatului (ATP) și de compoziția anormală a lipidelor din membrana celulară. Intensitatea proceselor metabolice în țesutul osos este determinată în mare măsură de gradul de mineralizare al acestuia, influențat de numeroase procese fiziologice care se produc în organism (procesul de creștere, absorbția intestinală și excreția renală a substanțelor minerale) și concentrația serică a hormonilor care reglează metabolismul calciului [45].



**Fig. 7.** Concentrația hormonilor și reglatorilor metabolismului mineral în serul sanguin la copii

**Fig. 7.** The concentration of hormones and regulators of mineral metabolism in the blood serum in children

in children with severe psychosomatic illness ( $51.78 \pm 0.499$ ,  $p < 0.001$ ), 1.34 times higher compared to conventionally healthy children ( $38.59 \pm 0.039$ ), which could be caused by vitamin  $D_3$  deficiency. The study of the concentration of PTH in the blood serum showed a statistically significant increase in patients with epilepsy who received phenytoin, barbiturates or combination therapy for several years. The increase in PTH is an indicator of severe disorders of mineral and bone metabolism, secondary hyperparathyroidism being a compensatory reaction of the parathyroid glands following prolonged hypocalcemia on the background of ACVT. Long-term disorder of calcium homeostasis leads to its mobilization from bone deposits, which causes osteopenia syndrome [64 — 67]. We note that in 28% of children treated with anticonvulsant drugs, changes in all studied parameters of phosphocalcic metabolism were detected.

The role of energy metabolism disorders in hereditary and congenital diseases on the background of hypoxia in triggering dental diseases, including DC, has not been sufficiently studied. However, it has been shown that in primary (genetically determined) and acquired mitochondrial deficiencies, under the background of hypoxia, the activity of anaerobic glycolysis increases with the intensification of lactic acid formation [39, 41, 42, 44], including in oral tissues and cells. salivary glands, which can cause a cariogenic situation [45]. Sinha K. și coaut., 2013, Zorov D. coaut., 2014, Ding X. și coaut., 2016, they mentioned that the excessive production of lactic acid takes place in conditions of hypoxia of any etiology in diseases of the nervous system, cardiovascular, respiratory and other chronic systemic diseases [39, 40, 43]. Thus, systemic diseases in children, associated with hypoxia syndrome, create an increased risk of pathological changes in the tissues of the body during the child's growing period, including in the developing dental tissues [45-47].

It is well documented that acidosis negatively affects phosphocalcic metabolism and the process of bone mineralization. In mitochondrial disorders, there is a disorder of Ca metabolism, caused by dysfunction of membrane Ca-ATPase, which in turn is caused by adenosine triphosphate (ATP) deficiency and abnormal lipid composition in the cell membrane. The intensity of metabolic processes in bone tissue is largely determined by the degree of mineralization of it, influenced by many physiological processes that occur in the body (growth process, intestinal absorption and renal excretion of minerals) and serum concentration of hormones that regulate metabolism calcium [45].

Procesul de mineralizare a țesutului osos este influențat de mai mulți factori, inclusiv fosfataza alcalină (FA), care hidrolizează pirofosfații, ATP și fosfonucleotidele. Celulele osoase sunt capabile să acumuleze Ca în prezența ATP-ului sau a altor substraturi care conțin fosfat, să determine formarea hidroxiapatitei, care se cristalizează pe colagenul de tip I și interacționează cu FA [45, 68]. Hormonii, care reglează metabolismul calciului (hormonul parotidian, calcitonina etc.), vitamina D<sub>3</sub> influențează direct și indirect transportarea Ca în celule, inclusiv în cele osoase [50-54, 69, 70]. Gradul de asimilare a calciului în țesutul osos și de încorporare în cele dure dentare este dependent de disponibilitatea Pi, necesari nu doar pentru mineralizarea acestora, dar și pentru funcționarea normală a mitocondriilor [69], iar aportul suficient de Ca și Pi în smalțul dentar previne apariția procesului carios chiar și la etapa de demineralizare a smalțului [70]. Astfel, tulburările timpurii ale procesului de creștere și dereglarea metabolismului fosfocalcic ar putea influența susceptibilitatea la CD. Totodată, deși unii autori au semnalat creșterea gradului de afectare prin CD și a cazurilor de hipomineralizare a smalțului la copiii cu maladiile SNC provocate de hipoxie perinatală [20, 45, 46, 48, 49, 62], rolul tulburărilor metabolismului fosfocalcic și, în special, al proceselor bioenergetice în declanșarea CD nu au fost suficient studiate.

Astfel, la copiii cu maladii ale SNC provocate de hipoxie perinatală sau/și asociate cu cea cronică, factorii nocivi, inclusiv hipoxia în perioadele de dezvoltare prenatală, natală și postnatală, continuă să se manifeste în perioadele ulterioare de dezvoltare. La subiecții cu maladii severe ale SNC provocate sau asociate cu hipoxia tisulară cronică s-a depistat dereglarea echilibrului fosfocalcic care perturbază mineralizarea smalțului dentar și reduce rezistența lui la acțiunea factorilor cariogeni. Rezultatele studiilor noastre sunt în concordanță cu cele ale altor cercetători care afirmă că la copiii cu patologie ereditară și congenitală a SNC, se constată frecvent sindromul de hipoxie cu dereglarea proceselor de oxido-reducere în mitocondrii, principalii „furnizori” de energie în celule. Reducerea funcției mitocondriale duce la intensificarea procesului de glicoliză care, în cazul hipoxiei, este însoțit de o creștere în țesuturi a nivelului acizilor lactic și piruvic, compușilor peroxizici și dereglarea metabolismului Ca [45, 68].

## Concluzii

1. Studiul biochimic a pus în evidență tulburarea cronică a proceselor redox, metabolismului fosfocalcic la nivel de macroorganism (în serul sangvin) și local (în FO) care influențează semnificativ gradul de afectare prin carie dentară a copiilor cu patologie severă a SNC confirmate prin:

- majorarea nivelului lactatului și activității LDH, care depășesc de 1,3-1,91 și, respectiv, de 1,35 ori valorile maxime ale normei, cele mai ridicate valori ale indicilor glicolizei anaerobe în serul sang-

The process of bone mineralization is influenced by several factors, including alkaline phosphatase (AF), which hydrolyzes pyrophosphates, ATP and phosphonucleotides. Bone cells are able to accumulate Ca in the presence of ATP or other phosphate-containing substrates, causing the formation of hydroxyapatite, which crystallizes on type I collagen and interacts with FA [45, 68]. Hormones, which regulate calcium metabolism (parotid hormone, calcitonin, etc.), vitamin D<sub>3</sub> directly and indirectly influence the transport of Ca in cells, including bone [50-54, 69, 70]. The degree of calcium assimilation in bone tissue and incorporation into hard dental teeth is dependent on the availability of Pi, necessary not only for their mineralization but also for the normal functioning of mitochondria [69], and the sufficient intake of Ca and Pi in tooth enamel prevents the appearance of the caries process even at the stage of demineralization of the enamel [70]. Thus, early growth disturbances and disruption of phosphocalcic metabolism could influence susceptibility to DC. At the same time, although some authors have reported an increase in DC damage and cases of hypomineralization of enamel in children with CNS disease caused by perinatal hypoxia [20, 45, 46, 48, 49, 62], the role of phosphocalcic metabolism disorders and, in particular, the bioenergetic processes in triggering DC have not been sufficiently studied.

Thus, in children with CNS diseases caused by perinatal hypoxia and/or associated with chronic hypoxia, harmful factors, including hypoxia in the prenatal, natal and postnatal developmental periods, continue to manifest in subsequent periods of development. In subjects with severe CNS disease caused or associated with chronic tissue hypoxia, a disorder of the phosphocalcic balance has been detected which disturbs the mineralization of tooth enamel and reduces its resistance to the action of cariogenic factors. The results of our studies are consistent with those of other researchers who state that in children with hereditary and congenital CNS pathology, hypoxia syndrome is frequently found with impaired redox processes in mitochondria, the main „providers” of energy in cells. The reduction of mitochondrial function leads to the intensification of the glycolysis process which, in the case of hypoxia, is accompanied by an increase in tissue levels of lactic and pyruvic acids, peroxic compounds and disorders of Ca metabolism [45, 68].

## Conclusions:

1. The biochemical study revealed the chronic disorder of redox processes, phosphocalcic metabolism at the level of macroorganism (in blood serum) and local (in OF) which significantly influences the degree of dental caries of children with severe CNS pathology confirmed by:

- increase in lactate levels and LDH activity, which exceed 1.3-1.91 and 1.35 times the maximum values of the norm, respectively, the highest val-



vin fiind semnalate la copiii după administrarea TACV;

- activitatea redusă a FATL în serul sangvin ( $16,91 \pm 0,087$  U/L,  $t=55,416$ ,  $p<0,001$ ) și în FO ( $4,16 \pm 0,075$  U/L,  $t=12,869$ ,  $p<0,001$ ), precum și creșterea statistic semnificativă a activității FATR în serul sangvin ( $1,87 \pm 0,023$  U/L,  $t=23,502$ ,  $p<0,001$ ) și în FO ( $2,86 \pm 0,018$  U/L,  $t=32,245$ ,  $p<0,001$ );
- scăderea statistic semnificativă, sub limitele normei, a nivelului Ca ( $2,12 \pm 0,009$  mmol/l,  $t=16,466$ ,  $p<0,001$ ), Pi ( $1,35 \pm 0,002$  mmol/l,  $t=5,934$ ,  $p<0,001$ ), Mg ( $0,69 \pm 0,004$  mmol/l,  $t=10,59$ ,  $p<0,001$ ) și vitaminei D<sub>3</sub> ( $37,07 \pm 0,831$  ng/ml,  $t=15,29$ ,  $p<0,001$ ) în serul sangvin precum și reducerea semnificativă a raportului Ca/Pi ( $1:1,26 \pm 0,009$ ,  $p<0,001$ ) în FO.

2. Depistarea la copiii cu maladiile SNC provocate de hipoxie perinatală a unor factori importanți de risc carios și indicatori ai evoluției agresive a CD precum creșterea concentrației produselor glicolizei anaerobe și dereglarea metabolismului fosfocalcic asociate cu intensificarea activității cariogene a biofilmului dentar și scăderea proprietăților de protecție a fluidului oral, impune aprofundarea studiilor interdisciplinare și abordarea complexă în planificarea măsurilor cariopreventive, elaborate de echipe polivalente de medici specialiști în conformitate cu indicațiile individuale, care în cadrul îngrijirilor preventive complexe și personalizate, pe lângă metodele cariopreventive locale, să includă administrarea tratamentului antioxidant, imunomodulator și medicației pentru echilibrarea metabolismului osos și fosfocalcic.

ues of anaerobic glycolysis indices in blood serum being reported in children after ACVT;

- reduced TLAP activity in blood serum ( $16,91 \pm 0,087$  U/L,  $t=55,416$ ,  $p<0,001$ ) and in FO ( $4,16 \pm 0,075$  U/L,  $t=12,869$ ,  $p<0,001$ ), and statistically significant increase in TRAP activity in blood serum ( $1,87 \pm 0,023$  U/L,  $t=23,502$ ,  $p<0,001$ ) and in FO ( $2,86 \pm 0,018$  U/L,  $t=32,245$ ,  $p<0,001$ );
- statistically significant decrease, below the norm, of the level of Ca ( $2,12 \pm 0,009$  mmol/l,  $t=16,466$ ,  $p<0,001$ ), Pi ( $1,35 \pm 0,002$  mmol/l,  $t=5,934$ ,  $p<0,001$ ), Mg ( $0,69 \pm 0,004$  mmol/l,  $t=10,59$ ,  $p<0,001$ ) and vitamin D<sub>3</sub> ( $37,07 \pm 0,831$  ng/ml,  $t=15,29$ ,  $p<0,001$ ) in the blood serum as well as the significant reduction of the Ca/Pi ratio ( $1:1,26 \pm 0,009$ ,  $p<0,001$ ) in OF.

2. The detection of children with CNS diseases caused by perinatal hypoxia of important carious risk factors and indicators of aggressive evolution of DC such as increased concentration of anaerobic glycolysis products and phosphocalcic metabolism disorders associated with the intensification of the cariogenic activity of the dental biofilm and the decrease of the protective properties of the oral fluid, requires the deepening of interdisciplinary studies and the complex approach in the planning of cariopreventive measures, developed by multipurpose teams of specialists in accordance with individual indications, which in complex and personalized preventive care, in addition to local cariopreventive methods, include the administration of antioxidant, immunomodulatory treatment and medication to balance bone and phosphocalcic metabolism.

## Bibliografie/Bibliography

1. Petersen P.E., Leous P. The burden of oral disease and risks to oral health at global and regional levels. In: *Medicina Stomatologica*. 2017;1-2:7-13.
2. Oral health surveys: basic methods — 5th edition World Health Organization. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 2013, 125 p.
3. Леус П. А., et al. Европейские индикаторы стоматологического здоровья детей школьного возраста. *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2013;3: 3-9.
4. Леус П., Лупан И., Спиной А., Спиной Ю. Перспективы мониторинга стоматологического здоровья детей школьного возраста с помощью европейских индикаторов. *Bulletin of the Academy of Sciences of Moldova. Medical Sciences*. 2015; 46(1): 429-436.
5. Arantes R., et al. Human ecological and social determinants of dental caries among the Xavante Indigenous people in Central Brazil. *PLoS One*. 2018;13(12):e0208312.
6. Kazemina M, et al. Dental caries in primary and permanent teeth in children's worldwide, 1995 to 2019: a systematic review and meta-analysis. *Head Face Med*. 2020;16(1):22.
7. Munteanu A., Luca R. Caria severă precoce la dinții temporari. *Timișoara*. 2014, 98 p.
8. Avinash J. et al. Assessment of dental caries and periodontal status in institutionalized hearing impaired children in Khordha District of Odisha. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2017; 35(3):203-208.
9. Zhou N., et al. Oral health status of children and adolescents with intellectual disabilities: a systematic review and meta-analysis. *Dev Med Child Neurol*. 2017. doi: 10.1111/dmcn.13486.
10. Diéguez-Pérez M., et al. Oral health in children with physical (Cerebral Palsy) and intellectual (Down Syndrome) disabilities: Systematic review I. *J Clin Exp Dent*. 2016;8(3):e337-43.
11. Diab H.A., Hamadeh G.N., Ayoub F. A survey of Oral Health in Institutionalized Population with Intellectual Disabilities: Comparison with a National Oral Health Survey of the Normal Population. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2017;7(2):141-147. doi:10.4103/jispcd.JISPCD\_65\_17.
12. Shah A. et al. Dental Caries Status of Institutionalized Orphan Children from Jammu and Kashmir, India. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2016;9(4):364-371.
13. Hughes M.J., Gazmararian J.A. The relationship between income and oral health among people with intellectual disabilities: A global perspective. *Spec Care Dentist*. 2015;35:229-235.
14. Oliveira J. et al. Intellectual disability and impact on oral health: A paired study. *Spec Care Dentist*. 2013;33:262-268.
15. Kadam N. et al. Oral Hygiene Status, Periodontal Status, and Periodontal Treatment Needs among Institutionalized Intellectually Disabled Subjects in Kolhapur District, Maharashtra, India. *J Oral Dis*. 2014; Article ID 535316. <https://doi.org/10.1155/2014/535316>
16. Singh A. et al. Assessment of oral health-related quality of life in 9-15 year old children with visual impairment in Uttarakhand, India. In: *Dental Research Journal*. 2017;14(1):43-49.
17. Vinereanu A. și alții. Sănătatea orală la un lot de sportivi Special Olympics din România. În: *Revista Română de Stomatologie*. 2014;10(1):30-33.
18. Волобуев В. Оптимизация стоматологической помощи детям с психоневрологическими расстройствами.

- Дис. канд. мед. наук. Краснодар, 2017, 181 с.
19. Sinha N. et al. Comparison of oral health status between children with cerebral palsy and normal children in India: A case-control study. In: *J Indian Soc Periodontol.* 2015;19:78-82.
  20. Siqueira W. et al. The influence of valproic acid on salivary pH in children with cerebral palsy. In: *Spec Care Dentist.* 2007;27:64-66.
  21. Diab H.A. et al. Oral Health Status of Institutionalized Individuals with Intellectual Disabilities in Lebanon. *Journal of Oral & Maxillofacial Research.* 2017; 8(1):1-10. doi:10.5037/jomr.2017.8104.
  22. Zifeng Liu et al. Impact of Oral Health Behaviors on Dental Caries in Children with Intellectual Disabilities in Guangzhou, China. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2014;11(10):11015-11027.
  23. Dourado M.R. et al. Association between executive/attentional functions and caries in children with cerebral palsy. In: *Res. Dev. Disabil.* 2013;34:2493—2499.
  24. De Jong-Lenters M. et al. The relationship between parenting, family interaction and childhood dental caries: A case-control study. *Soc. Sci. Med.* 2014;116:49-55. [PubMed].
  25. Macho V. et al. Comparative study between dental caries prevalence of Down syndrome children and their siblings. *Spec Care Dentist.* 2013;33:2-7.
  26. Bakry N.S., Alaki S.M. Risk factors associated with caries experience in children and adolescents with intellectual disabilities. *J. Clin. Pediatr. Dent.* 2012;36:319-323.[PubMed].
  27. Al-Maweri S. A., Al-Soneidar W. A., Halboub E. S. Oral lesions and dental status among institutionalized orphans in Yemen: A matched case-control study. *Contemporary Clinical Dentistry.* 2014;5(1):81-84. <http://doi.org/10.4103/0976-237X.128673>
  28. Santos M.T. et al. Assessing salivary osmolality as a caries risk indicator in cerebral palsy children. *Int. J. Paediatr. Dent.* 2014;24:84-89. doi: 10.1111/ipd.12030.
  29. Aggarwal V.P. et al. Impact of sociodemographic attributes and dental caries on quality of life of intellectual disabled children using ECOHIS. *International Journal of Health Sciences.* 2016;10(4): 480-490.
  30. Spinei Aurelia. Starea medico-socială a copiilor cu dizabilități: revistă de literatură. *Medicina stomatologică,* 2016; 4(41):30-42.
  31. da Rosa S.V., et al. Barriers in Access to Dental Services Hindering the Treatment of People with Disabilities: A Systematic Review. *Int J Dent.* 2020;9074618. doi: 10.1155/2020/9074618.
  32. Robertson MD, Schwendicke F, de Araujo MP, Radford JR, Harris JC, McGregor S, Innes NPT. Dental caries experience, care index and restorative index in children with learning disabilities and children without learning disabilities; a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2019;19(1):146. doi: 10.1186/s12903-019-0795-4. PMID: 31307444; PMCID: PMC6632188.
  33. Sagheri D., McLoughlin J., Nunn J. Dental caries experience and barriers to care in young children with disabilities in Ireland. *Quintessence Int.* 2013; 44:159-169.
  34. John J.R. et al. Prevalence of Dental Caries, Oral Hygiene Knowledge, Status, and Practices among Visually Impaired Individuals in Chennai, Tamil Nadu. In: *International Journal of Dentistry.* 2017, 9419648. doi:10.1155/2017/9419648.
  35. Spinei A., Picos A., Romanciu, I., Picos A., Spinei I. Particularities of the chemical composition of dental enamel in children with neuromotor disabilities and gastro-esophageal reflux disease. *HVM Bioflux.* 2014;6(4):214-221.
  36. Спинеи А. Стоматологический статус детей страдающих церебральным параличом. *Вісник стоматології.* 2013;1:199-199.
  37. Spinei A. et al. Characteristics of structural and chemical composition of dental enamel in children with severe neuromotor disabilities. *2013 E-Health and Bioengineering Conference (EHB),* 2013, pp. 1-4, doi: 10.1109/EHB.2013.6707410.
  38. Savanheimo N., Vehkalahti M.M. Five-year follow-up of children receiving comprehensive dental care under general anesthesia. *BMC Oral Health.* 2014;14:154. doi:10.1186/1472-6831-14-154.
  39. Sinha K. et al. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Arch Toxicol.* 2013;87:1157—1180.
  40. Zorov D., Juhaszova M., Sollott S. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev.* 2014;94:909-950.
  41. Il'yasova D., Scarbrough P., Spasojevic I. Urinary Biomarkers of Oxidative Status. *Clin Chim Acta* 2012;413:1446—1453. doi: 10.1016/j.cca.2012.06.012.
  42. Prabhulkar S., Li C-Z. Assessment of oxidative DNA damage and repair at single cellular level via real-time monitoring of 8-OHdG biomarker. *Biosens Bioelectron.* 2010;26:1743—1749.
  43. Ding X. et al. Distinctive sleep problems in children with perinatal moderate or mild hypoxic-ischemia. In: *Neurosci Lett.* 2016, nr. 4 (614), p. 60-64.
  44. Alam M. et al. Neonatal complications in infants born to diabetic mothers. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2006;16(3):212-215.
  45. Яцкевич Е. Механизм развития стоматологической патологии, принципы её профилактики и лечения у детей при врожденных и наследственных заболеваниях с гипоксией. Автореф. дис.д-ра мед. наук. Тверь, 2011, 59 p.
  46. Fitzpatrick L., O'Connell A. First permanent molars with molar incisor hypomineralisation. *J Ir Dent Assoc.* 2007;53(1):32-37.
  47. Borowska-Struginska B. et al. Prenatal and familial factors of caries in first permanent molars in schoolchildren living in urban area of Lodz, Poland. *HOMO — Journal of Comparative Human Biology.* 2016;67(3): 226-234.
  48. Tarannum, Ravichandra KS, Muppa R, Srikanth K, Kantipudi MJ, Ram KC. Molar Incisor Hypomineralization Prevalence in the Schoolchildren of Gannavaram Mandal, Krishna District, Andhra Pradesh, India: A Cross-sectional Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2021;14(6):737-740.
  49. Bandeira Lopes L, Machado V, Botelho J, Haubek D. Molar-incisor hypomineralization: an umbrella review. *Acta Odontol Scand.* 2021;79(5):359-369. doi: 10.1080/00016357.2020.1863461.
  50. Voloh A. Modificările clinico-biologice și genetice în statutul vitaminei D în perioadele pre- și postnatală a copilului. *Autoref. tezei dr. hab. în șt. med. Chișinău.* 2016, 46 p.
  51. Gudumac V. și alții. *Investigații biochimice. Vol. II. Micrometode. Elaborare metodică.* Chișinău, 2010, 97 p.
  52. Tagadiuc O. și alții. *Protocoloale standardizate de cercetare ale metabolismului glucidic în țesutul osos.* Chișinău: Tipogr. Elan Poligraf, 2014, 50 p.
  53. Markeri osoși. 1,25-(OH)<sub>2</sub>-Vitamina D3. Referințele specifice tehnologiei de lucru utilizate. *Laborator Synevo.* 2015. <http://www.synevo.ro/125-oh2-vitamina-d3/>
  54. Michael F. Holick. *Vitamin D Deficiency.* *The New England Journal of Medicine.* 2007;357:266-281.
  55. Ciobanu S. *Tratamentul complex în reabilitarea pacienților cu parodontite marginale cronice.* Teza dr. hab. în medicină. Chișinău, 2012. 211 p.
  56. Spinei A., Spinei I. The antimicrobial activity of photodynamic therapy against Streptococci species in dental biofilm using different photosensitizers: an in vitro study. *2013 E-Health and Bioengineering Conference (EHB),* 2013, pp. 1-4, doi: 10.1109/EHB.2013.6707409.
  57. Bicleșanu C. și alții. *Efecte adverse ale medicamentelor asupra cavității orale.* În: *Revista Română de Stomatologie.* 2008;54(2-3):109-117.
  58. Vinayak V. et al. Adverse affects of drugs on saliva and salivary glands. *2013;5(1):15-20.*
  59. Леонтьев В., Кисельникова Л. *Детская терапевтическая стоматология. Национальное руководство. 2-е изд., перераб. и доп.* Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016, 952 p.
  60. Farhat G. et al. Effect of antiepileptic drugs on bone density in ambulatory patients. In: *Neurology.* 2002;58(9):1348—1353.
  61. Fraser L.A., Burneo J.G., Fraser J.A. Enzyme-inducing antiepileptic drugs and fractures in people with epilepsy: A systematic review. *Epilepsy Res.* 2015;116: 59-66. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2015.07.003.
  62. Котова С.М. и др. Состояние минерального обмена и метаболизма костной ткани у больных с эпилепсией. В: *Матер. IV межд. науч.-практ. конф. «Здоровье и образование в XXI веке».* Москва. 2003, p. 241.
  63. Markeri osoși. 1,25-(OH)<sub>2</sub>-Vitamina

- D3. Referințele specifice tehnologiei de lucru utilizate. Laborator Synevo. 2015. <http://www.synevo.ro/125-oh2-vitamina-d>
64. Cornacchio A.L, Burneo J.G., Aragon C.E. The effects of antiepileptic drugs on oral health. In: J Can Dent Assoc.2011, nr. 77, p. 140.
65. Vera V et al. Greater Calcium Intake is Associated with Better Bone Health Measured by Quantitative Ultrasound of the Phalanges in Pediatric Patients Treated with Anticonvulsant Drugs. In: Nutrients. 2015, nr. 7(12), p. 9908-9917. doi:10.3390/nu7125517.
66. Zhang L.L, Zeng L.N., Li Y.P. Side effects of phenobarbital in epilepsy: a systematic review. In: EpilepticDisord.2011, nr. 3(4), p. 349-365. doi: 10.1684/epd.2011.0444.
67. Заседателева И.Ю. Нарушения костного метаболизма у больных эпилепсией и методы их коррекции. В: Материалы научно-практической конференции „Проблемы укрепления здоровья и профилактика заболеваний”. СПб. 2004:102.
68. Hsu H. H. T., Anderson H. C. Evidence of the presence of a specific ATPase responsible for ATP-initiated calcification by matrix vesicles isolated from cartilage and bone. Biol. Chem. 1996;271: 26383-26388.
69. Richard A., McPherson, Matthew R. Pincus. Biochemical markers of bone metabolism. Henry 'S Clinical Diagnosis and Management By Laboratory Methods. Ed. Saunders. 2007;175-176.
70. Милехина С. Состояние локального иммунитета и фосфорно-кальциевого обмена у детей с кариесом. Автореф. дис. канд. мед. наук. Владивосток, 2012, 22 с.