

DOI: 10.37988/1811-153X_2020_3_4

А.К. Мартусевич^{1,3},
д.б.н., руководитель лаборатории
медицинской биофизики университетской
клиники; профессор кафедры физиологии
и биохимии животных

Л.К. Ковалева²,
к.б.н., ассистент кафедры гистологии
с эмбриологией

Л.М. Козлова¹,
соискатель лаборатории медицинской
биофизики университетской клиники

А.Н. Тужилкин^{1,3},
лаборант-исследователь лаборатории
медицинской биофизики университетской
клиники; студент

А.С. Федотова³,
студент

С.Ю. Краснова¹,
м.н.с. лаборатории медицинской
биофизики университетской клиники

¹ Приволжский исследовательский
медицинский университет, Нижний
Новгород

² КубГМУ

³ Нижегородская государственная
сельскохозяйственная академия

Изучение дегидратационной структуризации ротовой жидкости человека на твердой подложке

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Мартусевич А.К., Ковалева Л.К., Козлова Л.М., Тужилкин А.Н., Федотова А.С., Краснова С.Ю. Изучение дегидратационной структуризации ротовой жидкости человека на твердой подложке. — *Клиническая стоматология*. — 2020; 3 (95): 4–9.
DOI: 10.37988/1811-153X_2020_3_4

Реферат. Цель работы — уточнение возможностей биофизических методов в оценке характеристик дегидратационной структуризации ротовой жидкости (слюны) человека. **Материалы и методы.** Ротовую жидкость получали у 95 практически здоровых взрослых (возраст 24–27 лет). Изучали особенности собственной и инициированной различными соединениями (0,1%; 0,9% и 10% растворами хлорида натрия, 0,1 н раствором соляной кислоты и 0,01 н раствором гидроксида калия) структуризации слюны при дегидратации на твердой подложке (стекле) с применением специальной системы морфометрических параметров и спектрометрии. Для спектрометрии образцов использовали длины волн 300, 350 и 400 нм. Оценивали влияние pH и осмолярности, а также температурного фактора биологической жидкости на результат структуризации. **Результаты.** Установлены тезиокристаллоскопические и спектрометрические паттерны дегидратации образцов ротовой жидкости здоровых людей по новой системе оценочных критериев. Показано, что дегидратационная структуризация слюны — динамический процесс удаления жидкой части биосреды, детерминированный ее составом. При этом на особенности структуризации слюны оказывают существенное влияние факторы макро- и микроокружения, в том числе pH и осмолярность среды, температурный режим.

Ключевые слова: слюна, структуризация, дегидратация, биокристалломика

А.К. Martusevich^{1,3},
Grand PhD in Biology, head of the Medical
biophysics laboratory at the University
hospital

Л.К. Kovaleva²,
PhD in Biology, assistant professor of the
Histology and embryology department

Л.М. Kozlova¹,
PhD candidate of the Medical biophysics
laboratory at the University hospital

А.Н. Tuzhilkin^{1,3},
research lab technician of the Medical
biophysics laboratory at the University
hospital; student

А.С. Fedotova³,
student

С.Ю. Krasnova¹,
junior researcher of the Medical biophysics
laboratory at the University hospital

¹ Privolzhsky Research Medical University,
Nizhny Novgorod, Russia

Estimation of human saliva structurization at dehydration on the solid substrate

FOR CITATION:

Martusevich A.K., Kovaleva L.K., Kozlova L.M., Tuzhilkin A.N., Fedotova A.S., Krasnova S.Yu. Estimation of human saliva structurization at dehydration on the solid substrate. — *Clinical Dentistry (Russia)*. — 2020; 3 (95): 4–9.
DOI: 10.37988/1811-153X_2020_3_4

Abstract. The aim of this work is specification of biophysical technologies in estimation of human saliva dehydration structurization. **Materials and methods.** We study saliva specimens by 95 healthy 24–27 years old adults. Specialties of own and initiated (by 0.1%, 0.9% and 10% solutions of sodium chloride; 0.1 N hydrochloric acid solution; 0.01 N potassium hydroxide solution) saliva structurization at dehydration on hard padding were estimated with system of morphometric parameters and spectrometry investigation. The range of estimated parameters of crystallography included: crystallizability, structure index, type of interaction of crystalline and amorphous structures, facies destruction degree, uniformity of crystal distribution, expression of cellular structure, edge zone and other facies zones. To describe teziographic facies we used: main teziographic coefficient, belts coefficient crystallinity, and the rest parameters are the same ones for crystalloscopy. We used 3 wave lengths (300, 350 and 400 nm) for spectrometry of dehydrated specimens. Role of saliva temperature, pH and osmolarity in biological fluid structurization was fixed. **Results.** Teziocrystalloscopic and spectrometric patterns of dehydration of samples of oral fluid of healthy humans was established according to a new system of evaluation criteria. It was stated, that saliva dehydration is dynamic process of its liquid component elimination, determined by its composition.

² Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

³ Nizhny Novgorod State Agricultural Academy, Nizhny Novgorod, Russia

Micro- and macro-environment factors (temperature, pH, and osmolarity) affect on saliva dehydration results considerably.

Key words: saliva, structurization, dehydration, biocrystallomics

ВВЕДЕНИЕ

Саливадиагностика — сравнительно новая область медицинской науки, базирующаяся на информативности использования ротовой жидкости в целях оценки состояния организма в целом и/или его отдельных органов и систем [1, 2]. Многими исследователями показано, что изучение содержания компонентов данной биосреды (гормонов, ферментов, метаболитов, ионов и т.д.), а также широкого спектра ее физико-химических свойств имеет большое теоретическое и практическое значение для различных направлений медицины (гастроэнтерологии, гепатологии, эндокринологии, неврологии, медицинской энзимологии и т.д.) [1–4].

В последнее время возрастает интерес научной общественности к ротовой жидкости как материалу для исследования его способности к специфической дегидратационной структуризации [1, 5–7]. В последние десятилетия ее изучение рассматривается в качестве интегрального теста, дающего обобщенную информацию о составе и свойствах данной биожидкости, а следовательно, о состоянии организма пациента [5–9]. В частности, показана высокая информативность изучения микрокристаллизации слюны в стоматологии [2, 8, 10, 11]. Наибольшее число работ, выполненных в данном направлении, касаются диагностики и лечения пациентов с кариесом [12, 13], в том числе мониторинга эффективности технологий коррекции [14]. Кроме того, с помощью технологий микрокристаллизации изучены особенности физико-химических свойств искусственной слюны [15].

С физико-химических позиций данный комплекс методов представляет собой исследование особенностей структурообразования сложного многокомпонентного раствора биологического происхождения при дегидратации на твердой подложке (чаще на предметном стекле или на кварце) [16, 17]. Важно, что имеющийся методический аппарат позволяет оценивать не только результат структуризации (фацию) [5–8], но и динамику данного процесса [9, 16]. Следует подчеркнуть, что подобному анализу сейчас подвергаются различные биологические среды (сыворотка и плазма крови, моча, желчь и др.) [8, 9]. Однако необходимо заметить, что большинство посвященных этому направлению работ базируются только на качественном анализе и визуальном сравнении высушенных образцов [6–8], тогда как количественные критерии оценки результатов дегидратации биологической жидкости, в том числе применение компьютерной обработки изображений фаций, и способы физико-химической верификации (в частности с применением рентгеноструктурного анализа

образцов) получаемых результатов используются лишь небольшим числом исследователей [5, 9].

Поэтому цель данной работы — уточнение возможностей биофизических методов в оценке характеристик дегидратационной структуризации ротовой жидкости (слюны) человека.

В задачи исследования входило:

- Оценить применимость визуметрического и спектрометрического анализа для изучения физико-химических свойств ротовой жидкости.
- Сформировать нормативы параметров кристаллоскопии и спектроскопии фаций ротовой жидкости у здоровых людей.
- Исследовать модуляцию кристаллизации ротовой жидкости в условиях изменения рН и осмолярности среды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получали ротовую жидкость (РЖ) у 95 практически здоровых взрослых людей 24–27 лет без стоматологической патологии. Забор РЖ проводили в утренние часы (9–10 ч утра) в хорошо освещенном помещении. В течение 3 ч перед исследованием испытуемые не выполняли значительных физических нагрузок и не находились в состоянии психоэмоционального напряжения. Перед сбором биосреды обследуемые в течение 5 мин тщательно прополаскивали рот бидистиллированной водой в количестве 100 мл. Затем собирали 1 мл РЖ сплевыванием в чистые сухие пробирки [18].

Далее приготавливали микропрепараты по методу тезиокристаллоскопии, сочетающему исследование особенностей собственной дегидратационной структуризации РЖ (кристаллоскопия) и ее инициирующих свойств по отношению к одному базисному веществу (тезиграфия) [9, 19]. В качестве последнего в данной работе применялся 0,9% раствор хлорида натрия.

Также проводили оценку влияния различных факторов на характер структуризации слюны при ее высыхании, для чего применяли метод дифференциальной тезиграфии с использованием 5 базисных веществ (0,1%, 0,9% и 10% растворов хлорида натрия; 0,1 н раствора соляной кислоты и 0,01 н раствора гидроксида калия) [9, 19].

В спектр изученных параметров вошли:

- температура, в которой осуществлялась дегидратация;
- осмотичность среды — гипо-, изо- и гиперосмоляльность;
- рН биосистемы (с предварительной рН-метрией биологической жидкости);

Оценку результатов собственной и инициированной структуризации РЖ теста осуществляли критериально, с использованием специализированной системы параметров [9, 19]. Она позволяет оценить способность биологической жидкости к структуризации (инициаторный потенциал — в отношении тизиграфии) биосубстрата, выраженность отдельных зон фации, степень деструкции структурных элементов, равномерность их распределения по текстуре образца и др. В спектр оценочных показателей кристаллоскопии входили:

- кристаллизуемость — плотность кристаллических элементов в микропрепарате;
- индекс структурности — параметр, характеризующий сложность формирующихся структур — от аморфных тел до высоковетвленных дендритов;
- тип взаимодействия кристаллических и аморфных структур;
- степень деструкции фации, указывающая на уровень разрушения элементов микропрепарата;
- равномерность распределения кристаллов;
- выраженность ячеистости, краевой зоны и других зон фации.

Таблица 1. Критериальная характеристика собственной структуризации ротовой жидкости практически здоровых взрослых людей

Параметр	Значение
Индекс структурности	2,31±0,24
Кристаллизуемость	2,16±0,18
Тип взаимодействия кристаллических и аморфных структур	Налипание
Степень деструкции фации	0,39±0,16
Равномерность распределения	4,05±0,36
Выраженность ячеистости	1,27±0,14
Выраженность краевой зоны	2,17±0,31
Четкость отдельных зон фации	1,78±0,24
Отчетливость текстуры образца	2,17±0,18

Таблица 2. Тизиграфический паттерн ротовой жидкости практически здоровых взрослых людей

Параметр	Значение
Основной тизиграфический коэффициент	1,87±0,21
Коэффициент поясности	2,24±0,28
Кристалличность	2,16±0,30
Степень деструкции фации	0,64±0,19
Равномерность распределения элементов в препарате	3,96±0,41
Выраженность ячеистости	1,58±0,24
Выраженность краевой зоны	2,20±0,25
Четкость отдельных зон фации	1,86±0,21
Отчетливость текстуры образца	2,09±0,17

Примечание: базисное вещество — 0,9% раствор хлорида натрия.

Для описания тизиграфических фаций использовали основной тизиграфический коэффициент (соотношение кристаллических элементов в образце-сокристаллизате РЖ и базисного вещества к фации только базисного вещества), коэффициент поясности (соотношение наибольшего и наименьшего поясов кристаллизации), кристалличность (аналогична кристаллизуемости), остальные параметры аналогичны применяемым для кристаллоскопии.

Данные визуальной морфометрии микропрепаратов высушенной РЖ дополнялись спектрометрическим исследованием фаций, выполняемым на микроспектрофотометре PowerWave XS (США) при длинах волн 300, 350 и 400 нм [9]. Для нивелирования влияния характеристик стекла на результаты спектрометрического исследования высушенных образцов РЖ введена поправка на оптическую плотность самого материала (для собственной структуризации биологической жидкости) или контрольного образца базисного вещества, нанесенного на то же стекло (для тизиграфического теста).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ массива данных, полученных при визуальной морфометрии фаций, а также их спектрометрического исследования позволил установить количественные тизокристаллоскопические паттерны дегидратации образцов РЖ по новой системе оценочных критериев.

В соответствии с этим алгоритмом последовательно изучали характеристики собственной структуризации высушенного микропрепарата биосреды (табл. 1). Так, основным параметром, указывающим на количественную составляющую процесса, является кристаллизуемость, трактуемая нами как средняя плотность структурных образований в расчете на одно поле зрения. В норме уровень рассматриваемого показателя обнаруживается на высоком уровне, так как РЖ является биосубстратом с высокой активностью структурообразования [4, 5–8].

Интегральным отображением качественных особенностей собственного структурообразования РЖ, с наших позиций, является степень деструкции фации [12]. Отражая органоминеральный баланс биосреды, он обратно пропорционален степени нормализации последнего, в связи с чем у практически здоровых взрослых добровольцев уровень данного параметра выявлен на низких цифрах, приближающихся к нулю. Остальные оценочные показатели уточняют характеристику структурообразования РЖ при ее дегидратации. Среди них важно выделить критерий «выраженность краевой зоны», связанный с содержанием белка в изучаемой биосреде [8, 9].

Изучение инициирующего потенциала РЖ практически здоровых людей позволило установить его умеренную выраженность по количественному параметру — основному тизиграфическому коэффициенту (табл. 2). На это указывает повышенная в 1,87 раза ($p < 0,01$) плотность структур в образце, представляющем собой смесь

1:1 РЖ и базисного вещества по сравнению с контрольным образцом базисного соединения. Баланс «органические / минеральные вещества» в биосубстрате практически здоровых лиц был умеренно смещен в сторону компонентов органического строения, на что указывает значение коэффициента поясности, рассчитываемого как отношение диаметров максимального и минимального поясов кристаллизации [9, 19]. В пользу оптимальности рассматриваемого баланса также свидетельствует достаточно низкая степень деструкции фаций слюны у обследуемых взрослых людей.

Второй этап анализа кристаллоскопических и тизиграфических фаций — их спектрометрическое исследование (табл. 3). При изучении оптической плотности образцов на длинах волн 300 и 350 нм обнаружены статистически значимые различия для фаций РЖ, полученных при собственной и инициированной структуризации биологической жидкости ($p < 0,05$). Исследование уровня оптической плотности препаратов в близком к видимому диапазону спектра (400 нм) позволило обнаружить его приближение к нулю в отношении как собственной, так и инициированной структуризации слюны и нивелирование различий между ними ($p > 0,05$).

В целом, полученные на достаточном материале количественные сведения о собственной кристаллогенной и иницирующей способности РЖ у практически здоровых взрослых людей можно использовать как референтные интервалы для широкого круга задач саливадиагностики [1, 5].

В целях изучения влияния различных факторов на результат структурообразования высушиваемого образца биологического субстрата проведено исследование осмотичности и рН среды на примере фаций, приготовленных по методике дифференциальной тизиграфии с применением 5 базисных веществ: 0,1%; 0,9% и 10% растворов хлорида натрия, 0,1 н раствора соляной кислоты и 0,01 н раствора гидроксида калия [19]. В качестве наиболее значимо оцениваемых показателей микропрепарата были взяты основной тизиграфический коэффициент Q, отражающий инициаторный потенциал биоматериала, и коэффициент поясности P, указывающий на гетерогенность состава жидкости.

С помощью многофакторного дисперсионного анализа установлено, что оба рассматриваемых фактора: осмотичность и рН, — оказывают влияние на изучаемые параметры тизиграфии. Для основного тизиграфического коэффициента и коэффициента поясности уровень достоверности по сочетанию факторов

Таблица 3. Оптическая плотность высушенных образцов ротовой жидкости практически здоровых взрослых

Длина волны, нм	Кристаллоскопическая фация	Тизиграфическая фация
300	0,595±0,102	0,381±0,054*
350	0,084±0,014	0,117±0,012*
400	0,049±0,011	0,048±0,009

Примечание. Базисное вещество в тизиграфическом тесте — 0,9% раствор хлорида натрия; * — статистическая значимость различий оптической плотности фаций $p < 0,05$.

составил $p = 0,023$ и $p = 0,048$ соответственно. Параллельно был проведен морфометрический анализ тизиграфических фаций с расчетом вышеописанных показателей (табл. 4 и 5). Эти сведения дополняют и подтверждают результаты дисперсионного анализа. Так, нарастание осмоляльности биосреды сопровождается повышением инициаторной способности биосубстрата (по основному тизиграфическому коэффициенту) и равномерности распределения элементов фации. Минимальный уровень фрагментированности образца по выраженности ячеистости отмечается только при оптимальной осмоляльности среды, тогда как любые сдвиги этого показателя усиливают нарушения целостности фации, что визуализируется по уровню изучаемого параметра ($p < 0,05$).

Таблица 4. Влияние осмоляльности среды на дегидратационную структуризацию слюны практически здорового человека

Параметр	Осмотичность среды		
	гипотонический раствор	изотонический раствор	гипертонический раствор
Основной тизиграфический коэффициент	1,72±0,21*	2,12±0,23	2,67±0,24*
Коэффициент поясности	1,80±0,12	1,86±0,20	1,92±0,19
Равномерность распределения элементов фации	1,76±0,16*	2,50±0,18	2,81±0,24*
Выраженность ячеистости	2,47±0,22*	1,75±0,16	2,55±0,21*
Степень деструкции фации	2,28±0,19	2,09±0,17	1,34±0,11*
Выраженность краевой зоны	2,09±0,20	2,06±0,18	2,13±0,23

* — различия статистически достоверны ($p < 0,05$) в сравнении с изотоническим раствором.

Таблица 5. Уровень тизиграфических показателей слюны практически здоровых лиц в зависимости от рН среды

Параметр	Кислая (рН=3,2—3,6)	Нейтральная (рН=6,9—7,2)	Щелочная (рН=8,4—8,8)
Основной тизиграфический коэффициент	1,73±0,16*	2,22±0,24	3,15±0,28*
Коэффициент поясности	1,84±0,19	1,86±0,17	2,26±0,20*
Равномерность распределения элементов фации	1,94±0,15*	2,50±0,19	3,09±0,22*
Выраженность ячеистости	2,19±0,14	2,31±0,16	2,44±0,21
Степень деструкции фации	1,84±0,16	1,91±0,20	1,78±0,15
Выраженность краевой зоны	1,44±0,13*	2,06±0,18	1,22±0,10*

* — различия статистически достоверны ($p < 0,05$) в сравнении с изотоническим раствором.

Эти тенденции находят подтверждение и в отношении действия кислотности среды. В частности, повышение рН обуславливает достоверный рост ($p < 0,05$) инициаторного потенциала слюны и равномерности распределения структур. В связи с тем, что рН оказывает влияние на состояние белкового компонента слюны, отклонение от нейтрального уровня вызывает сокращение диаметра краевой зоны ($p < 0,05$).

Кроме того, мы исследовали вариации тизиграфической фазы с учетом температурного режима кристаллизации. Обнаружено, что достоверные различия ($p < 0,01$) имеют место только между образцами, высушенными нагреванием (до 60–65°C) и охлаждением (до 0–4°C), тогда как между дегидратацией при обычных условиях (20–25°C) и в потоке теплого (40–45°C) воздуха достоверных различий не найдено.

На основании вышеприведенных данных можно заключить, что имеют место существенные вариации проявления инициаторной способности слюны практически здоровых людей в зависимости от микроокружения формирующихся дегидратационных структур. Этот факт дает возможность провести мультипараметрический анализ инициаторного потенциала биожидкости путем использования в качестве базисного вещества для

тезиграфического теста нескольких соединений, моделирующих различное микроокружение для биосреды.

ВЫВОДЫ

1. Дегидратационная структуризация слюны — динамический процесс удаления жидкой части биосреды, детерминированный ее составом и особенностями микро- и макроокружения для формирующихся органо-минеральных агрегатов.
2. Оценка дегидратационной структуризации ротовой жидкости в целях медицинской диагностики может быть проведена с применением визуальной морфометрии и спектрометрии высушенных образцов данной биологической среды.
3. На особенности структуризации слюны оказывают существенное влияние факторы макро- и микроокружения, в том числе рН, осмоляльность среды и температурный режим.
4. Количественное изучение характеристик структурообразования слюны при высыхании на твердой подложке (предметном стекле) имеет широкие исследовательские и клинико-диагностические перспективы в дисциплинах медико-биологического профиля.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

.....

1. **Коротко Г.Ф.** Секретция слюнных желез и элементы саливадиагностики. — М.: Академия Естествознания, 2006. — С. 4—10.

[*Korotko G.F.* Secretion of salivary glands and salivadiagnostics elements. — Moscow: Academy of Natural History, 2006. — P. 4—10 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 19426524

2. **Барер Г.М., Денисов А.Б.** Кристаллографический метод изучения слюны. — М.: ВУНМЦ Росздрава, 2008. — С. 15—26. [*Barer G.M., Denisov A.B.* Crystallographic method of saliva study. — Moscow, 2008. — P. 15—26 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 19497515

3. **Артишевский А.А., Гаифуллина В., Мальковец О.Г.** Кристаллизация агрегатов слюны в разные фазы овариально-менструального цикла. — *Современная стоматология (Беларусь)*. — 2006; 4: 74—7

[*Artishevsky A.A., Gaifullina V., Malkovets O.G.* Crystallization of saliva aggregates in different phases of ovarian menstrual cycle. — *Sovremennaya stomatologiya (Belarus)*. — 2006; 4: 74—7 (In Russ.).]

4. **Гаврилова О.А.** Количественная характеристика физико-химических свойств ротовой жидкости у дошкольников. — *Стоматология*. — 2004; 2: 54—6

[*Gavrilova O.A.* Quantitative characteristics of physical and chemical properties of oral fluid in preschool children. — *Stomatology*. — 2004; 83 (2): 54—6 (In Russ.).]

5. **Denisov A.B., Pushkar' D.Y., Denisov S.A.** Use of saliva crystallogenic properties for early diagnostics of prostate cancer. — *Bull Exp Biol Med*. — 2006; 142 (2): 242—5. PMID: 17369950

6. **Антропова И.П., Габинский Я.Л.** Кристаллизация биожидкости в закрытой ячейке на примере слюны. — *Клиническая лабораторная диагностика*. — 1997; 8: 36—8

[*Антропова И.П., Gabinsky Ya.L.* Crystallization of biological fluid in close cell on saliva example. — *Russian Clinical Laboratory Diagnostics Journal*. — 1997; 8: 36—8 (In Russ.).]

7. **Шабалин В.Н., Разумова С.Н., Уварова Д.С.** Возрастная динамика содержания химических элементов в ротовой жидкости. — *Российский стоматологический журнал*. — 2014; 2: 41—3.

[*Shabalin V.N., Rasumova S.N., Uvarova D.S.* Age dynamics of oral liquid chemical elements composition. — *Russian stomatology journal*. — 2014; 2: 41—3 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 21581429

8. **Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.** Морфология биологических жидкостей человека. — М.: Хризостом, 2001. — С. 58—120.

[*Shabalin V.N., Shatokhina S.N.* Morphology of human biological fluids. — Moscow: Chryzostom, 2001. — P. 58—120 (In Russ.).]

9. **Воробьев А.В., Мартусевич А.К., Перetyagin С.П.** Кристаллогенез биологических жидкостей и субстратов в оценке состояния организма. — Нижний Новгород: НИИТО Росмедтехнологий, 2008. — С. 4—17

[*Vorobyov A.V., Martusevich A.K., Peretyagin S.P.* Crystallogenesis of biological fluids and substrates in the assessment of the state of the body. — Nizhny Novgorod, 2008. — P. 4—17 (In Russ.).]

10. **Денисов А.Б.** Микрокристаллизация слюны: новые методические подходы. — *Стоматология*. — 2007; 86 (5): 20—3

[*Denisov A.B.* Saliva microcrystallization: new methodical approaches. — *Stomatology*. — 2007; 86 (5): 20—3 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 9916189

11. **Иорданишвили А.К.** Ротовая жидкость взрослого человека: возрастные особенности физико-химических свойств и микрокристаллизации. — *Успехи геронтологии*. — 2019; 32 (3): 477—82

[*Jordanishvili A.K.* Oral liquid adult: age peculiarities of the physicochemical properties and micro crystallization. — *Adv Gerontol*. — 2019; 32 (3): 477—82 (In Russ.).] eLIBRARY ID: 38782041

12. **Рединова Т.Л.** Микрокристаллизация слюны у детей с учетом употребления углеводов и проведения мероприятий по профилактике кариеса. — *Стоматология*. — 1989; 68 (4): 62—3

[Redinova T.L. Microcrystallization of the saliva in children following carbohydrate intake and the performance of caries prophylactic measures. — *Stomatologija (Mosk)*. — 1989; 68 (4): 62—3 (In Russ.).]

13. Pancu G., Lăcătușu S., Căruntu I.D., Iovan G., Ghiorghie A. [Evaluation of caries activity using the micro-crystallization saliva index (IMK)]. — *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. — 2006; 110 (1): 206—11 (In Romanian). PMID: 19292107

14. Kovalenko V.V., Tkachenko I.M., Nazarenko Z.Y., Brailko N.M., Romanova J.G., Sheshukova O.V., Vodorig Y.V. The study of oral fluid dynamic parameters on the background of pathological and physiological dental abrasion. — *Wiad Lek*. — 2019; 72 (7): 1315—9. PMID: 31398162

15. Iijima M., Hashimoto M., Kohda N., Nakagaki S., Murguruma T., Endo K., Mizoguchi I. Crystal growth on bioactive glass sputter-coated alumina in artificial saliva. — *Dent Mater J*. — 2013; 32 (5): 775—80. PMID: 24088833

16. Дерябина Н.И., Залеский М.Г. Содержание белковых компонентов в капле сыворотки крови при ее высыхании. — *Вестник новых медицинских технологий*. — 2005; 12 (1): 85—7

[Deryabina N.I., Zalessky M.G. the Content of protein components in a drop of blood serum when it dries. — *Journal of new medical technologies*. — 2005; 12 (1): 85—7 (In Russ.).]

17. Яхно Т.А., Яхно В.Г., Санин А.Г., Санина О.А., Пелюшенко А.С. Белок и соль: пространственно-временные события в высыхающей капле. — *Журнал технической физики*. — 2004; 74 (8): 100—8

[Yakhno T.A., Yakhno V.G., Sanin A.G., Sanina O.A., Pelyushenko A.S. Protein and salt: spatiotemporal dynamics of events in a drying drop. — *Technical Physics. The Russian Journal of Applied Physics*. — 2004; 74 (8): 100—8 (In Russ.).]

eLIBRARY ID: 20336685

18. Колодкина Е.В., Камакин Н.Ф. Методика определения протеолитической активности биологических субстратов при различных значениях pH. — *Клиническая лабораторная диагностика*. — 2008; (7): 16—8

[Kolodkina E.V., Kamakin N.F. A procedure for determining the proteolytic activity of biological substrates at various pH values. — *Klin Lab Diagn*. — 2008; (7): 16—7 (In Russ.).]

eLIBRARY ID: 11571222

19. Martusevich A.K., Kamakin N.F. Crystallography of biological fluid as a method for evaluating its physicochemical characteristics. — *Bull Exp Biol Med*. — 2007; 143 (3): 385—8.

PMID: 18225770