

© КОРЕНЕВСКАЯ Н.А., 2016

## БИОСОВМЕСТИМОСТЬ КОМПОЗИЦИОННЫХ ПЛОМБИРОВОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

КОРЕНЕВСКАЯ Н.А.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г.Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2016. – Том 15, №3. – С. 7-17.

## BIOCOMPATIBILITY OF COMPOSITE FILLING MATERIALS

KORENEVSKAYA N.A.

Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University», Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2016;15(3):7-17.

---

### Резюме.

Композиционные пломбировочные материалы широко применяются в современной стоматологической практике. Полимеризация композита после постановки и отверждения пломбы является неполной: процент связывания мономеров для большинства материалов составляет от 55 до 75%. Непрореагировавшие мономеры и другие вещества, выделяемые из композиционных пломбировочных материалов в присутствии ротовой жидкости, могут оказывать негативное воздействие на организм человека. Многочисленные исследования сообщают о возможном цито-, гено-, эмбриотоксическом и мутагенном действии композитов, их способности оказывать эстрогеноподобный эффект, вызывать аллергические реакции у пациентов и персонала стоматологических клиник. Кроме того, установлено негативное влияние указанных материалов на пульпу зуба, а также их способность активизировать рост и развитие кариесогенной микрофлоры. Степень отрицательного воздействия композитов на организм зависит от химической структуры последних, их консистенции, а также соблюдения правил изготовления реставрации.

*Ключевые слова:* композиционные пломбировочные материалы, биосовместимость, токсичность.

### Abstract.

Composite filling materials are widely used in the modern dental practice. Polymerization of composite fillings after their setting and curing is incomplete: the monomers binding percentage for the majority of materials ranges from 55 to 75%. Nonreacted monomers and other substances released from composite filling materials in the presence of oral fluid may exert negative influence on the human body. Numerous studies report about a possible cyto-, geno-, embryotoxic and mutagenic activity of composites, their ability to produce an estrogen-like effect, to cause allergic reactions in patients and dental clinics staff. Besides that, some authors noticed a negative effect of these materials on the tooth pulp, as well as their ability to enhance the cariogenic microorganisms growth and development. The negative influence degree of composites on the body depends on the chemical structure of the latter, their consistency, and compliance with the rules of the restoration making.

*Key words:* composite filling materials, biocompatibility, toxicity.

---

Композиционные пломбировочные материалы широко применяются в современной стоматологической практике. Впервые они были использованы для лечения зубов более 50 лет назад и за довольно короткое время практически полностью вытеснили пломбы

из минеральных цемента и ненаполненных пластмасс. Это обусловлено многочисленными положительными свойствами современных композитов: довольно высокой прочностью, хорошей адгезией к твердым тканям зуба, эстетичностью, удобством в работе и т.д.

Основными структурными компонентами композитов являются органическая полимерная матрица, представленная метакрилатами (Bis-GMA, UDMA, TEGMA, HEMA и др.), неорганический наполнитель (плавленый и кристаллический кварц, алюмосиликатное и борсиликатное стекло, алмазная пыль и др.) и силаны, связывающие предыдущие два компонента. В состав композиционных материалов входят также различные добавки – инициаторы и ингибиторы, стабилизаторы и т.д. Полимеризация композита после постановки и отверждения пломбы является неполной. Для большинства материалов процент связывания мономеров в органической матрице после фотоотверждения составляет от 55 до 75% и может увеличиваться до 80% при проведении полимеризации в лабораторных условиях [1]. Так, показано, что отверждение пломб на основе Bis-GMA во время облучения фотополимеризационной лампой происходит на 65-75%, а через 24 часа дополнительно еще на 20-30% [2]. В присутствии кислорода реакция соединения метакрилатов нарушается. Установлено, что на поверхности пломбы, в слое, ингибированном кислородом, полимеризация происходит только на 25-35%, при этом значительно увеличивается количество свободного мономера [3].

Особенно активно процесс выделения несвязанных метакрилатов происходит в первые 24 часа после постановки пломбы, однако он может продолжаться еще достаточно длительное время за счет поверхностной деградации матрицы композита при взаимодействии с ротовой жидкостью и компонентами пищи. Количество свободного мономера зависит от химической природы материала и соблюдения режима полимеризации. Выделяясь из пломбы в ротовую полость, непрореагировавшие метакрилаты заглатываются пациентом со слюной и могут провоцировать аллергические реакции, оказывать токсическое действие как на ткани ротовой полости, так и на организм в целом. Имеются работы, демонстрирующие тератогенное, канцерогенное, гено- и цитотоксическое действие некоторых компонентов композитов, прежде всего остаточного мономера [4]. Однако данные литературы о биосовместимости композиционных пломбировочных материалов и их влиянии на организм человека весьма противоречивы.

Цель настоящей статьи – на основании обзора литературных источников изучить биосовместимость композиционных пломбировочных материалов и их влияние на организм человека.

Для выяснения воздействия остаточного мономера, выделяемого из композиционных пломбировочных материалов, на организм нами был проведен анализ литературных источников: стоматологических журналов, диссертаций, авторефератов диссертаций, учебных пособий, монографий, интернет-ресурсов и др.

### **Вещества, выделяемые из композиционных пломбировочных материалов**

Более 30 различных веществ, в первую очередь непрореагировавшие мономеры и другие органические компоненты (добавки, инициаторы, ингибиторы и активаторы полимеризации), выделяются из композитных реставраций под воздействием растворителей, в роли которых выступают главным образом слюна и компоненты пищи. Основой ротовой жидкости, как известно, является вода, ее молекулы могут проникать в полимерную матрицу композита, вызывая разрушение последней и последующее выделение несвязанных мономеров. Согласно данным литературы, пломба из композита может поглощать воду в течение одного-двух месяцев после постановки [5]. Выделение мономеров и других компонентов композитов в водной среде может происходить за счет пассивной диффузии, а также действия ферментов. Так, установлено, что эстеразы слюны способны разрушать органическую матрицу в поверхностном слое композитной пломбы [5]. Степень деградации реставрации в ротовой жидкости зависит в первую очередь от ее структуры и прочности соединения в ней мономеров. Известно, что тип метакрилата, входящего в состав полимерных пломб, в значительной степени влияет на активность выделения остаточного мономера из реставрации. Установлено, что при погружении в водный раствор различных образцов полимеризованных композитов Bis-GMA, UDMA, EGDMA DEGDMA, MMA, камфорохинон и другие субстанции обнаруживаются в нем в небольшой концентрации, а TEGMA – в значительном количестве. Показано также, что

материалы, содержащие Bis-GMA, более водорастворимы по сравнению с таковыми на основе UDMA и, следовательно, в большей степени способны выделять в ротовую жидкость свободные мономеры и продукты, образующиеся в результате их расщепления [6]. Кроме того, при некачественной и неполноценной полимеризации композита матрица последнего особенно подвержена разрушению ферментами, содержащимися в слюне [5].

Выделение остаточного мономера могут также провоцировать и другие физические, механические, химические и биологические факторы. Показано, что разрушение полимерной матрицы реставраций в полости рта может вызывать чрезмерная жевательная нагрузка, которая не только приводит к нарушению структуры композита и выделению мономеров, но и способствует появлению трещин и последующему выпадению пломбы [7]. Прием пищи или напитков может вызывать изменение температуры в ротовой полости, что приводит к нарушению структурной целостности композита, вследствие возникновения высокого термического градиента на поверхности пломбы. Кроме того, компоненты пищи и напитки могут изменять pH в полости рта, что также влияет на состояние композитной реставрации [7]. При несоблюдении гигиенических мероприятий на поверхности пломбы могут размножаться микроорганизмы, продукты жизнедеятельности которых (главным образом кислоты) нарушают целостность органической матрицы композита [8].

Помимо органических компонентов, из композиционных пломбировочных материалов могут выделяться в ротовую жидкость и неорганические вещества – фтор, стронций, алюминий, железо и медь. Концентрация высвобождаемых из пломбы  $F^-$  и  $Sr^{2+}$  очень низкая и не влияет на ткани организма, в то же время  $Al^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  способны усугублять негативное действие реставраций из композита, поскольку могут принимать участие в реакциях образования свободных радикалов, которые, как известно, оказывают повреждающее действие на клетки [9].

Некоторые композиционные материалы выделяют в водной среде формальдегид в течение довольно длительного времени (до 115 дней). В наибольшем количестве указанное вещество обнаруживается в образцах не пол-

ностью полимеризованного композита и при наличии на поверхности пломбы слоя, ингибированного кислородом [10].

Непрореагировавшие мономеры и другие субстанции, выделяясь и композитной пломбы, с проглатываемой слюной поступают в желудочно-кишечный тракт, а летучие компоненты попадают в легкие. Кроме того, указанные вещества могут оказывать воздействие на слизистую оболочку ротовой полости и пульпу зуба. В экспериментах на животных было показано, что значительная часть продуктов деградации композиционных материалов выводится из организма в основном через легкие, в меньшем количестве они экскретируются с мочой и фекалиями. В связи с этим можно предполагать, что концентрация мономеров в различных тканях ниже той, которая вызывает острый токсический эффект. Однако в ходе ряда исследований было установлено, что даже в субцитотоксической концентрации мономеры способны негативно влиять на функционирование клеток [11].

Согласно данным литературы, продукты деградации композиционных пломбировочных материалов могут оказывать местное и системное токсическое, а также эстрогеноподобное действие, провоцировать аллергические реакции [12]. Кроме того, компоненты композитов способны активизировать рост кариесогенной микрофлоры [13], а также негативно влияют на пульпу зуба: вызывают постоперативную чувствительность [14], длительное воспаление [15], местные иммунные реакции [16], стимулируют апоптоз [17].

### **Цито- и генотоксическое действие различных компонентов композиционных пломбировочных материалов**

Многочисленные исследования показали, что композиты способны выделять компоненты, оказывающие значительное (Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, DMBZ, DMDTA) или умеренное (HEMA, BEMA, CQ, DMPT and DMAPE) цитотоксическое действие [18], заключающееся в изменении базовых клеточных функций – клеточного метаболизма, морфологии и пролиферации, активности ферментов, синтеза ДНК и РНК [11].

В исследованиях *in vitro* изучено цитотоксическое действие мономеров композици-

онных пломбировочных материалов на различные культуры клеток – постоянные (3T3 и L929 фибробласты, HaCaT кератиноциты, THP-1 моноциты) и первичные (фибробласты пульпы, периодонта, десны).

Так, было установлено токсическое действие Bis-GMA в отношении фибробластов пульпы и других клеток пульпы. Показано, что Bis-GMA стимулирует выработку простаноидов, что приводит к воспалению сосудисто-нервного пучка зуба [19].

В другом исследовании *in vitro*, посвященном изучению цито- и генотоксического действия трех, наиболее распространенных метакрилатов, входящих в состав композиционных пломбировочных материалов, - UDMA, HEMA, TEGDMA, оказалось, что в высоких концентрациях все они вызывают изменения ДНК лимфоцитов периферической крови и клеток слюнных желез, что, по мнению авторов, является одним из факторов риска развития опухолевых процессов в слюнных железах [20]. Показано также, что HEMA и TEGDMA могут активировать апоптоз в клетках поднижнечелюстных слюнных желез [21].

Schwengberg S. с соавторами изучали токсическое действие BisGMA, UDMA, HEMA, TEGDMA и их метаболитов, EMPME, MA, EMPA на эмбриональные стволовые клетки мышечной ткани. Установлено, что BisGMA оказывает значительный эмбриотоксический и тератогенный эффект. HEMA, TEGDMA и EMPME не влияют на процесс дифференцировки эмбриональных стволовых клеток, а также не оказывают значительного цитотоксического действия. EMPA, UDMA, MA в высоких концентрациях вызывают незначительное нарушение процесса дифференцировки эмбриональных стволовых клеток [22].

Установлено, что UDMA и TEGDMA оказывают гено- и цитотоксическое действие на клетки яичников хомяка [23]. Показано, что TEGMA вызывает значительные изменения в геноме клеток млекопитающих [22]. Наличие генотоксического эффекта мономеров композиционных материалов подтверждают и другие многочисленные исследования *in vitro* [11, 24].

Возможные механизмы гено- и цитотоксического действия метакрилатов до конца не выяснены. Однако большинство исследователей полагают, что негативное воздействие остаточного мономера на клетки связано пре-

жде всего с нарушением в них про-и антиоксидантного баланса. В экспериментах *in vitro* установлено, что метакрилаты, выделяемые из композиционных пломб, снижают уровень внутриклеточных антиоксидантов, в частности глутатиона [25], а также инициируют образование свободных радикалов, которые оказывают повреждающее действие на клетки. Введение антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, витамина Е, N-ацетилцистеина и др.) снижает цитотоксический и генотоксический эффекты композиционных пломбировочных материалов *in vitro* [9].

Следует также отметить, что в последние годы в литературе появились сведения о том, что далеко не все композиционные материалы обладают цито- и генотоксичностью. Так, Pettini F. и др. исследовали частоту хромосомных aberrаций в лейкоцитах периферической крови у пациентов, имеющих в среднем по 13 реставраций из композита Enamel Plus-HFO в полости рта. Было показано, что генетические изменения в изучаемых клетках крови достоверно не связаны с наличием у пациента пломб из указанного композита [26].

### **Эстрогеноподобное действие композиционных материалов**

В литературе имеются данные о том, что постоянное поступление в организм бисфенола А, широко применяемого в промышленности для производства различных полимерных продуктов (поликарбонатных пластмасс, консервных банок и т.д.), в том числе и стоматологических композиционных пломбировочных материалов на основе Bis-GMA, оказывает эстрогеноподобное действие, может увеличивать риск развития ожирения, рака груди, яичек и простаты, диабета второго типа, а также способствует развитию заболеваний репродуктивных органов [27, 28]. Так, в экспериментах на самках мышей было установлено, что внутрижелудочное введение BisGMA и TEGDMA в дозах 25 и 100 мг/кг в течение 28 дней вызывает снижение количества беременностей и увеличение числа выкидышей [28]. Эстрогеноподобный эффект композиционных материалов связан прежде всего со способностью бисфенола А взаимодействовать с клетками, имеющими рецепторы к эстрогенам [29].

Бисфенол А и бисфенол А диметакрилат



в чистом виде не входят в состав композиционных материалов, а выделяются из последних в результате гидролиза ферментами слюны Bis-DMA и обнаруживаются в слюне сразу после постановки пломбы [27]. Концентрация бисфенола А в слюне максимальна в первые часы после изготовления реставрации из композита и затем постепенно снижается. В крови указанное вещество не обнаруживается [30]. Данные литературы о количестве бисфенола А, выделяемого именно из пломбировочных материалов, и риске для здоровья человека, связанном с применением последних, весьма противоречивы. Однако, большинство исследований последних лет *in vivo* показали, что концентрация бисфенола А, выделяемого из стоматологических полимерных материалов, довольно низкая и не способна оказывать негативное воздействие на человека. Тем не менее, в связи с возможным влиянием бисфенола А на репродуктивную систему, большинство авторов рекомендуют ограничить применение композиционных пломбировочных материалов, содержащих Bis-GMA и Bis-DMA, во время беременности, а при вынужденной необходимости их использования тщательно соблюдать технологию изготовления реставрации [30].

### **Аллергические реакции на компоненты композиционных пломбировочных материалов**

Композиционные пломбировочные материалы вызывают системные и местные аллергические реакции у пациентов и медицинского персонала. Частота аллергий на метакрилаты, по данным А.Т. Goon с соавторами, среди стоматологических пациентов составляет 2,3% (30/1322), а у персонала - 5,8% (18/310) [31]. Было установлено, что у стоматологов и медсестер аллергические реакции наиболее часто вызывает 2-HEMA, в меньшей степени – EGDMA, TEGMA, MMA; у зубных техников – MMA и EGDMA; у пациентов – 2-HEMA и Bis-GMA, Bis-GA [32].

Стоматологический персонал практически ежедневно контактирует с композиционными материалами. Многие акрилаты довольно быстро проникают через виниловые и латексные перчатки, а также маски. Таким образом, индивидуальные средства защиты ме-

дицинского персонала не обеспечивают полной защиты от контакта с акрилатами. Кроме того, перчатки сами по себе могут выступать в качестве аллергена. В связи с этим количество случаев аллергии на композиционные материалы среди стоматологического персонала постоянно растет. Аллергия на метакрилаты у работников стоматологических клиник, как правило, проявляется в виде контактного дерматита и бронхиальной астмы, а у пациентов, имеющих реставрации из композиционных материалов, - в виде лихеноидных поражений губ и слизистой полости рта, контактного дерматита [33]. Аллергические реакции могут быть как местными (встречаются наиболее часто), так и системными.

Данные о воздействии на пульпу зуба метакрилатов, полученные в экспериментах *in vivo* и в ходе клинических исследований, весьма противоречивы. Некоторые авторы сообщают об отсутствии воспалительных изменений в пульпе при использовании композиционных пломбировочных материалов, в то же время другие говорят о развитии изменений в пульпе после постановки пломб из композитов. Так, N.D. Chandwani (2014) показали, что при изготовлении композитных реставраций риск развития воспаления в пульпе выше, чем при использовании амальгам [15]. С другой стороны, при сравнении частоты развития осложненных форм кариеса после постановки пломб из композиционных материалов и амальгамы (авторами были изучены данные 10 различных клинических исследований) не было выявлено достоверных отличий [34].

Тяжесть изменений в сосудиисто-нервном пучке зуба зависит от целого ряда факторов. В первую очередь, степень негативного повреждающего воздействия на пульпу напрямую зависит от глубины кариозной полости: чем она больше, тем выше степень токсического влияния композита на пульпу. Особенно выражено такое воздействие при отсутствии изолирующей прокладки. При достаточной толщине околопульпарного дентина, использовании кальцийсодержащих прокладок в глубоких кариозных полостях степень негативного влияния композиционных материалов на пульпу зуба снижается. С другой стороны, протравливание дентина и отсутствие изолирующей и лечебной прокладок при глубоком кариесе усугубляют токсическое действие метакрила-

тов на пульпу [35].

В литературе также имеются сведения о том, что сами по себе композиционные материалы не вызывают воспаление в пульпе, а главной причиной изменений в последней являются бактерии и продукты их жизнедеятельности. Показано, что некоторые мономеры способствуют росту и размножению микроорганизмов. В частности TEGMA и EGDMA способны активизировать рост и пролиферацию некоторых видов кариесогенных микроорганизмов – *S. Sobrinus*, *S. Mutans* и *L. Acidophilus*, тем самым способствуя развитию вторичного кариеса и воспаления в пульпе зуба. Кроме того, указанные метакрилаты активизируют фермент гликозилтрансферазу, который участвует в формировании гликанов, играющих ключевую роль в адгезии микроорганизмов и образовании зубной бляшки [36].

В настоящее время производятся композиционные материалы с противомикробными добавками (цинком, серебром и др.), однако после фотоотверждения пломбы антибактериальные агенты практически не способны высвободиться из нее и оказывать бактерицидное действие [37].

Таким образом, при правильном применении композиционных пломбировочных материалов и исключении влияния других факторов, способствующих воспалению сосудисто-нервного пучка зуба, риск развития негативных изменений в пульпе невелик.

Степень вышеописанного негативного воздействия компонентов композиционных материалов на различные клетки, ткани и организм в целом зависит от ряда факторов: прежде всего от их химической структуры (вида мономера), а также от консистенции и соблюдения режима фотополимеризации.

### **Токсичность композиционных пломбировочных материалов в зависимости от их химической структуры**

TEGDMA – один из наиболее изучаемых с точки зрения биосовместимости метакрилат, поскольку входит в состав многих композиционных материалов и адгезивных систем. TEGDMA способен активно выделяться из полимеризованного композита в водной среде, а также легко проникать через мембрану клеток ввиду своей гидрофильности [5]. В исследова-

ниях *in vitro* было показано, что TEGDMA даже в очень низких концентрациях не только оказывает выраженное цито- и генотоксическое действие, но и в значительной степени влияет на клеточный метаболизм, иммунный ответ, процесс заживления [38].

HEMA является одним из наиболее распространенных компонентов адгезивных систем. Вследствие своей гидрофильности, указанный мономер хорошо проникает в дентин и может оказывать негативное воздействие на жизнеспособность одонтобластов [38]. Исследования *in vitro* также показали, что при длительном выделении небольших концентраций HEMA из композиционного материала нарушаются синтез коллагена I типа [39], процесс дифференцировки фибробластов пульпы в одонтобласты [40]. Однако цитотоксическое действие HEMA гораздо менее выражено по сравнению с TEGDMA и Bis-GMA.

Цито- и генотоксичность Bis-GMA и UDMA также активно изучаются. Несмотря на то, что Bis-GMA довольно плохо растворяется в воде, он считается одним из наиболее токсичных метакрилатов и широко исследуется с точки зрения биосовместимости. Bis-GMA в композиционных пломбировочных материалах зачастую заменяют на UDMA ввиду высокой эластичности и прочности последнего [38].

Bis-GMA и UDMA в концентрации  $>0,001$  мМ и 0,05 мМ соответственно оказывают цитотоксическое действие *in vitro* на различные типы клеток: фибробласты десны и пульпы человека, моноциты периферической крови, ТНР-1 клетки [41]. Bis-GMA способен нарушать жизнеспособность пульпы и/или вызывать ее воспаление. Установлено также, что Bis-GMA негативно влияет на процесс дифференцировки фибробластов пульпы, пролиферацию и миграцию кератиноцитов и фибробластов десны человека [38]. Показано и генотоксическое действие Bis-GMA и UDMA [23]. В целом, ароматический мономер Bis-GMA более токсичен по сравнению с ароматическим мономером UDMA. Несмотря на свою гидрофобность, Bis-GMA и UDMA способны оказывать цитотоксическое действие даже в меньших концентрациях, чем TEGMA и HEMA.

При проведении сравнительной оценки токсичности различных мономеров в экспериментах *in vitro* было установлено, что

в отношении фибробластов десны человека она увеличивается следующим образом: НЕМА<ТЕГМА<UDMA<BisGMA. Такая же закономерность наблюдается и при воздействии мономеров на кератиноциты человека – Bis-GMA>UDMA>ТЕГМА [42].

### **Влияние консистенции композитов на степень их токсичности**

Установлено, что токсичность текучих композитов выше, чем пакуемых. Так, в исследованиях *in vitro* было показано, что жидкотекучие пломбировочные материалы обладают гораздо большей цитотоксичностью в отношении Balb/c фибробластов по сравнению с традиционными [43].

### **Влияние режима полимеризации на токсичность композиционных пломбировочных материалов**

Данные литературы в отношении взаимосвязи режима полимеризации и степени токсичности композитов довольно противоречивы. С одной стороны, в исследованиях *in vitro* показано, что токсическое действие композиционных пломбировочных материалов выражено только в том случае, если последние не были фотополимеризованы. При этом независимо от времени отверждения пломбы галогеновой лампой, токсичность композита снижается в одинаковой мере. Таким образом, длительность фотополимеризации композита галогеновой лампой достоверно не влияет на степень токсического действия композиционных материалов в отношении MDPC-23 клеток [44].

С другой стороны, в исследованиях с использованием культуральных клеток L 929 было показано, что при максимальном уменьшении расстояния между световодом лампы и засвечиваемым материалом токсичность композитов достоверно снижается [45].

Показано также, что при адекватном времени полимеризации реставрации, соответствующем инструкции, и проведении ее качественной окончательной обработки, позволяющей удалить слой, ингибированный кислородом на поверхности композита, количество свободного мономера значительно снижается [5]. Необходимость тщательного со-

блюдения режима фотополимеризации пломб из композиционных материалов подтверждают и другие исследователи, вводившие крысам засвеченный в течение 40 секунд, согласно инструкции, и измельченный в порошок ТЕГМА-содержащий композит внутрижелудочно в течение 90 дней. Авторы не обнаружили цитотоксического действия вводимого композиционного материала на организм крыс [46]. Также было показано отсутствие эмбриотоксического эффекта ТЕГМА-содержащего композита при выполнении всех этапов работы с ним в соответствии с инструкцией [47].

Режим полимеризации композиционных материалов (длительность фотоотверждения и расстояние от световода до материала) зависит от типа мономера, который они содержат. Так, было установлено, что количество остаточного мономера в ТЕГМА и UDMA-содержащих композитах достоверно снижается при увеличении времени фотополимеризации (более 20 секунд) и уменьшении расстояния от световода лампы до материала (менее 10 мм). С другой стороны, в случае отверждения Bis-GMA-содержащих композитов, повышение длительности полимеризации и снижение расстояния от световода до материала приводит к значительному выделению бисфенола А [48].

Следовательно, для предотвращения либо уменьшения отрицательного воздействия остаточного мономера и других компонентов композиционных материалов необходимо знать их состав, соблюдать правила фотополимеризации и строго следовать инструкции по применению.

### **Заключение**

Таким образом, большое количество исследований последних лет, преимущественно зарубежных, посвящено проблеме биосовместимости композиционных пломбировочных материалов, широко применяемых в современной стоматологической практике. Результаты их весьма противоречивы, однако большинство авторов сообщают о возможном цито-, гено-, эмбриотоксическом и мутагенном действии композитов, их способности оказывать эстрогеноподобный эффект, вызывать аллергические реакции у пациентов и персонала стоматологических клиник. Кроме

того, установлено негативное влияние указанных материалов на пульпу зуба, особенно при глубоком кариесе, а также их способность активизировать рост и развитие кариесогенной микрофлоры. Отрицательное воздействие композитов, как правило, проявляется при несоблюдении технологии изготовления реставрации.

Следует отметить, что большинство работ являются экспериментальными и их результаты невозможно полностью экстраполировать в клиническую практику. Поэтому для получения более точной и достоверной информации о биосовместимости композиционных пломбировочных материалов необходимы дальнейшие, прежде всего клинические, исследования.

### Литература

1. Monomer conversion and cytotoxicity of dental composites irradiated with different modes of photoactivated curing / W. Y. Tseng [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. Part B, Appl. Biomater.* – 2007. – Vol. 83, N 1. – P. 85–90.
2. Degree of polymerization of resin composites by different light sources / T. H. Yoon [et al.] // *J. Oral Rehabil.* – 2002 Dec. – Vol. 29, N 12. – P. 1165–1173.
3. Fano, V. Release phenomena and toxicity in polymer-based dental restorative materials / V. Fano, M. Shatel, M. L. Tanzi // *Acta Biomed.* – 2007 Dec. – Vol. 78, N 3. – P. 190–197.
4. Long term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials / S. Bouillaguet [et al.] // *J. Oral. Rehabil.* – 2002 Jan. – Vol. 29, N 1. – P. 7–13.
5. Ferracane, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks / J. L. Ferracane // *Dent. Mater.* – 2006 Mar. – Vol. 22, N 3. – P. 211–222.
6. Variability of cytotoxicity and leaching of substances from five dentin adhesives / W. Geurtsen [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1999. – Vol. 48. – P. 772–777.
7. Drummond, J. L. Degradation, fatigue and failure of resin dental composite materials / J. L. Drummond // *J. Dent. Res.* – 2008 Aug. – Vol. 87, N 8. – P. 710–719.
8. The influence of oral bacteria on the surfaces of resin-based dental restorative materials – an in vitro study / B. Willershausen [et al.] // *Int. Dent. J.* – 1999 Aug. – Vol. 49, N 4. – P. 231–239.
9. TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species / L. Stanislawski [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2003 Sep. – Vol. 66, N 3. – P. 476–482.
10. Concomitant contact allergy to formaldehyde and methacrylic monomers in students of dental medicine and dental patients / M. Lyapina [et al.] // *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* – 2014 Oct. – Vol. 27, N 5. – P. 797–807.
11. Schweikl, H. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers / H. Schweikl, G. Spagnuolo, G. Schmalz // *J. Dent. Res.* – 2006 Oct. – Vol. 85, N 10. – P. 870–877.
12. Geurtsen, W. Biocompatibility of resin-modified filling materials / W. Geurtsen // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* – 2000. – Vol. 11, N 3. – P. 333–355.
13. Bergenholz, G. Evidence for bacterial causation of adverse pulpal responses in resin-based dental restorations / G. Bergenholz // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* – 2000. – Vol. 11, N 4. – P. 467–480.
14. Composite resin restoration and postoperative sensitivity: clinical follow-up in an undergraduate program / M. Unemori [et al.] // *J. Dent.* – 2001 Jan. – Vol. 29, N 1. – P. 7–13.
15. Histological evaluation to study the effects of dental amalgam and composite restoration on human dental pulp: an in vivo study / N. D. Chandwani [et al.] // *Med. Princ. Pract.* – 2014. – Vol. 23, N 1. – P. 40–44.
16. A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers / S. Krifka [et al.] // *Biomaterials.* – 2013 Jun. – Vol. 34, N 19. – P. 4555–4563.
17. Resin monomer-induced differential activation of MAP kinases and apoptosis in mouse macrophages and human pulp cells / S. Krifka [et al.] // *Biomaterials.* – 2010 Apr. – Vol. 31, N 11. – P. 2964–2975.
18. Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals / W. Geurtsen [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1999. – Vol. 48, N 6. – P. 772–777.
19. The effect of BisGMA on cyclooxygenase-2 expression, PGE2 production and cytotoxicity via reactive oxygen species- and MEK/ERK-dependent and -independent pathways / M. C. Chang [et al.] // *Biomaterials.* – 2009 Sep. – Vol. 30, N 25. – P. 4070–4077.
20. Cytotoxic and genotoxic effects of resin monomers in human salivary gland tissue and lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (Comet) assay / N. H. Kleinsasser [et al.] // *Biomaterials.* – 2006 Mar. – Vol. 27, N 9. – P. 1762–1770.
21. Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP-kinases p38, JNK and ERK / J. T. Samuelsen [et al.] // *Dent. Mater.* – 2007 Jan. – Vol. 23, N 1. – P. 34–39.
22. In vitro embryotoxicity assessment with dental restorative materials / S. Schwengberg [et al.] // *J. Dent.* – 2005 Jan. – Vol. 33, N 1. – P. 49–55.
23. Independent and combined cytotoxicity and genotoxicity of triethylene glycol dimethacrylate and urethane dimethacrylate / M. Wisniewska-Jarosinska [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2011 Oct. – Vol. 38, N 7. – P. 4603–4611.
24. Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay / N. H. Kleinsasser [et al.] // *J. Dent.* – 2004 Mar. – Vol. 32, N 3. – P. 229–234.
25. Intracellular glutathione: a main factor in TEGDMA-induced cytotoxicity? / C. A. Martins [et al.] // *Dent. Mater.* – 2012 Apr. – Vol. 28, N 4. – P. 442–448.
26. Cytogenetic genotoxic investigation in peripheral blood lymphocytes of subjects with dental composite restorative filling materials / F. Pettini [et al.] // *J. Biol.*



- Regul. Homeost. Agents. – 2015 Jan-Mar. – Vol. 29, N 1. – P. 229–233.
27. Bisphenol A and related compounds in dental materials / A. F. Fleisch [et al.] // *Pediatric*. – 2010 Sep. – Vol. 126, N 4. – P. 760–768.
  28. Darmani, H. The effect of Bis-GMA and TEG-DMA on female mouse fertility / H. Darmani, A. S. Al-Hiyasat // *Dent. Mat.* – 2006 Apr. – Vol. 22, N 4. – P. 353–358.
  29. What parents should know about estrogen-like compounds in dental materials / T. E. Schafer [et al.] // *Pediatr. Dent.* – 2000 Jan-Feb. – Vol. 22, N 1. – P. 75–76.
  30. Rathee, M. Bisphenol A in dental sealants and its estrogen like effect / M. Rathee, P. Malik, J. Singh // *Indian J. Endocrinol. Metab.* – 2012 May. – Vol. 16, N 3. – P. 339–342.
  31. Contact allergy to (meth)acrylates in the dental series in southern Sweden: simultaneous positive patch test reaction patterns and possible screening allergens / A. T. Goon [et al.] // *Contact. Dermatitis*. – 2006 Oct. – Vol. 55, N 4. – P. 219–226.
  32. Methacrylate and acrylate allergy in dental personnel / K. Aalto-Korte [et al.] // *Contact. Dermatitis*. – 2007 Nov. – Vol. 57, N 5. – P. 324–330.
  33. Syed, M. Allergic Reactions to Dental Materials-A Systematic Review / M. Syed, R. Chopra, V. Sachdev // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2015 Oct. – Vol. 9, N 10. – P. ZE04–ZE09.
  34. Dawson, V. S. Endodontic complications in teeth with vital pulps restored with composite resins: a systematic review / V. S. Dawson, S. Amjad, H. Fransson // *Int. Endod. J.* – 2015 Jul. – Vol. 48, N 7. – P. 627–638.
  35. Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials, pulp capping, and future therapies / P. E. Murray [et al.] // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* – 2002. – Vol. 13, N 6. – P. 509–520.
  36. Kawai, K. Effects of resin composite components on glucosyltransferase of cariogenic bacterium / K. Kawai, Y. Tsuchitani // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2000 Jul. – Vol. 51, N 1. – P. 123–127.
  37. Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers / S. Imazato [et al.] // *J. Dent.* – 2000 Jan. – Vol. 28, N 1. – P. 61–67.
  38. Bakopoulou, A. Molecular toxicology of substances released from resin-based dental restorative materials / A. Bakopoulou, T. Papadopoulos, P. Garefis // *Int. J. Mol. Sci.* – 2009 Sep. – Vol. 10, N 9. – P. 3861–3899.
  39. Effects of HEMA on type I collagen protein in human gingival fibroblasts / M. Falconi [et al.] // *Cell. Biol. Toxicol.* – 2007 Sep. – Vol. 23, N 5. – P. 313–322.
  40. Influence of resinous monomers on the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblasts / I. About [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2002. – Vol. 63, N 4. – P. 418–423.
  41. Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts in vitro / J. Engelmann [et al.] // *Biomaterials*. – 2004 Aug. – Vol. 25, N 19. – P. 4573–4580.
  42. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes / K. Moharamzadeh [et al.] // *Dent. Mater.* – 2007 Jan. – Vol. 23, N 1. – P. 40–44.
  43. In vitro biological response to core and flowable dental restorative materials / J. C. Wataha [et al.] // *Dent. Mater.* – 2003 Jan. – Vol. 19, N 1. – P. 25–31.
  44. Effects of light-curing time on the cytotoxicity of a restorative composite resin on odontoblast-like cells / A. M. F. Aranha [et al.] // *J. Appl. Oral Sci.* – 2010. – Vol. 18, N 5. – P. 461–466.
  45. Ergun, G. The cytotoxicity of resin composites cured with three light curing units at different curing distances / G. Ergun, F. Egilmez, I. Cekic-Nagas // *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* – 2011 Mar. – Vol. 16, N 2. – P. e252–e259.
  46. Toxicity test of a dental commercial composite / S. Ponce-Bravo [et al.] // *J. Clin. Exp. Dent.* – 2015 Apr. – Vol. 7, N 2. – P. e289–e292.
  47. Moilanen, L. H. Reproductive toxicity evaluation of the dental resin monomer triethylene glycol dimethacrylate (CASRN 109-16-0) in mice / L. H. Moilanen, J. K. Dahms, A. M. Hoberman // *Int. J. Toxicol.* – 2014 Mar-Apr. – Vol. 33, N 2. – P. 106–115.
  48. The effect of polymerization conditions on the amounts of unreacted monomer and bisphenol A in dental composite resins / H. J. Kwon [et al.] // *Dent. Mater. J.* – 2015. – Vol. 34, N 3. – P. 327–335.

Поступила 10.03.2016 г.

Принята в печать 16.06.2016 г.

## References

1. Tseng WY, Huang CH, Chen RS, Lee MS, Chen YJ, Rueggeberg FA et al. Monomer conversion and cytotoxicity of dental composites irradiated with different modes of photoactivated curing. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007 Oct;83(1):85-90.
2. Yoon TH, Lee YK, Lim BS, Kim CW. Degree of polymerization of resin composites by different light sources. *J Oral Rehabil*. 2002 Dec;29(12):1165-73.
3. Fano V, Shatel M, Tanzi ML. Release phenomena and toxicity in polymer-based dental restorative materials. *Acta Biomed*. 2007 Dec;78(3):190-7.
4. Bouillaguet S, Shaw L, Gonzalez L, Wataha JC, Krejci I. Long term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials. *J Oral Rehabil*. 2002 Jan;29(1):7-13.
5. Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater*. 2006 Mar;22(3):211-22.
6. Geursten W, Spahl W, Muller K, Leyhausen G. Variability of cytotoxicity and leaching of substances from five dentin adhesives. *J Biomed Mater Res*. 1999;48:772-7.
7. Drummond JL. Degradation, fatigue and failure of resin dental composite materials. *J Dent Res*. 2008 Aug;87(8):710-9.

8. Willershausen B, Callaway A, Ernst CP, Stender E. The influence of oral bacteria on the surfaces of resin-based dental restorative materials – an in vitro study. *Int Dent J*. 1999 Aug;49(4):231-9.
9. Stanislawski L, Lefeuve M, Bourd K, Soheili-Majd E, Goldberg M, Périanin A. TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J Biomed Mater Res*. 2003 Sep;66(3):476-82.
10. Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, Tzekova M, Kisselova-Yaneva A. Concomitant contact allergy to formaldehyde and methacrylic monomers in students of dental medicine and dental patients. *Int J Occup Med Environ Health*. 2014 Oct;27(5):797-807.
11. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res*. 2006 Oct;85(10):870-7.
12. Geurtsen W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(3):333-55.
13. Bergenholz G. Evidence for bacterial causation of adverse pulpal responses in resin-based dental restorations. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(4):467-80.
14. Unemori M, Matsuya Y, Akashi A, Goto Y, Akamine A. Composite resin restoration and postoperative sensitivity: clinical follow-up in an undergraduate program. *J Dent*. 2001 Jan;29(1):7-13.
15. Chandwani ND, Pawar MG, Tupkari JV, Yuwanati M. Histological evaluation to study the effects of dental amalgam and composite restoration on human dental pulp: an in vivo study. *Med Princ Pract*. 2014;23(1):40-4.
16. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweikl H. A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials*. 2013 Jun;34(19):4555-63.
17. Krifka S, Petzel C, Hiller KA, Frank EM, Bosl C, Spagnuolo G et al. Resin monomer-induced differential activation of MAP kinases and apoptosis in mouse macrophages and human pulp cells. *Biomaterials*. 2010 Apr;31(11):2964-75.
18. Geurtsen W, Spahl W, Müller K, Leyhausen G. Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals. *J Biomed Mater Res*. 1999;48(6):772-7.
19. Chang MC, Lin LD, Chan CP, Chang HH, Chen LI, Lin HJ et al. The effect of BisGMA on cyclooxygenase-2 expression, PGE2 production and cytotoxicity via reactive oxygen species- and MEK/ERK-dependent and -independent pathways. *Biomaterials*. 2009 Sep;30(25):4070-7.
20. Kleinsasser NH, Schmid K, Sassen AW, Harréus UA, Staudenmaier R, Folwaczny M et al. Cytotoxic and genotoxic effects of resin monomers in human salivary gland tissue and lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (Comet) assay. *Biomaterials*. 2006 Mar;27(9):1762-70.
21. Samuelsen JT, Dahl JE, Karlsson S, Morisbak E, Becher R. Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP-kinases p38, JNK and ERK. *Dent Mater*. 2007 Jan;23(1):34-9.
22. Schwengberg S, Bohlen H, Kleinsasser N, Kehe K, Seiss M, Walther UI et al. In vitro embryotoxicity assessment with dental restorative materials. *J Dent*. 2005 Jan;33(1):49-55.
23. Wisniewska-Jarosinska M, Poplawski T, Chojnacki CJ, Pawlowska E, Krupa R, Szczepanska J et al. Independent and combined cytotoxicity and genotoxicity of triethylene glycol dimethacrylate and urethane dimethacrylate. *Mol Biol Rep*. 2011 Oct;38(7):4603-11.
24. Kleinsasser NH, Wallner BC, Harréus UA, Kleinjung T, Folwaczny M, Hickel R et al. Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *J Dent*. 2004 Mar;32(3):229-34.
25. Martins CA, Leyhausen G, Geurtsen W, Volk J. Intracellular glutathione: a main factor in TEGDMA-induced cytotoxicity? *Dent Mater*. 2012 Apr;28(4):442-8.
26. Pettini F, Savino M, Corsalini M, Cantore S, Ballini A. Cytogenetic genotoxic investigation in peripheral blood lymphocytes of subjects with dental composite restorative filling materials. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2015 Jan-Mar;29(1):229-33.
27. Fleisch AF, Sheffield PE, Chinn C, Edelstein BL, Landrigan PJ. Bisphenol A and related compounds in dental materials. *Pediatric*. 2010 Sep;126(4):760-8.
28. Darmani H, Al-Hiyasat AS. The effect of Bis-GMA and TEG-DMA on female mouse fertility. *Dent Mater*. 2006 Apr;22(4):353-8.
29. Schafer TE, Lapp CA, Hanes CM, Lewis JB. What parents should know about estrogen-like compounds in dental materials. *Pediatr Dent*. 2000 Jan-Feb;22(1):75-6.
30. Rathee M, Malik P, Singh J. Bisphenol A in dental sealants and its estrogen like effect. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012 May;16(3):339-42.
31. Goon AT, Isaksson M, Zimerson E, Goh CL, Bruze M. Contact allergy to (meth)acrylates in the dental series in southern Sweden: simultaneous positive patch test reaction patterns and possible screening allergens. *Contact Dermatitis*. 2006 Oct;55(4):219-26.
32. Aalto-Korte K, Alanko K, Kuuliala O, Jolanki R. Methacrylate and acrylate allergy in dental personnel. *Contact Dermatitis*. 2007 Nov;57(5):324-30.
33. Syed M, Chopra R, Sachdev V. Allergic Reactions to Dental Materials-A Systematic Review. *J Clin Diagn Res*. 2015 Oct;9(10):ZE04-9.
34. Dawson VS, Amjad S, Fransson H. Endodontic complications in teeth with vital pulps restored with composite resins: a systematic review. *Int Endod J*. 2015 Jul;48(7):627-38.
35. Murray PE, Windsor LJ, Smyth TW, Hafez AA, Cox CF. Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials, pulp capping, and future therapies. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(6):509-20.
36. Kawai K, Tsuchitani Y. Effects of resin composite components on glucosyltransferase of cariogenic bacterium. *J Biomed Mater Res*. 2000 Jul;51(1):123-7.
37. Imazato S, Tarumi H, Ebi N, Ebisu S. Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers. *J Dent*. 2000 Jan;28(1):61-7.
38. Bakopoulou A, Papadopoulos T, Garefis P. Molecular toxicology of substances released from resin-based dental restorative materials. *Int J Mol Sci*. 2009 Sep;10(9):3861-99.

39. Falconi M, Teti G, Zago M, Pelotti S, Breschi L, Mazzotti G. Effects of HEMA on type I collagen protein in human gingival fibroblasts. *Cell Biol Toxicol.* 2007 Sep;23(5):313-22.
40. About I, Camps J, Mitsiadis TA, Bottero MJ, Butler W, Franquin JC. Influence of resinous monomers on the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblasts. *J Biomed Mater Res.* 2002;63(4):418-23.
41. Engelmann J, Janke V, Volk J, Leyhausen G, von Neuhoff N, Schlegelberger B et al. Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts in vitro. *Biomaterials.* 2004 Aug;25(19):4573-80.
42. Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dent Mater.* 2007 Jan;23(1):40-4.
43. Wataha JC, Lockwood PE, Bouillaguet S, Noda M. In vitro biological response to core and flowable dental restorative materials. *Dent Mater.* 2003 Jan;19(1):25-31.
44. Aranha AMF, Giro EMA, Hebling J, Lessa FCR, de Souza Costa CA. Effects of light-curing time on the cytotoxicity of a restorative composite resin on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci.* 2010;18(5):461-6.
45. Ergun G, Egilmez F, Cekic-Nagas I. The cytotoxicity of resin composites cured with three light curing units at different curing distances. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011 Mar;16(2):e252-9.
46. Ponce-Bravo S, Ledesma-Montes C, Martínez-Rivera JL, Garcés-Ortiz M. Toxicity test of a dental commercial composite. *J Clin Exp Dent.* 2015 Apr;7(2):e289-92.
47. Moilanen LH, Dahms JK, Hoberman AM. Reproductive toxicity evaluation of the dental resin monomer triethylene glycol dimethacrylate (CASRN 109-16-0) in mice. *Int J Toxicol.* 2014 Mar-Apr;33(2):106-15.
48. Kwon HJ, Oh YJ, Jang JH, Park JE, Hwang KS, Park YD. The effect of polymerization conditions on the amounts of unreacted monomer and bisphenol A in dental composite resins. *Dent Mater J.* 2015;34(3):327-35.

Submitted 10.03.2016

Accepted 16.06.2016

**Сведения об авторах:**

Кореневская Н.А. – к.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет».

**Information about authors:**

Korenevskaya N.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Preventive Dentistry, Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University».

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет», кафедра терапевтической стоматологии. E-mail: natkor1684@yandex.by – Кореневская Наталья Анатольевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University», Chair of Preventive Dentistry. E-mail: natkor1684@yandex.by – Korenevskaya N.A.