

УДК 613.632:[544.772-022.532:621.791.037]:57.083

<https://doi.org/10.33573/ujoh2022.02.130>

# ЕКСПРЕС-ОЦІНКА ПОТЕНЦІЙНОЇ НЕБЕЗПЕКИ НАНОРОЗМІРНИХ ФРАКЦІЙ ЗВАРЮВАЛЬНИХ АЕРОЗОЛІВ

Демецька О. В.<sup>1</sup>, Мовчан В. О.<sup>1</sup>, Белюга О. Г.<sup>1</sup>, Діденко М. М.<sup>1</sup>, Баля А. Г.<sup>2</sup>, Андрусишина І. М.<sup>1</sup>, Леоненко О. Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва Національної академії медичних наук України», м. Київ

<sup>2</sup>Вища школа фармацевтичних наук Нагойського університету, м. Нагоя, Японія

*Вступ.* Вплив зварювальних аерозолів (ЗА) залишається серйозною проблемою навіть у розвинених країнах з довгою історією покращання умов виробничого середовища. ЗА складаються як з потенційно небезпечних газів, так і з вискодисперсних нанорозмірних частинок, яким притаманна більш виражена біологічна активність і пошкоджуюча дія. Скринінгова оцінка зварювальних матеріалів у методах *in vitro* дозволяє отримати попередню інформацію щодо потенційної небезпеки, а також є доцільною з позицій біоетики.

*Мета дослідження* – розробити спосіб експрес-оцінки нанорозмірних складових ЗА за показниками оксидативного стресу як основного механізму пошкоджуючої дії частинок нанодіапазону.

*Матеріали та методи дослідження.* Оцінено пошкоджуючу дію нанорозмірних фракцій твердої складової ЗА (ТСЗА), що утворилися під час зварювання високолегованими електродами з рутіловим видом покриття (дві марки). Хімічний склад проб повітря визначали методом оптико-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою (ОЕС-ІЗП) за допомогою приладу «Optima 2100 DV» («PerkinElmer», США). Розмір частинок визначали методом динамічного розсіювання світла за допомогою приладу Analysette 12 DynaSizer («Fritsch», Німеччина). Як тест-об'єкт використовували сперматозоїди великої рогатої худоби (бика). Цитотоксичність оцінювали у способі експрес-оцінки токсичності ЗА *in vitro*. Оптичну густину отриманих фосфоліпідних екстрактів визначали за допомогою спектрофотометра ULAB 101UV за довжини хвилі 540 нм. Фарбування мазків проводили за методикою Лефлера (метиленовим синім), за Майн-Грюнвальдом (фіксація) зі забарвленням за Романовським розведеною (1/3) й нерозведеною фарбою. Пофарбовані препарати аналізували з імерсією під об'єктивом x1000 з використанням мікроскопа «Carl Zeiss» (Німеччина).

*Результати.* Нанодіапазонні фракції ТСЗА електродів з рутіловим типом покриття в досліді *in vitro* спричиняли оксидативний стрес у тест-об'єкті, наслідком чого є морфологічні аномалії, руйнування біологічних мембран і вивільнення фосфоліпідів. Отримані дані кореспондують з результатами експериментів *in vivo* та *in vitro*, в яких досліджували електроди продемонстрували цитотоксичність і пошкоджуючу дію.

*Висновки.* Запропонований спосіб експрес-оцінки потенційної небезпеки ЗА суттєво знижує трудомісткість випробувань і може бути застосований як скринінговий у токсиколого-гігієнічних дослідженнях на етапі розробки та вдосконалення зварювальних матеріалів та/або зварювальної технології.

**Ключові слова:** зварювальні аерозолі, зварювальні електроди, нанодіапазонні фракції, цитотоксичність, експрес-оцінка

## Вступ

Зварювальники без достатнього захисного обладнання зазнають впливу потенційно небезпечних аерозолів. Незважаючи на значні зусилля, спрямовані на покращання безпеки праці, вплив зварювальних аерозолів (ЗА) залишається серйозною проблемою навіть у розвинених країнах з довгою історією покращання умов виробничого середовища [1]. Наприклад, у Швеції констатують 71 випадок смертей щорічно, які можуть бути безпосередньо пов'язані з ЗА (враховуючи ішемічну хворобу серця та рак легенів як причини смерті). Це більше,

ніж загальна річна кількість смертей від нещасних випадків на виробництві в усіх професіях у Швеції. В Україні протягом декількох останніх десятиліть спостерігається тенденція щодо спаду виробництва, при цьому незадовільні умови праці на робочих місцях зварювальників зберігаються, до того ж, наслідки тривалого впливу шкідливих факторів виробничого середовища, у першу чергу, ЗА, недооцінюються як лікарями, так і роботодавцями, технологіями та безпосередньо зварювальниками [2].

Процес зварювання пов'язаний з комплексом несприятливих хімічних і фізичних факторів, небез-

печних для здоров'я працюючих. Слід зазначити, що протягом професійного життя зварювальника структура виробничих факторів, що впливають на його здоров'я, може багаторазово змінюватися, оскільки умови праці можуть суттєво відрізнятися в різних галузях виробництва, а також на різних ділянках одного й того самого підприємства. При цьому провідним фактором залишається хімічний. Залежно від способу зварювання ЗА може містити сполуки заліза, мангану, хрому, нікелю, фтору, цинку, алюмінію, кремнію, кадмію, свинцю, а також оксиди азоту та вуглецю, озон тощо. Відомо, що ЗА складається як з потенційно небезпечних газів, так і з високодисперсних нанорозмірних частинок.

Встановлено, що провідна фракція твердої складової ЗА (ТСЗА) представлена частинками саме нанодіапазону [1, 3]. Нанорозмірним частинкам притаманна більш виразна біологічна активність і пошкоджуюча дія: завдяки своїм розмірам вони можуть проникати крізь шкірний покрив, потрапляти в кров'яне русло, а також безпосередньо до мозку по нервових закінченнях [4]. Отже, нанорозмірні фракції ТСЗА є небезпечними, при цьому їхня токсичність залежить від складу зварювального матеріалу та реакційної здатності частинок, що зумовлює необхідність проведення токсикологічних досліджень, результати яких потрібно враховувати при розробці нових матеріалів/технологій і захисних стратегій.

У той самий час слід зазначити, що європейські та американські фахівці наголошують на тому, що сучасні альтернативні методи тестування речовин хімічного та біологічного походження в багатьох випадках мають стати заміною загальноприйнятим токсикологічним дослідом на лабораторних тваринах. З цього приводу варто зауважити, що токсичність наночастинок зумовлена насамперед розвитком оксидативного стресу, перекисним окисненням мембран з подальшим збільшенням їхньої проникності, порушенням функцій і руйнуванням. Скринінгова оцінка нових матеріалів (у тому числі зварювальних) у методах *in vitro* дозволяє отримати попередню інформацію щодо потенційної небезпеки, а також є доцільною з позицій біоетики. Тому розробка наукових підходів до експрес-оцінки небезпечності нанорозмірних об'єктів різної хімічної природи та складу є одним з пріоритетних завдань сучасної профілактичної медицини, що сприятиме уточненню механізмів пошкоджуючої дії на організм нанорозмірних об'єктів, удосконален-

ню оцінки їхнього небезпечного впливу та розробці захисних стратегій.

*Мета дослідження* – розробити спосіб експрес-оцінки нанорозмірних фракцій ЗА за показниками оксидативного стресу як основного механізму пошкоджуючої дії частинок нанодіапазону.

## Матеріали та методи дослідження

Було оцінено пошкоджуючу дію нанорозмірних фракцій ТСЗА, що утворилися під час зварювання високолегованим дослідним електродом з рутіловим видом покриття («14–32») зі зниженим вмістом хрому (VI) (під час гігієнічної оцінки хрому (VI) не виявлено), середній аеродинамічний діаметр частинок ТСЗА – 101,72 нм; а також серійним електродом «Crystal» з рутіловим видом покриття з масовою часткою хрому (VI) 0,9 %, середній аеродинамічний діаметр частинок ТСЗА – 148,5 нм. Іншими основними компонентами досліджуваних електродів «14–32» і «Crystal» є хром (III) (3,91 % і 0,71 % відповідно), нікель (масова частка 1,39 % і 0,74 % відповідно) і манган (масова частка 5,2 % і 10,33 % відповідно).

Нанорозмірні фракції ТСЗА відбиралися відповідно до способу визначення наночастинок у повітрі робочої зони [5]. Хімічний склад проб повітря визначали методом оптико-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою (ОЕС-ІЗП) за допомогою приладу «Optima 2100 DV» («PerkinElmer», США). Розмір частинок визначали методом динамічного розсіювання світла за допомогою приладу Analysette 12 DynaSizer («Fritsch», Німеччина). Як тест-об'єкт використовували сперматозоїди великої рогатої худоби (бика). Потенційну небезпеку наночастинок ТСЗА здійснювали за допомогою способу експрес-оцінки пошкоджуючої дії наноматеріалів за вмістом мембранних ліпідів сперматозоїдів бика *in vitro* [6]. Оптичну густину отриманих фосfolіпідних екстрактів визначали за допомогою спектрофотометра ULAB 101UV за довжини хвилі 540 нм. Цитотоксичність оцінювали в способі експрес-оцінки токсичності ЗА *in vitro* [7].

Для проведення морфологічних досліджень сперматозоїдів після експозиції (1 год,  $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) нанорозмірними фракціями ТСЗА, що утворилися після зварювання досліджуваними електродами, разом з контрольним біоматеріалом готували мазки замороженого еякуляту шляхом рівномірного

розподілу краплі біорідини на предметному склі. Частину препаратів висушували на повітрі, а іншу фіксували етанолом. Фарбування мазків проводили за методикою Лефлера (метиленовим синім), за Майн-Грюнвальдом (фіксація) зі забарвленням за Романовським розведеною (1/3) і нерозведеною фарбою. Пофарбовані препарати аналізували з імерсією під об'єктивом  $\times 1000$  з використанням мікроскопа «Carl Zeiss» (Німеччина).

## Результати дослідження та їх обговорення

Було встановлено, що в повітрі робочої зони після зварювання дослідним електродом «14–32» виявлено нанорозмірний манган ( $1,1 \text{ мкг/м}^3$ ), цинк ( $0,051 \text{ мкг/м}^3$ ), силіцій ( $0,06 \text{ мкг/м}^3$ ). Своєю чергою в пробах, відібраних після зварювання серійним електродом «Crystal», було виявлено нанорозмірний хром (VI) ( $1,0 \text{ мкг/м}^3$ ), цинк ( $0,02 \text{ мкг/м}^3$ ) і силіцій ( $0,05 \text{ мкг/м}^3$ ).

Слід зазначити, що в організмі субстратом реакцій перекисного окиснення ліпідів є ліпофільні сполуки, локалізовані в мембранах та інших ліпідних структурах, а ініціаторами — гідрофільні активні форми кисню, у подальшому розвитку процесу можуть брати участь проміжні ліпофільні радикальні продукти перекисного окиснення ліпідів [8]. Отже, фосфоліпідний склад визначає рідкокристалічні властивості й проникність мембрани. Мембрани забезпечують нормальну роботу білків транспортерів, ферментів, які каталізують процеси окиснення, клітинного дихання, окисного фосфорилування. Інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів залежить від ступеня пошкодження мембран біологічних об'єктів. Своєю чергою вибір сперматозоїдів великої рогатої худоби як тест-об'єкту зумовлений також і тим, що незважаючи на порівняно короткий період життя, їхні біологічні особливості (плазматична мембрана й акросома, що являють собою ліпопротеїдні та глікопротеїдні утворення, щільність упаковки білків і нуклеїнових кислот в ядрі, малий вміст води, низький рівень метаболізму в нерухомому стані) зумовлюють велику стійкість до зовнішніх впливів. З іншого боку, сперматозоїди більш чутливі до окисного стресу, ніж інші клітини, внаслідок маленького обсягу цитоплазми, низької концентрації антиоксидантів і ДНК-відновлювальних систем, а також великої кількості поліненасичених жирних кислот, що легко піддаються перекисному окисненню. Крім

того, структура сперматозоїдів така, що антиоксидантні ензими виявляються нездатними захистити клітинну мембрану на рівні хвоста та акросоми. Відповіддю статевої клітини на стрес є порушення низки найважливіших біохімічних процесів, у тому числі й функціонування мембранних структур, а також активація суїцидної програми — апоптозу. Апоптоз характеризується цілим набором стадіє-специфічних біохімічних змін, що відбуваються як в ядрі, так і в клітинній мембрані сперматозоїда, серед яких, наприклад, зміни в динаміці фосфоліпідів. Накопичення перекисів ліпідів у тканинах супроводжується руйнуванням молекулярної структури мембран. Також слід врахувати, що саме сперматозоїди бика використовуються в експрес-методі визначення цитотоксичності ЗА *in vitro*, який потребує використання серійного «Аналізатора зображень АТ-05» (РФ) [7].

Потенційну небезпеку нанорозмірних фракцій ТСЗА було оцінено за допомогою способу експрес-оцінки пошкоджуючої дії наноматеріалів за вмістом мембранних ліпідів сперматозоїдів бика *in vitro* [8]. Зазначений спосіб передбачає експонування гамет бика з наноматеріалами в глюкозо-цитратному буфері з наступним промиванням охолодженою трихлороцтовою кислотою (2,5 %), екстракцію фосфоліпідів з осаду за допомогою хлороформ-метанолової (2:1) суміші та визначення в отриманому екстракті фосфоліпідів (кількість яких залежить від ступеня пошкодження клітинних мембран).

Визначення оптичної густини отриманих фосфоліпідних екстрактів за довжини хвилі 540 нм свідчило на користь руйнування молекулярної структури мембран сперматозоїдів, що були експоновані нанофракціями ТСЗА досліджуваних електродів, та вивільнення фосфоліпідів (табл. 1).

Як видно з таблиці 1, оптична густина проби ТСЗА електрода «Crystal» була в 1,023 разу більшою, ніж така проби ТСЗА електрода «14–32». Ці дані кореспондують з результатами, отриманими в стандартному експрес-методі визначення цитотоксичності *in vitro*, в якому серійний електрод «Crystal» продемонстрував дещо гірші показники, ніж дослідний електрод «14–32» (індекс токсичності  $(47,81 \pm 4,70) \%$  і  $(64,03 \pm 2,20)$  відповідно: приблизно в 1,3 разу більшу цитотоксичність) (табл. 2). Як відомо, індекс токсичності ( $I_t$ ) дорівнює відношенню параметрів рухливості суспензії індикаторних клітин у дослідному зразку до параме-

Таблиця 1

## Оптична густина та коефіцієнт пропускання дослідного та контрольного екстрактів фосфоліпідів

Проба	Довжина хвилі, $\lambda$ , нм	Коефіцієнт пропускання, T, %	Оптична густина, A
Контрольний екстракт	540	$98,6 \pm 0,8$	$0,0085 \pm 0,0010$
Дослідний екстракт нанофракцій ТСЗА «Crystal»	540	$26,80 \pm 0,14$	$0,571 \pm 0,001$
Дослідний екстракт нанофракцій ТСЗА «14–32»	540	$27,7 \pm 0,1$	$0,558 \pm 0,002$

Таблиця 2

## Цитотоксичність дослідних марок електродів

Проба	Марка дослідних електродів	Покриття електродів	Індекс токсичності, %
1	«14–32»	Рутилове	$64,03 \pm 2,20$
2	«Crystal»	Рутилове	$47,81 \pm 4,70$

трів рухливості індикаторних клітин у контрольно-му зразку. У разі значень  $I_t$  у діапазоні 70–120 % дослідний розчин вважається нетоксичним.

Дані, отримані в експрес-тесті перекисного окиснення ліпідів, було підтверджено морфологічним аналізом аномалій сперматозоїдів, експонованих зварювальними матеріалами. Було відзначено збільшення кількості аномальних клітин і зниження частки морфологічно нормальних клітин порівняно з контролем (частка аномалій сперматозоїдів у контролі становила 22 %, у зразках, експонованих ТСЗА електрода «14–32» – 72 %, електрода «Crystal» – 86 %). Також звертала на себе увагу наявність залишкових тілець як у разі дії ТСЗА електрода «14–32», так і в разі дії ТСЗА електрода «Crystal», що, імовірно, є результатом загибелі сперматозоїдів унаслідок перекисного пошкодження мембран і наявності в них морфологічних аномалій (рис. 1).

Виявлені дефекти статевих клітин за дії досліджуваних нанорозмірних фракцій ТСЗА розвивали-

ся в різних відділах. Зокрема, серед дефектів сперматозоїдів найчастіше виявлялися аномалії головки та хвоста. Так, у голівці вони характеризувалися зміною її форми (грушовидна та трикутна), нахиланням, частою відсутністю акросомальної області або зменшенням її розміру, а також набряковими процесами. Дефекти хвоста характеризувалися його вкороченням, закрученням у петлю різних розмірів і в спіраль на всіх ділянках.

Характерною особливістю хвоста сперматозоїда є рухливість, де кінцевий відділ апарату руху представляє найважливішу його частину. Порушення в ньому гальмує рухливість або призводить до повної її відсутності (астенозооспермія). Зокрема, в експерименті аномалії закручення кінцевого відділу в петлю спостерігалися за дії обох досліджуваних зразків. Слід звернути особливу увагу на одночасне виявлення в різних відділах одного сперматозоїда подвійних і потрійних аномалій (рис. 2). Цей комплекс морфологічних аномалій сперматозоїдів

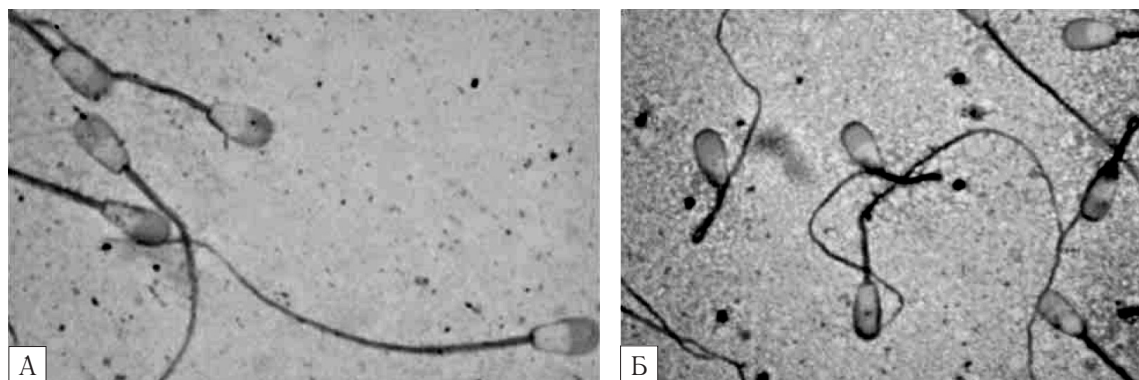


Рис. 1. Сперматозоїди бика:

А – контроль, Б – експоновані нанофракціями ТСЗА серійного електрода «Crystal» (наявність значної кількості залишкових тілець)

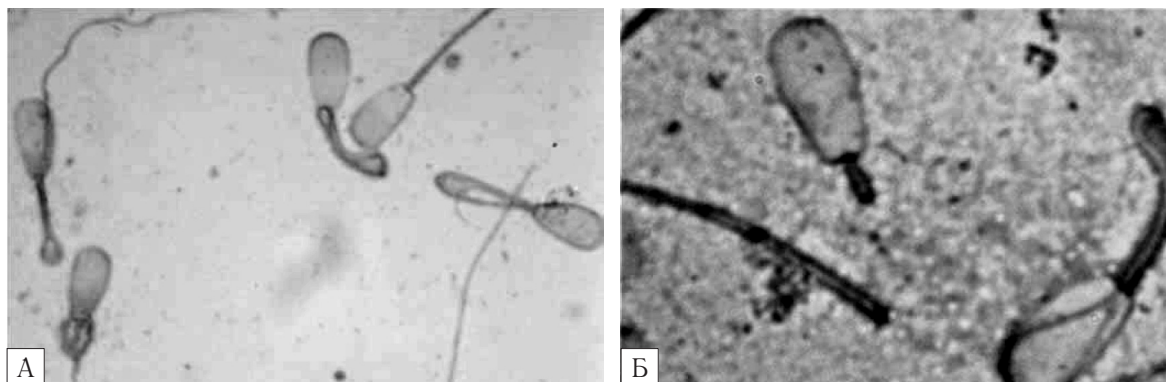


Рис. 2. Дефекти сперматозоїдів:

А – потрійні дефекти сперматозоїдів, експонованих нанофракціями ТСЗА електрода «Crystal» (голівка – набряк, нахил, зменшення акросомальної області; середня частина – набряк; хвіст – закручення в петлю середнього відділу).

Б – потрійні дефекти експонованих нанофракціями ТСЗА електрода «14–32» (голівка – набряк, відсутність акросоми; середня частина – потовщення; хвіст – вкорочення та набряк на всіх ділянках)

відображає зниження рухливої активності та функціональної повноцінності. Крім визначених аномалій сперматозоїдів спостерігалася їхня агрегація (скупчення), що свідчить про їхній патологічний стан, який супроводжувався набряком голівки, потоншенням хвоста тощо.

Своєю чергою дані попередніх досліджень біологічної дії нанофракцій ТСЗА досліджуваних електродів *in vivo*, зокрема, гістологічних досліджень через 1 місяць після одноразового інтра-трахеального введення щурам-самцям лінії Вістар (по 0,5 мл розчину нанофракцій ТСЗА, по 10 тварин у групі), показали, що в щурів, які були експоновані нанофракціями ТСЗА електрода «14–32», гістологічна будова легенів значимо не відрізнялася від контролю, натомість, тканина легенів щурів, які зазнавали дії на організм нанофракцій ТСЗА, що містив хром (VI), виявляли помітне венозне повнокров'я органа [9]. Натомість, при гістологічному дослідженні печінки щурів, які зазнавали дії нанофракцій ТСЗА електродів, що містять хром (VI), відмічали повне збереження характерної для органа трабекулярної будови, тоді як результати проведених гістологічних досліджень печінки щурів, які зазнавали дії на організм нанофракцій ТСЗА електрода «14–32», виявили в ній дистрофічні зміни гепатоцитів, що мали переважно дифузний характер. Разом з цим в органі за впливу нанофракцій ТСЗА «14–32» виявляли виражену гіперплазію та гіпертрофію зірчастих макрофагоцитів з ознаками їхньої вираженої дистрофії, яка, імовірно, розвивалася в клі-

тинах унаслідок збільшення їхньої функціональної активності, що може бути зумовлено впливом нанорозмірного мангану.

## Висновки

1. Встановлено, що нанофракції ТСЗА електродів з рутіловим типом покриття в досліджах *in vitro* спричиняють оксидативний стрес у тест-об'єкті, наслідком чого є руйнування біологічних мембран і вивільнення фосфоліпідів.
2. Встановлено, що експозиція тест-об'єкту нанофракціями ТСЗА, що утворилися внаслідок зварювання серійним зварювальним електроном «Crystal» і дослідним електроном з поліпшеними санітарно-гігієнічними характеристиками «14–32», що не містить хрому (VI), спричиняла морфологічні аномалії статевих клітин.
3. Дані, що отримані в експрес-методі визначення пошкоджуючої дії нанофракцій ТСЗА за вмістом мембранних фосфоліпідів і які було підтверджено за допомогою морфологічного дослідження тест-об'єкту, кореспондують з результатами експериментів *in vivo* та *in vitro*, в яких обидва досліджуваних електроди продемонстрували цитотоксичність і пошкоджуючу дію.
4. Запропонований спосіб експрес-оцінки суттєво знижує трудомісткість випробувань і може бути використаний як скринінговий у токсиколого-гігієнічних дослідженнях на етапі розробки та вдосконалення зварювальних матеріалів та/або зварювальної технології.

## Література

1. Welding fume nanoparticles from solid and flux-cored wires: Solubility, toxicity, and role of fluorides. Y. S. Hedberg, Z. Wei, S. Mc Carrick et al. *Journal of Hazardous Materials*. 2021. No. 413. P. 125273. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125273>.

2. Лубянова И. П. Избыточное железо и патология у рабочих сварочных профессий; за ред. Ю. И. Кундиева. Киев : ВД «Авіцена», 2013. 238 с.

3. A Field Study on the Respiratory Deposition of the Nano-Sized Fraction of Mild and Stainless Steel Welding Fume Metals. L. G. Cena, W. P. Chisholm, M. J. Keane, B. T. Chen *J. Occup. Environ. Hyg.* 2015. Vol. 12, No. 10. P. 721–728. <https://doi.org/10.1080/15459624.2015.1043055>.

4. Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models. H. Bahadar, F. Maqbool, K. Niaz, M. Abdollahi. *Iran. Biomed. J.* 2016. Vol. 20, No. 1. P. 1–11. <https://doi.org/10.7508/ibj.2016.01.001>.

5. Спосіб визначення наночастинок в повітрі робочої зони: пат. 72951 Україна № 201113770; Мовчан В. О., Сальнікова Н. А., Андрусишина І. М., Демещка О. В., Леоненко О. Б.; заявл. 23.11.2011; опубл. 10.09.2012, Бюл. № 17.

6. Спосіб експрес-оцінки пошкоджуючої дії наноматеріалів за вмістом мембранних ліпідів сперматозоїдів бика *in vitro*: пат. 148238 Україна № 202100234; Демещка О. В., Белюга О. Г., Мовчан В. О., Діденко М. М.; заявл. 22.01.2021; опубл. 21.07.2021, Бюл. № 29.

7. Спосіб експрес-оцінки токсичності зварювальних аерозолів *in vitro*: пат. 110801 Україна № 201603250; Демещка О. В., Леоненко Н. С., Мовчан В. О., Левченко О. Г., Лук'яненко А. О.; заявл. 29.03.2016; опубл. 25.10.2016, Бюл. № 20.

8. Wu W. T., Jung W. T., Lee H. L. Lipid peroxidation metabolites associated with biomarkers of inflammation and oxidation stress in workers handling carbon nanotubes and metal oxide nanoparticles. *Nanotoxicology*. 2021. Vol. 15, No. 5. P. 577–587. <https://doi.org/10.1080/17435390.2021.1879303>.

9. Toxic impact of nanofractions of solid component of welding fumes which formed during welding by high alloy electrodes with lower chromium content. S. P. Lugovskiy, A. Lukianenko, M. A. Primin, I. V. Nedayvoda. *Slovak international scientific journal*. 2020. Vol. 46, No. 1. P. 17–21.

**Демещка А. В.<sup>1</sup>, Мовчан В. А.<sup>1</sup>, Белюга А. Г.<sup>1</sup>, Діденко М. Н.<sup>1</sup>, Баля А. Г.<sup>2</sup>, Андрусишина І. Н.<sup>1</sup>, Леоненко О. Б.<sup>1</sup>**

## **ПОДХОДЫ К ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОПАСНОСТИ НАНОРАЗМЕРНЫХ ФРАКЦИЙ СВАРОЧНЫХ АЭРОЗОЛЕЙ**

<sup>1</sup> Государственное учреждение «Институт медицины труда имени Ю. И. Кундиева Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

<sup>2</sup> Высшая школа фармацевтических наук Нагойского университета, г. Нагоя, Япония

**Введение.** Воздействие сварочных аэрозолей (СА) остается серьезной проблемой даже в развитых странах с длинной историей улучшения условий производственной среды. СА состоит как из потенциально опасных газов, так и высокодисперсных наноразмерных частиц, которым присуща более выраженная биологическая активность и повреждающее действие. Скрининговая оценка сварочных материалов в методах *in vitro* позволяет получить предварительную информацию о потенциальной опасности, а также целесообразна с позиций биоэтики.

**Цель исследования** – разработать способ экспрес-оценки наноразмерных составляющих СА по показателям оксидативного стресса как основного механизма повреждающего действия наночастиц.

**Материалы и методы исследования.** Оценено повреждающее действие наноразмерных фракций твердой составляющей СА (ТССА), образовавшихся при сварке высоколегированными электродами с рутиловым видом покрытия (две марки). Химический состав проб воздуха изучали методом оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой с помощью спектрометра эмиссионного оптического с индуктивно связанной плазмой «Optima 2100» («Perkin-Elmer», США). Размер частиц определяли методом динамического рассеяния света с помощью прибора «Analysette 12 DynaSizer» (Fritsch, Германия). В качестве тест-объекта использовали сперматозоиды крупного рогатого скота (быка). Цитотоксичность оценивали с помощью способа экспрес-оценки токсичности СА *in vitro*. Оптическую плотность полученных фосфолипидных экстрактов определяли с помощью спектрофотометра ULAV 101UV при длине волны 540 нм. Покраску мазков проводили по методике Лефлера (метиленовым синим), по Майн-Грюнвальду (фиксация) с окраской по Романовскому разбавленной (1/3) и неразбавленной краской. Окрашенные препараты анализировали с иммерсией под объективом x1000 с использованием микроскопа «Carl Zeiss» (Германия).

**Результаты.** Нанодисперсии ТССА электродов с рутиловым типом покрытия в опытах *in vitro* приводили к оксидативному стрессу в тест-объекте, следствием чего являются морфологические аномалии, разрушение биологических

мембран и высвобождение фосфолипидов. Полученные данные корреспондируют с результатами экспериментов *in vivo* и *in vitro*, в которых оба исследуемых электрода продемонстрировали цитотоксичность и повреждающее действие.

**Выводы.** Предлагаемый способ экспресс-оценки СА существенно снижает трудоемкость испытаний и может быть использован в качестве скринингового в токсиколого-гигиенических исследованиях на этапе разработки и усовершенствования сварочных материалов и/или сварочной технологии.

**Ключевые слова:** сварочные аэрозоли, нанофракции, сварочные электроды, цитотоксичность, экспресс-оценка

**Demetska O. V.<sup>1</sup>, Movchan V. O.<sup>1</sup>, Beliuha O. G.<sup>1</sup>, Didenko M. M.<sup>1</sup>, Balia A. G.<sup>2</sup>,  
Andrusyshyna I. M.<sup>1</sup>, Leonenko O. B.<sup>1</sup>**

## **APPROACHES TO EXPRESS POTENTIAL HAZARD ASSESSMENT OF NANOSIZED FRACTIONS OF WELDING FUMES**

<sup>1</sup> State Institution «Kundiiev Institute of Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

<sup>2</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, Nagoya, Japan

**Introduction.** The impact of welding fumes (WF) remains a serious problem even in developed countries with a long history of improving the working environment. WF consists of both potentially dangerous gases and highly dispersed nanosized particles, nanosized particles, which are characterized by more pronounced biological activity and damaging effect. Screening evaluation of welding materials *in vitro* allows to obtain preliminary information on potential hazards, and is also appropriate from the standpoint of bioethics.

**The purpose of research** – according to the indicators of oxidative stress, as the main mechanism of damaging action of nanoparticles, to develop a method of rapid evaluation of nanoscale components.

**Materials and methods of research.** The damaging effect of nanosized fractions of solid components of WF (SCWF) formed during welding with high-alloy test electrodes with rutile coating was evaluated (two marks). The chemical composition of air samples was studied by inductively coupled plasma optical emission spectrometry using an optical emission spectrometer with an inductively coupled plasma Optima 2100 («Perkin-Elmer», USA). Particle size was determined by dynamic light scattering using the Analysette 12 DynaSizer (Fritsch, Germany). Cattle sperm were used as a test object. Cytotoxicity was assessed using the method of rapid assessment of the toxicity of WF *in vitro*. The optical density of the obtained phospholipid extracts was determined using a ULAB 101UV spectrophotometer at a wavelength of 540 nm. Smear staining was performed according to the Lefler method (methylene blue), Main-Grunwald method (fixation) with Romanovsky staining diluted (1/3) and undiluted paint. Stained specimens were analyzed by immersion under an x1000 lens using a Charles Zeiss microscope (Germany).

**Results.** Nanofractions of rutile-coated SCWF electrodes *in vitro* caused oxidative stress in the test object, resulting in morphological abnormalities, destruction of biological membranes, and release of phospholipids. The obtained data correspond to the results of *in vivo* and *in vitro* experiments, in which both studied electrodes showed cytotoxicity and damaging effect.

**Conclusions.** The proposed method of express assessment of WF's potential hazards significantly reduces the complexity of testing and can be used as a screening in toxicological and hygienic research at the stage of development and improvement of welding materials and/or welding technology.

**Key words:** welding fumes, welding electrodes, nanofractions, cytotoxicity, express assessment

## **References**

1. Hedberg, Y. S., Wei, Z., Mc Carrick, S. et al. (2021), «Welding fume nanoparticles from solid and flux-cored wires: Solubility, toxicity, and role of fluorides», *Journal of Hazardous Materials*, No. 413, pp. 125273. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125273>.

2. Lubyanova, I. P. (2013), *Excess iron and pathology in welding workers*; ed. Yu. I. Kundiev. Avicenna, Kiev, 238 p.

3. Cena, L. G., Chisholm, W. P., Keane, M. J., Chen, B. T. (2015), «A Field Study on the Respiratory Deposition of the Nano-Sized Fraction of Mild and Stainless Steel

Welding Fume Metals», *J. Occup. Environ. Hyg.*, Vol. 12, No. 10, pp. 721–728. <https://doi.org/10.1080/15459624.2015.1043055>.

4. Bahadar, H., Maqbool, F., Niaz, K., Abdollahi, M. (2016), «Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models», *Iran. Biomed. J.*, Vol. 20, No. 1, pp. 1–11. <https://doi.org/10.7508/ibj.2016.01.001>.

5. Movchan, V. O., Salmnikova, N. A., Andrusyshyna, I. M., Demetska, O. V., Leonenko, O. B. (2011), Method of determining nanoparticles in air of working zone. Patent of Ukraine № 72951 UA for a utility model. Application No. u201113770; stated 23.11.2011; publ. 10.09.2012, Bull. No. 17.

6. Demetska, O. V., Beliuha, O. G., Movchan, V. O., Didenko, M. M. (2021), Method for rapid evaluation of damaging effect of nanomaterials on the content of membrane lipids of bull sperm *in vitro*. Patent of Ukraine No. 148238 UA for a utility model. Application 20 u 2021 00234; stated 22.01.2021; publ. 21.07.2021, Bull. No. 29.

7. Demetska, O. V., Leonenko, N. S., Movchan, V. O., Levchenko, O. G., Lukyanenko, A. O. (2016), Method for rapid assessment of *in vitro* welding aerosol toxicity. Patent of Ukraine № 110801 UA for a utility model. Application No. u201603250; stated 29.03.2016; publ. 10.25.2016, Bull. No. 20.

8. Wu, W. T., Jung, W. T., Lee, H. L. (2021), «Lipid peroxidation metabolites associated with biomarkers of inflammation and oxidation stress in workers handling carbon nanotubes and metal oxide nanoparticles», *Nanotoxicology*, Vol. 15, No. 5, pp. 577–587. <https://doi.org/10.1080/17435390.2021.1879303>.

9. Lugovskiy, S. P., Lukianenko, A., Primin, M. A., Nedayvoda, I. V. (2020), «Toxic impact of nanofractions of solid component of welding fumes which formed during welding by high alloy electrodes with lower chromium content», *Slovak international scientific journal*, Vol. 46, No. 1, pp.17–21.

#### ORCID ID співавторів та їхній внесок у підготовку та написання статті:

Демецька О. В. (ORCID ID 0000-0002-8174-7813) – визначення розміру частинок твердої складової зварювальних аерозолів методом динамічного розсіювання світла; аналіз результатів дослідження, висновки;

Мовчан В. О. (ORCID ID 0000-0002-6712-7976) – відбір проб твердої складової зварювальних аерозолів для дослідження; оцінка цитотоксичності *in vitro*;

Белюга О. Г. (ORCID ID 0000-0001-9445-9469) – відбір проб твердої складової зварювальних аерозолів для дослідження; визначення оптичної густини фосфоліпідних екстрактів;

Діденко М. М. (ORCID ID 0000-0002-2540-2685) – морфологічні дослідження тест-об'єкту;

Баля А. Г. (ORCID ID 0000-0002-1443-6572) – аналіз міжнародної патентної бази, аналіз результатів дослідження;

Андрущишина І. М. (ORCID ID 0000-0001-5827-3384) – вивчення хімічного складу проб повітря методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою;

Леоненко О. Б. (ORCID ID 0000-0002-9576-6302) – аналіз результатів дослідження, висновки, підготовка статті до друку.

*Інформація щодо джерел фінансування дослідження:* дослідження виконано за темою «Розробка наукових підходів щодо експрес-оцінки небезпеки нанорозмірних складових зварювальних аерозолів», № державної реєстрації 0119U100267.

*Надійшла:* 11 травня 2022 р.

*Прийнята до друку:* 31 травня 2022 р.

**Контактна особа:** Демецька Олександра Віталіївна, провідний науковий співробітник, лабораторія медико-біологічних критеріїв професійних впливів та гігієни праці у зварювальному виробництві, ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва НАМНУ», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 506 378 108. Електронна пошта: dalexandra@ukr.net