

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач випускової кафедри
_____ М. М. Барановський
«_____» _____ 2020 р.

ДИПЛОМНА РОБОТА

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА
ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»

Тема: «Порівняння впливу екстракту кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на різні типи ракових клітин»

Виконавець: студентка 205-м ФЕБІТ

Гусєва О. А.

Керівник: д. с.-г. н., професор

Барановський М. М.

Консультант розділу «Охорона праці»:

Павлиш В. Д.

Консультант розділу

«Охорона навколишнього середовища»:

Рябчевський О. В.

Нормоконтролер:

Дражнікова А. В.

КИЇВ 2020

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ Барановський М.М.

«___» _____ 2020 р.

ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Гусєвої Олександри Андріївни

1. Тема дипломної роботи: «Порівняння впливу екстракту кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на різні типи ракових клітин» затверджена наказом ректора від « 15 » вересня 2020 р. № 1657 /ст.
2. Термін виконання роботи: з 05 жовтня по 23 грудня 2020 р.
3. Вихідні дані роботи: власні експериментальні дані, зроблені на базі ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА» в департаменті наукових досліджень та розробок; сухі та свіжі зразки кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) зібрані в Чернігівській області, ракова клітинна лінія WISH, ракова клітинна лінія NFS-60, літературні джерела щодо біологічно активних сполук та фармакологічних властивостей кульбаби лікарської, техніки екстрагування, типів ракових клітин.
4. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП; РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД; РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ; РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ; РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ; РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА; ВИСНОВКИ; СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.

5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: 21 рисунок, 16 таблиць.
6. Календарний план-графік

№	Завдання	Термін виконання
1	Узгодження змісту дипломної роботи з керівником	05.10.20
2	Підбір літератури за темою дипломної роботи: «Вплив екстракту кульбаби лікарської (<i>Taraxacum officinale</i>) на різні типи ракових клітин»	06.10.20
3	Написання першого та другого розділів дипломної роботи	07.10.19 – 21.10.20
4	Систематизація отриманого матеріалу та написання третього розділу дипломної роботи	22.10.20 – 01.11.20
5	Оформлення результатів дослідження	02.11.20 – 05.11.20
6	Написання розділів «Охорона праці» та «Охорона навколишнього середовища»	06.11.20 – 27.11.20
7	Написання висновків та рекомендацій	28.11.20 – 30.11.20
8	Перевірка дипломної роботи керівником	01.12.20 – 07.12.20
9	Попередній захист дипломної роботи	10.12.20
10	Захист дипломної роботи	23.12.20

7. Консультація з окремих розділів:

Назва розділу	Консультант (посада, П.І.Б)	Дата, підпис	
		Завдання видав	Завдання прийняв
Охорона праці			
Охорона навколишнього середовища			

8. Дата видачі завдання «05» жовтня 2020 р.

Керівник дипломної роботи _____ /Барановський М. М./
(підпис керівника)

Завдання прийняв до виконання _____ /Гусєва О.А./
(підпис випускника)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Порівняння впливу екстракту кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на різні типи ракових клітин»: 80 с., 21 рис., 16 табл., 65 літературних джерел.

Об'єкт дослідження: вплив екстрактів кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на ракові клітини.

Предмет дослідження: водні екстракти кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*), ракова клітинна лінія WISH, ракова клітинна лінія NFS-60.

Мета дипломної роботи: порівняти вплив екстрактів вегетативних органів кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на різні типи ракових клітинних ліній.

Методи дослідження: мікробіологічні, фізико-хімічні, аналітичні, статистичні.

Матеріали дипломної роботи рекомендується використовувати під час проведення наукових досліджень і в практичній діяльності біотехнологів та лікарів як один із методів лікування та профілактики онкологічних захворювань.

ЕКСТРАКЦІЯ, *TARAXACUM OFFICINALE*, БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ, ПРОТИВОРАКОВА АКТИВНІСТЬ, КЛІТИННА ЛІНІЯ WISH, КЛІТИННА ЛІНІЯ NFS-60

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	10
1.1. Основні ознаки та характеристики кульбаби лікарської (<i>Taraxacum officinale</i>).....	10
1.2. Біологічно активні речовини та їх роль	13
1.3. Фармакологічні властивості та використання в медицині.....	17
1.4. Екстракція як метод виділення біологічно активних речовин.....	20
1.4.1. Мацерація.....	21
1.4.2. Перколяція	23
1.5. Характеристика та типи ракових клітин	25
1.6. Висновки до розділу.....	31
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	33
2.1. Матеріали дослідження.....	33
2.1.1. Рослинний матеріал.....	33
2.1.2. Ракові клітинні лінії.....	33
2.2. Методи дослідження	36
2.2.1. Технологія приготування екстрактів кульбаби лікарської.....	36
2.2.2. Технологія перевірки протиракової активності.....	38
2.2.2.1. Постановка експерименту для клітинної лінії WISH	38
2.2.2.2. Постановка експерименту для клітинної лінії NFS-60.....	40
2.3. Висновки до розділу.....	41
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	42
3.1. Порівняння впливу екстрактів кульбаби лікарської на ракові клітинні лінії.....	42
3.2. Висновки до розділу.....	52
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ.....	54

4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори в лабораторії біологічного контролю	54
4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів в лабораторії біологічного контролю	56
4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки в лабораторії біологічного контролю	60
4.4. Висновки до розділу.....	61
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА.....	63
5.1. Фактори навколишнього середовища спричинені впливом антропогенної діяльності, що потенційно впливають на розвиток ракових пухлин	63
5.2. Висновки до розділу.....	71
ВИСНОВКИ	72
СПИСОК БІБЛЮГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ..	74

ВСТУП

Актуальність. Випадки смертності та поширеності основних видів раку в країнах світу з кожним роком зростають з геометричною прогресією. За прогнозами, до 2030 року щороку буде 26 мільйонів нових випадків раку та 17 мільйонів смертей від раку, а це означає, що кількість онкологічних хворих становитиме близько 70 %.

Сьогодні, незважаючи на значні зусилля, рак все ще залишається агресивним вбивцею у всьому світі. Більше того, протягом останнього десятиліття нові синтетичні хіміотерапевтичні засоби, які зараз використовуються клінічно, не змогли здійснити сподівання, незважаючи на значні витрати на їх розробку. Тому існує постійний попит на розробку нових, ефективних та доступних за ціною протипухлинних препаратів.

З самого початку античної медицини хімічні сполуки, отримані з рослин, використовувались для лікування захворювань людини. За останні 30 років природним продуктам приділяється все більше уваги щодо їх потенціалу як нових профілактичних та терапевтичних засобів проти раку.

Дуже швидко зростає кількість доказів потенціалу сполук рослинного походження як інгібіторів різних стадій канцерогенезу та пов'язаних із ними запальних процесів, що підкреслює важливість цих продуктів у профілактиці та терапії раку.

Фітотерапія повністю не може замінити такі звичні методи лікування як хіміотерапія та променева терапія, або ж хірургічне втручання. Однак, може бути використана як один із допоміжних засобів.

Приблизно 60 % ліків, які в даний час використовуються для лікування раку, були виділені з натуральних продуктів, і рослинне царство є найважливішим джерелом. Сюди входять алкалоїди, флаваноїди, дитерпени, лігнани тощо. В даний час із 16 нових сполук рослинного походження, що випробовуються в клінічних випробуваннях, 13 перебувають у фазі I або II, а три – у фазі III [1].

Лікарські рослини є загальною альтернативою лікування раку у багатьох країнах світу. Такі лікарські засоби мають ряд переваг, оскільки вони є більш доступними, мають менший ризик розвитку алергічної реакції та містять біологічно активні речовини (БАР), які покращують загальний стан організму людини.

У поточному дослідженні ми вивчали вплив кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на ракові клітинні лінії WISH та NFS-60.

Кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*) – багаторічна трав'яниста рослина сімейства Айстрові (*Asteraceae*). Через надзвичайно різноманітну кількість біологічно активних речовин, її препарати у вигляді водних екстрактів, настоїв, настоянок та відварів використовуються для лікування та профілактики різних захворювань, включаючи хвороби печінки, жовчного міхура, шлунково-кишкового тракту, нирок і сечового міхура, шкіри, діабету, і навіть раку.

На сьогодні існує багато досліджень, які доводять можливість використання екстрактів кульбаби лікарської при лікуванні онкологічних захворювань. Однак, у зв'язку з обмеженою доступністю до наукових даних стосовно протипухлинної дії кульбаби лікарської та прогресивним збільшенням смертності від раку, подальші дослідження з метою пошуків альтернативних методів лікування є на сьогодні більш як актуальними.

Мета роботи: порівняти вплив екстрактів вегетативних органів кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на різні типи ракових клітинних ліній.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі **завдання**:

1. Проаналізувати літературні дані щодо особливостей будови, біологічно активних речовин та фармакологічних властивостей кульбаби лікарської.
2. Дати характеристику особливостей будови та типів ракових клітин.
3. Дослідити та описати технологію екстракції біологічно активних речовин кульбаби лікарської.
4. Визначити та порівняти відсоток живих ракових клітин WISH та NFS-60 після впливу екстрактів.

Об'єкт дослідження: вплив екстракту кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на ракові клітини.

Предмет дослідження: водні екстракти кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*), ракова клітинна лінія WISH, ракова клітинна лінія NFS-60.

Методи дослідження: мікробіологічні, фізико-хімічні, аналітичні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше визначено вплив екстрактів кульбаби лікарської на епітеліальні клітини амніону людини (WISH) та клітини мієлобластів мишей (NFS-60).

Практичне значення отриманих результатів. Робота дає змогу оцінити та порівняти вплив екстрактів лікарської рослинної сировини, а саме коренів та трави кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на інгібування росту епітеліальних клітин амніону людини (WISH) та клітин мієлобластів мишей (NFS-60).

Матеріали дипломної роботи рекомендується використовувати під час проведення наукових досліджень і в практичній діяльності біотехнологів та лікарів як один із методів лікування та профілактики онкологічних захворювань.

Особистий внесок випускника. Весь обсяг експериментальних досліджень за темою дипломної роботи, аналіз літературних даних, статистична обробка та опис отриманих результатів. Дослідження виконане випускником на базі ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА» в департаменті наукових досліджень та розробок.

РОЗДІЛ 1

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Основні ознаки та характеристика кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*)

Вперше родова латинська назва *Taraxacum* була знайдена в працях вчених-ботаніків Леонхарда Фукса і Конрада Геснера ще в XVI столітті. Існує декілька версій її походження. За однією з версій, воно походить від арабського слова «tarachacum» – назва одного з видів цикорію, за іншою – від грецького «taraxis» – хвороба очей і «akeomai» – лікувати. Деякі пов'язують слово *Taraxacum* з грецьким «tarassein» – заспокійливий [2].

Українська назва «кульбаба» утворилась від стародавньої форми «кульбава», яка походить від слов'янського «кульбава květka» – квітки, здатної до згинання [3].

Англійська назва «dandelion» – це запозичення із французького «dent de leon», що означає «левиний зуб» [4].

Опис. *Taraxacum officinale* (кульбаба лікарська) – це квітуча трав'яниста багаторічна рослина роду *Taraxacum*, сімейства Айстрові (*Asteraceae*). Офіційна наукова класифікація представлена в таблиці 1.1.

Таблиця 1.1

Наукова класифікація

Розділ	Назва
Домен	Еукаріота (<i>Eukaryota</i>)
Царство	Рослини (<i>Viridiplantae</i>)
Розділ	Вищі рослини (<i>Streptophyta</i>)
Клас	Еудікоти (<i>Eudicots</i>)
Підклас	Айстериди (<i>Asterids</i>)
Порядок	Айстроцвіті (<i>Asterales</i>)

Родина	Айстрові (<i>Asteraceae</i>)
Рід	<i>Taraxacum</i>
Вид	<i>Taraxacum officinale</i>

Кульбаба (рис. 1.1) може досягати в висоту 5-50 см, з довгим, вертикальним, нерозгалуженим, зовні червонувато-коричневим, а всередині білим коренем (20-60 см в довжину і 1-2 см у діаметрі) та молочним соком (латексом) [4].



Рис. 1.1. Кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*) – загальний вид

Має великі, горизонтальні або висхідні, від світло- до темно-зеленого кольору листя (5-40 см завдовжки), зібрані в розетку біля основи рослини і глибоко зазубрені. Ламіна – обланцетоподібна, 6-40 см завдовжки і 0,7-15 см завширшки, мінливо опушена або гола, майже чітко черешкова або звужується до крилатого черешка; черешок зелений, часто відтінково-фіолетовий.

Квіткові стебла (стрілки) пластинчасті, круглі, безлисті, вгорі і на кінці мають павутинки з поодинокими кошиками, довжиною 10-40 см.

В середньому на кожній рослині розвивається 5-10 квіток. Діаметр суцвіття становить від 7 до 15 мм і складається з 140-400 жовтих, язичкових квіточок. Усі квітки язичкові, двостатеві, однорідні, з жовтими або оранжево-жовтими віночками,

мають п'ять тичинок з пиляками, зрощеними в трубочку, одну зеленувату або жовтувату маточку з двома розпростертими рильцями [4, 5, 6].

Плоди (рис. 1.2), що називаються ципселями, завдовжки 3 мм, вузькоподібні, ребристі, від оливково-зеленого або оливково-коричневого до сіруватого кольору, з тонкими дзьобами, увінчаними шовковисто-білим папрусом [4].



Рис. 1.2. Плід кульбаби лікарської

Кульбаба лікарська поширена в помірних та суб-помірних поясах, де зустрічається на узбіччях доріг, на берегах водних шляхів, на полях, на луках та в інших областях з вологим ґрунтом на висоті 1000 м над рівнем моря.

Це витривала рослина, посухостійка та морозостійка, переносить температуру до -29°C . Росте на всіх типах ґрунтів від піщаних дюн, добре дренованих та багатих гумусом лужних або нейтральних ґрунтів до густих глин. *Taraxacum officinale* вважається бурянистим видом, що зустрічається на рудеральних ділянках, газонах та трав'янистих місцях [4].

Згідно Державної фармакопеї України [7] для лікувальних цілей використовують коріння (*Radix Taraxaci*), трави (*Herba Taraxaci*) та листя (*Folia Taraxaci*). Коріння кульбаби збирають восени, коли листя відсихає. Їх промивають в холодній воді, сушать на сонці або в теплому, добре провітрюваному приміщенні,

розподіляючи тонким шаром (3-5 см) на тканині або папері. Штучне сушіння проводять при температурі 40-50 °С.

Траву збирають під час цвітіння рослини. Її сушать таким чином, як і коріння. Листя кульбаби використовують у свіжому вигляді для приготування салатів (лише молоде листя, зібране до цвітіння рослини) [6].

1.2. Біологічно активні речовини та їх роль

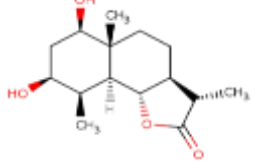
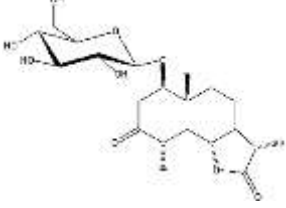
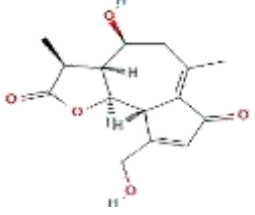
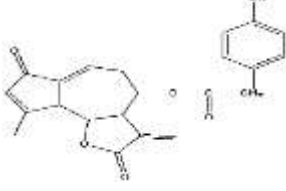
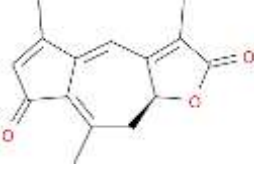
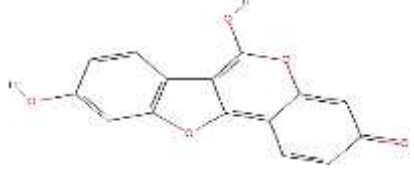
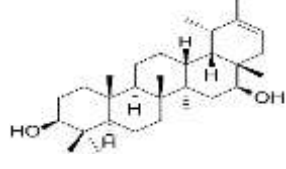
Хімічний склад кульбаби лікарської налічує безліч біологічно активних речовин. Так, наприклад, коріння кульбаби містять гіркі речовини, які за своєю хімічною будовою належать до сесквітерпенів (4 α ,11 β ,13,15-тетрагідроридентин В; тараксолід-О- β -глюкопіранозид; 11 β ,13-дигідролактуцин; лактокопикрин; глікозид 13-дигідротараксинова кислота), і гіркі глікозиди тараксацин (до 10%) і тараксацерин [8].

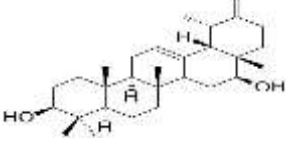
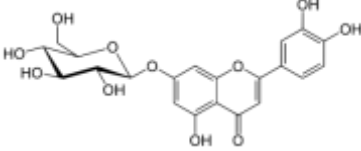
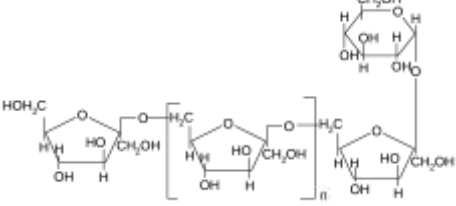
Крім того, коріння кульбаби містять тритерпенові сполуки (тараксерол, тараксол, тараксастерол, α -амірин, фарадіол, аридїол, андростерол, ін.), стерини (β -ситостерин, стигмастерин, андростерол, гомоандростерол, гомотраксастерин), флаваноїди (космозин та лютеолін-7-глюкозид), білки (15%), вуглеводи (глюкоза, фруктоза, сахароза (до 20%), фруктозани, інулін (до 40%)), ефірні олії (гліцериди лінолевої, олеїнової, пальмітинової та інших жирних кислот), каучук (до 3%), органічні кислоти, смоли, слиз тощо [4, 8, 9].

Коріння також містять: золу - 10,58 %; макроелементи (мг/г): К – 12,90, Са – 6,40, Mn – 1,40, Fe – 0,90; та мікроелементи (СВА) Mg – 0,14, Cu – 0,61, Zn – 0,74, Со – 0,11, Мо – 0,60, Cr – 0,35, Al – 0,65, Ва – 0,12, V – 0,34, Se – 1,50, Ni – 0,39, Sr – 0,45, Рb – 0,01, I – 0,06, Br – 0,90. Такі елементи, як Cd, Li, Au, Ag не знайдені [9].

У суцвіттях і листках рослини є каротиноїди (тараксантин і флавоксантин), тритерпенові сапоніни (арнідіол і фарадіол), флавоноїди та вітаміни (групи В, С, D, Е, К, РР) [6, 10], тирозиназа та сапоніни (листя). Так, 100 грам зеленого листя кульбаби містить 55-60 мг вітаміну С, 7-8 мг вітаміну Е та 6-7 мг каротину (табл. 1.2) [5, 11].

Біологічно активні речовини (БАР) кульбаби лікарської

№	Назва речовини	Структурна формула
1	Тетрагідроридентин В	
2	Тарксолід-О-β-глюкопіранозид	
3	11β,13-дигідролактуцин	
4	Лактопикрин	
5	Тараксин	
6	Тараксацерин	
7	Фарадіол	

8	Арнідіол	
9	Лютеолін-7-глюкозид	
10	Інулін	

Оскільки вміст інуліну в коренях кульбаби досягає близько 40 %, його можна розглядати як один із факторів інгібування ракових клітин.

Інулін це не засвоюваний вуглевод, який належить до класу фруктанів. Структурна формула наведена в таблиці 1.2.

Вперше інулін був відкритий в 1804 році німецьким хіміком і фармацевтом Валентином Роузом. Він виділив цю речовину з коріння *Inula helenium* екстракцією окропом [12].

Інулін представлений як запасний вуглевод у складноцвітів, таких як топінамбур (*Helianthus tuberosus*), цикорій (*Cichorium intybus*), кульбаби (*Taraxacum spp.*), лопух (рід *Arctium*) та інші [13].

Кількість інуліну в рослині змінюється залежно від сезону, але найбільше його спостерігається восени. Так, у корінні кульбаби та цикорію кількість інуліну сягає до 40%. Коріння лопуха містять 45% інуліну, топінамбур – 50%.

Інулін гідролізується в рослинних тканинах під дією ферменту інулази (інулінази). В результаті гідролізації утворюється фруктоза. Фермент інулаза в основному активується під час проростання бульб і кореневищ. Інулін легко розчиняється у воді. Однак, коли до водного розчину інуліну додають спирт,

полісахарид випадає в осад. Цей метод застосовується для отримання чистого інуліну з рослинної сировини та отримання фруктози [14].

Інулін також легко засвоюється організмом людини. Він використовується як функціональний харчовий інгредієнт. Інулін використовувався для заміщення жиру та цукру, зменшення калорійності молочних продуктів, кондитерських та хлібобулочні виробів [15].

Інулін рекомендований для вживання діабетикам, оскільки він знижує рівень глюкози в крові. Він впливає на метаболізм ліпідів – холестерину, тригліцеридів та фосфоліпідів у крові. Зміцнює імунну систему організму та зменшує ризик розвитку серцево-судинних захворювань. Крім того, інулін має імуномодулюючу та гепатопротекторну дію та запобігає онкологічним захворюванням [16].

Також багато досліджень, проведених на тваринах, припускають, що інулін може відігравати певну роль у профілактиці та пригніченні раку товстої кишки, раку молочної залози та росту пухлин [17, 18, 19].

Дослідження показують, що симбіотична композиція інуліну, збагаченого олігофруктозою, у поєднанні з *Lactobacillus rhamnosus* та *Bifidobacterium lactis* здатна зменшити ризик розвитку раку товстої кишки у людей. Подальші дослідники виявили, що інулін і синергія є більш корисними порівняно з олігофруктозою, оскільки довголанцюгові молекули потребують більше часу для ферментації в товстій кишці, таким чином поширюючи свій вплив на дистальну кишку. Звичайно, дрібні олігомери заздалегідь ферментуються в проксимальній кишці і тому не можуть дістатися до дистальної кишки. Інулін та синергія діють, як правило, при прогресуванні раку, зменшуючи кількість та масу уражень, а також знижуючи ймовірність розвитку цих уражень до злоякісних новоутворень. Тому інулін та олігофруктоза допомагають у профілактиці онкогенезу.

Ці два механізми пояснюють корисну роль інуліну в модуляції мікрофлори товстої кишки, зміні складу коротколанцюгових жирних кислот; особливо збільшення виробництва бутиратів за рахунок анаеробного бродіння. Такі фруктани, як інулін, покращують і сприяють розвитку імунної системи шлунково-кишкового тракту, зокрема кишкової стійкості [20].

1.3. Фармакологічні властивості та використання в медицині

Фармакологічні властивості кульбаби лікарської визначаються її хімічною складовою.

Корінь кульбаби, що містить гіркі речовини (10%), стимулює апетит і покращує діяльність шлунково-кишкового тракту. Механізм дії полягає у здатності біологічно активних речовин кульбаби дратувати смакові рецептори ротової порожнини, тим самим породжуючи рефлекторне посилення секреції шлункового соку та секрету з інших травних залоз [6]. Крім цього, він також має жовчогінні, сечогінні та проносні властивості.

Корінь і траву кульбаби застосовують при захворюваннях печінки, жовчного міхура, жовчнокам'яної хвороби, жовтяниці, гастриті, коліті та при геморої. Одну чайну ложку дрібно нарізаного кореня заварюють як чай [10]. Корінь кульбаби також входить до складу багатьох зборів, які впливають на функцію залоз внутрішньої секреції та обмінні процеси [21].

У Стародавній Греції лікарі рекомендували сік кульбаби для зменшення веснянок і пігментних плям на шкірі. У Німеччині XIX століття його застосовували як заспокійливий та снодійний засіб. У російській народній медицині кульбаба вважалася «життєвим еліксиром» і застосовувалась для лікування багатьох хворіб [9].

У Болгарії свіже листя і сік кульбаби застосовують при атеросклерозі, анемії, гіповітамінозі аскорбінової кислоти, захворюваннях шкіри, печінки, жовчного міхура, для лікування травного тракту [10].

Настоянки готують при болях у животі, екземі, венеричних захворюваннях; відвар – при гіпацидному гастриті, хронічних запорах, туберкульозі легенів, геморої, шкірних захворюваннях. Також його можна застосовувати зовнішньо у вигляді примочок при захворюваннях очей.

Настій часто застосовують зовні при опіках, обмороженнях, виразках, пролежнях, гнійних ранах.

Молочний сік рослини використовується для видалення мозолів і бородавок. Сік свіжих коренів використовується для змазування місць укусів комахами та бджолами [9, 22].

З косметичною метою для лікування прищів рекомендується приймати настій кореня (1:60) протягом 2-3 тижнів по 1/4 склянки тричі на день. Корінь кульбаби входить до складу лосьйону проти прищів, що випускається промисловістю [5].

Кульбаба містить бета-каротин, який є антиоксидантом, що допомагає захистити клітини від пошкодження. Дослідження показують, що такі каротиноїди, як бета-каротин, відіграють життєво важливу роль у зменшенні пошкодження клітин. Квітка кульбаби також повна поліфенолів, які є іншим видом антиоксидантів.

Кульбаба містить біоактивні сполуки, які можуть допомогти знизити рівень холестерину в людині. Одне дослідження вивчало наслідки споживання кульбаби у кроликів. Його результати показали, що корінь і листя кульбаби можуть допомогти знизити рівень холестерину у тварин, які харчуються з високим вмістом холестерину. Інше дослідження на мишах показало, що споживання кульбаби знижує загальний рівень холестерину та рівень жиру в печінці.

Деякі дослідження показують, що екстракти та сполуки кульбаби можуть допомогти зменшити запалення в організмі. В одному з дослідів науковці виявили, що хімічні речовини, що містяться в кульбабі, мали певний позитивний вплив на зменшення запальних реакцій. Вони проводили дослідження в клітинах, а не за участю людей, а це означає, що необхідні додаткові дослідження, щоб зробити висновок, що кульбаба зменшує запалення в організмі людини.

Кульбаба лікарська є хорошим джерелом калію. Існують клінічні дані, які показують, що калій може сприяти зниженню артеріального тиску. Наприклад, дослідження показали, що люди, які приймають добавки калію, спостерігали зниження артеріального тиску, особливо якщо вони вже деякий період часу мали високий кров'яний тиск.

Деякі дослідники припускають, що кульбаба може допомогти людям досягти своїх цілей щодо схуднення. Це базується на здатності рослини покращувати вуглеводний обмін і зменшувати засвоєння жиру. Невелике дослідження на мишах

показало, що хлорогенова кислота, що міститься в кульбабах, може допомогти зменшити збільшення ваги та затримку ліпідів. Однак відсутні вагомі докази, що підтверджують це твердження.

З'являється все більше доказів того, що кульбаби можуть сприяти зміцненню імунної системи. Дослідники встановили, що кульбаби проявляють як противірусні, так і антибактеріальні властивості. Наприклад, одне дослідження показало, що кульбаби допомагають обмежити ріст гепатиту В як у клітинах людини, так і тварин у пробірках [23].

Є дослідження, які доводять можливість використання екстрактів кульбаби при лікуванні раку. Встановлено, що водні екстракти кульбаби мають протипухлинну активність проти лейкозів, колоректальних та підшлункових клітинних ліній.

Виявлено протиракову дію водних екстрактів *Taraxacum officinale* через секрецію TNF- α та IL-1 α у клітинах HepG2 [24]. Також було встановлено, що водні екстракти коренів та листя *T. officinale* впливають на ріст та інвазію клітин раку молочної залози та передміхурової залози [25].

Дослідження *in vitro* показують протиракову активність водного екстракту кореня кульбаби проти моделей клітин раку товстої кишки. Після проведення фітохімічних аналізів у складі екстракту виявлено α -амірин, β -амірин, лупеол та тараксастерол [26]. Окрім цього водні екстракти коренів кульбаби індукують селективний апоптоз агресивних та стійких ракових клітин підшлункової залози [27].

Протипухлинна активність екстрактів коренів кульбаби була продемонстрована на клітинах хронічного мієломоноцитарного лейкозу людини (ХММЛ) [28].

Екстракти *Taraxacum officinale* також індукують апоптоз та інгібують міграцію та інвазію клітинних ліній нейробластоми [29]. Недавні дослідження виявили, що екстракти кульбаби пригнічують проліферацію клітин і індукують апоптоз у клітинних лініях раку яєчників людини [30], а етанольний екстракт листя кульбаби – у стовбурових клітинах раку шийки матки [31].

1.4. Екстракція як метод виділення біологічно активних речовин

Екстракція лікарської рослинної сировини широко використовується при виробництві різних препаратів природних сполук. Це один із найдавніших способів вилучення біологічно активних сполук.

Існує декілька способів класифікації методів екстрагування. Так за характером процесу методи виділення біоактивних речовин класифікуються на: статичні та динамічні. При статичних методах сировину періодично наповнюють екстрагентом протягом певного часу. Динамічна екстракція передбачає постійну зміну екстрагента або сировини.

За періодичністю процесу розрізняють періодичні методи – коли подача сировини (екстрагенту та/або рослинного матеріалу) до екстракційного апарату здійснюється періодично, і безперервні – з постійною подачею сировини.

Відповідно до досягнення рівноважного стану методи екстракції поділяються на рівноважні та нерівноважні. За кількістю стадій рівноваги розрізняють одностадійні та багатоступеневі методи.

За напрямком потоку екстрагента та сировини бувають прямоточні (в одному потоці) та протиточні (активний рух екстрагенту та рослинного матеріалу назустріч один одному) види екстракції.

Статичні періодичні методи включають одностадійну мацерацію та багатоступеневу ремацерацію, циркуляцію з періодичним розрядом (багатоступеневий прямий потік), а також реперколяцію з періодичним розрядом Чулкова (багатоступеневий протиток).

До динамічних періодичних методів належать одностадійні – перколяція та багатоступеневі – реперколяція з повними та неповними циклами, екстракція циркуляції.

Вибір способу екстракції визначається ефективністю виробництва і залежить від властивостей екстрагента та рослинної сировини [32, 33].

Основні фактори, що впливають на повноту і швидкість екстрагування включають: гідродинамічні умови, поверхня розділу фаз (F), різниця концентрацій,

час (тривалість) екстрагування, в'язкість екстрагенту, температура, додавання поверхнево-активних речовин (ПАР), вибір екстрагенту, пористість сировини, коефіцієнт вимивання, вплив вібрацій, пульсацій, подрібнення і деформації сировини в середовищі екстрагенту, вплив електроімпульсних розрядів [33].

1.4.1. Мацерація

Ще з давніх давен для отримання настоянок широко використовувався метод мацерації (від лат. *Maceratio* – замочування), або настоювання. Однак останнім часом його використання поступово скорочується, оскільки при екстракції цим методом важко досягти повного вилучення біологічно активних речовин із рослинної сировини.

Процес мацерації виконується таким чином. Сировину подрібнюють та разом з вказаною кількістю екстрагенту завантажують у мацераційний бак, де настоюють при температурі 15-20 °С, періодично перемішуючи. Даний процес (інфузія) триває протягом 7 днів (якщо не вказані інші терміни). Після цього екстракт зливають, а залишок віджимають. Далі екстракт промивають невеликою кількістю екстрагенту і знову пресують. Пресований екстракт додають до попередньої інфузії, після чого об'єднаний екстракт доводять екстрагентом до необхідного об'єму.

Цей спосіб має ряд переваг і недоліків. Перевагою цього методу є простота способу та обладнання. Недоліками є: неефективне, неповне вилучення активних речовин, час процесу, високий вміст баластних речовин в екстрактах (пектини, слиз, білки та ін.), трудомісткість (подвійне пресування та миття їжі). Саме тому з метою вдосконалення процесу вилучення матеріалу його проводять за допомогою дробної мацерації (ремацерації), мацерації з примусовою циркуляцією екстрагенту, вихрової екстракції (турбоекстракції), ультразвуку тощо.

Ремацерація, або дробна мацерація відбувається з поділом на декілька частин екстрагенту, або сировини та екстрагенту. За даній методиці екстрагент ділиться на 2-4 частини, а сировина згодом екстрагується з кожною частиною. Наприкінці всі отримані екстракти поєднують. Періодична зміна екстрагенту дозволяє підтримувати

різницю в концентраціях протягом усього процесу і, отже, швидкість дифузії. Час настоювання залежить від властивостей рослинного матеріалу.

Таке проведення процесу екстрагування дозволяє при менших витратах часу повніше виснажити сировину, так як постійно підтримується висока різниця концентрацій у сировині та екстрагенті.

Для інтенсифікації мацераційного процесу ефективно застосування ультразвукових коливань. При цьому прискорюється екстрагування і досягається повнота витягу діючих речовин. Джерело ультразвуку поміщають в оброблюване середовище або кріплять до корпусу мацераційного бака в місці, заповненому екстрагентом і сировиною.

Найбільший ефект від впливу ультразвуку виявляється тоді, коли клітина матеріалу, що екстрагується, добре просочена ультразвуком екстрагентів. Виникаючі ультразвукові хвилі створюють закономірний тиск, кавітацію і «звуковий вітер». В результаті прискорюється просочення матеріалу і розчинення вмісту клітини, збільшується швидкість обтікання частинок сировини, у дифузійному шарі екстрагента виникають турбулентні і вихрові потоки. Молекулярна дифузія усередині клітин матеріалу і в дифузійному шарі змінюється на конвективну, що приводить до інтенсифікації масообміну. Виникнення кавітації викликає руйнування клітин. При цьому екстрагування прискорюється за рахунок вимивання екстрактивних речовин із зруйнованих клітин і тканини. Так витяжку можна отримати протягом декількох хвилин.

Існують також декілька інших видів динамізації мацерації: розмелювання сировини в середовищі екстрагента, наприклад, в шаровому млині; ремацерація, що супроводжується пресуванням на гідравлічних пресах або вальцях. При останньому способі процес повторюється до досягнення рівноважних концентрацій. Метод дозволяє скоротити втрати діючих речовин і екстрагента, так як в шроті залишається невеликий обсяг витяжки. В результаті отримуємо готовий продукт (настоянку) з високим вмістом екстрактивних речовин [33].

1.4.2. Перколяція

Перколяція (від лат. *Percolatio* – фільтрування) – динамічний періодичний метод, з безперервною зміною екстрагента (представляє процес фільтрації його через шар рослинного матеріалу).

Процес екстракції відбувається в перколяторах-екстракторах циліндричної або конічної форми (рис. 1.3), з паровою сорочкою або без неї. Перколятори виготовляються з нержавіючої сталі, алюмінію, лудженої міді та інших матеріалів. У нижній частині перколятора є фальшиве дно (перфорована сітка), на яке укладається фільтруючий матеріал і завантажується сировина.

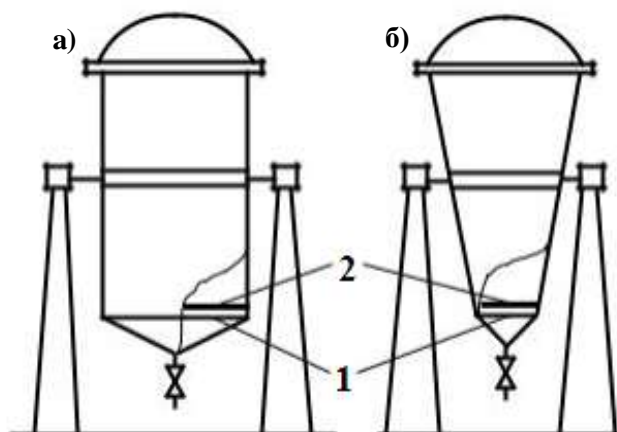


Рис. 1.3. Циліндричний (а) та конічний (б) перколятори, де 1 – фальшиве дно (перфорована сітка) і 2 – фільтрувальний матеріал

Метод перколяції включає три стадії: замочування сировини (набухання), інфузія та власне перколяція.

Перший етап – замочування (набухання) сировини – проводиться поза пробіркою (у мацераційних резервуарах або інших контейнерах) з половиною або рівною кількістю екстрагенту відповідно до кількості сировини. Сировину залишають на 4-5 годин у закритій ємності при цьому не помішуючи. За цей час екстрагент проникає між частинками рослинного матеріалу і всередину клітин, сировина набухає і збільшується в об'ємі. Відбувається розчинення біологічно

активних речовин усередині клітини та утворення концентрованого первинного екстракту.

Другий етап – інфузія. Набряклий матеріал завантажується в перколятор на фальшивому дні з оптимальною щільністю, щоб сировина містила якомога менше повітря. Матеріал, який легко можна укласти, нашаровують. Для такої сировини перколятори постачаються із спеціальними ситовими прокладками. Зверху субстанцію покривають фільтруючим матеріалом та притискають перфорованим диском. Наповнюють сировину екстрагентом зверху або знизу (з відкритим повітряним клапаном) безперервним потоком (до утворення «дзеркала» 3-4 см – таким чином запобігаючи потраплянню повітря в сировину).

Інфузію проводять протягом 24 годин (для легко доступної сировини) або 48 годин (для щільної важкодоступної сировини). В результаті молекулярної дифузії витягнуті речовини переносяться в екстрагент.

Третій етап – просочування – безперервне проходження екстрагенту через шар сировини та збір перколяту (клапан перколятора відкривається, і екстрагент постійно подається до сировини з постійною швидкістю). Концентрований екстракт витісняється з рослинного матеріалу потоком свіжого екстрагенту. Швидкість потоку екстрагента дорівнює швидкості просочування ($1/24$ та $1/48$ робочого обсягу перколятора) на годину.

Перколяція завершується отриманням екстракту за один етап – у виробництві рідких, густих і сухих екстрактів або у два етапи – у виробництві рідких екстрактів [32, 34].

При промисловому виробництві настоек аби максимізувати інтенсифікацію екстрагування в процес перколяції можуть вносити деякі зміни. Так замість принципового способу перколяції застосовують настоювання, циркуляцію або їх поєднання.

При настоюванні першу концентровану витяжку зливають окремо, повністю спускаючи її з перколятора. Далі в перколятор додають свіжий екстрагент, який після настоювання протягом 3-6 годин повністю зливають. Отриману другу витяжку

поєднують з першою, а сировина повторно проходить ще 1-2 подібні операції, поки не набирається необхідна кількість витяжки.

В другому випадку під час настоювання проводять циркуляцію екстрагента в перколяторі-екстракторі використовуючи насос, який подає витяжку з нижньої частини у верхню. Циркуляція екстрагента проводиться до рівноважної концентрації. При цьому час настоювання скорочується в багато разів. Далі проводять перколяцію шляхом витіснення чистим екстрагентом.

Отримані вилучення є каламутними рідинами, що містять значну кількість зважених часток. Очищення витягів відбувається за допомогою відстоювання до одержання прозорої рідини при температурі не вище 10 °С. При такій температурі розчинність екстрагованих речовин зменшується і в процесі зберігання настоек при температурі 15 °С, ймовірність появи осаду невелика.

Після відстоювання протягом не менше 2 діб проводять фільтрування декантацією. Для фільтрації застосовують фільтр-преси, друк-фільтри, або ж центрифуги. Завершальною стадією процесу отримання препаратів з сировини з клітинною структурою є рекуперация екстрагента зі шроту, тобто відпрацьованої сировини [33].

1.5. Характеристика та типи ракових клітин

Ракові клітини – це нормальні клітини, гени яких були пошкоджені/мутовані, що, в свою чергу, змушує клітину в цілому по-різному реагувати на сигнали, які контролюють тривалість життя нормальної клітини.

Оскільки вони не реагують на сигнали, які контролюють розвиток і загибель нормальних клітин, ракові клітини продовжують рости, розмножуватися і навіть вторгтися в інші частини тіла. У процесі цього деякі ракові клітини в кінцевому підсумку утворюють пухлини не тільки в першій зоні ураження (легені тощо), але також призводять до вторинних злоякісних розростань далеко від первинного місця, відомого як метастазування.

Клітини раку з'являються через низку генетичних та епігенетичних змін. Деякі з цих змін можуть бути успадкованими або частіше спричиненими канцерогенами (речовинами, що викликають рак) у навколишньому середовищі.

Цікаво те, що метастатичний процес в основному обумовлений епігенетичними змінами, оскільки конкретних генетичних змін в метастазах не виявлено. Це також допомагає пояснити генетичну схильність до появи раку. Генетична схильність не означає, що ви захворієте на рак, але, якщо вже є кілька мутацій, швидше за все, знадобиться менше набутих мутацій, щоб клітина стала раковою.

Процес перетворювання нормальних клітин на ракові включає стадії, на яких клітина стає поступово все більш аномальною. Ці стадії можуть включати гіперплазію, дисплазію і, нарешті, рак. Спочатку клітина може виглядати схожою на звичайні клітини цього органу або тканини, але в міру прогресування клітина стає дедалі більш диференційованою. Це, власне, те, чому іноді першоджерело раку неможливо визначити [35].

Нижче наведені деякі основні відмінності між нормальними та раковими клітинами.

Нормальна клітинна структура включає 1 ядро, 46 хромосом і чітко визначену клітинну мембрану та цитоскелет. Ракові клітини можуть мати 2-3 ядра, аномальну або неправильну кількість хромосом, погано визначені мембрани та цитоскелети, а хроматин може агрегуватися або розсіюватися (рис. 1.4). Якщо ДНК нормальних клітин пошкоджена, вони можуть відновлюватися або самознищуватися через апоптоз, що запобігає їх перетворенню в рак. Клітини раку, як правило, втрачають ці можливості.

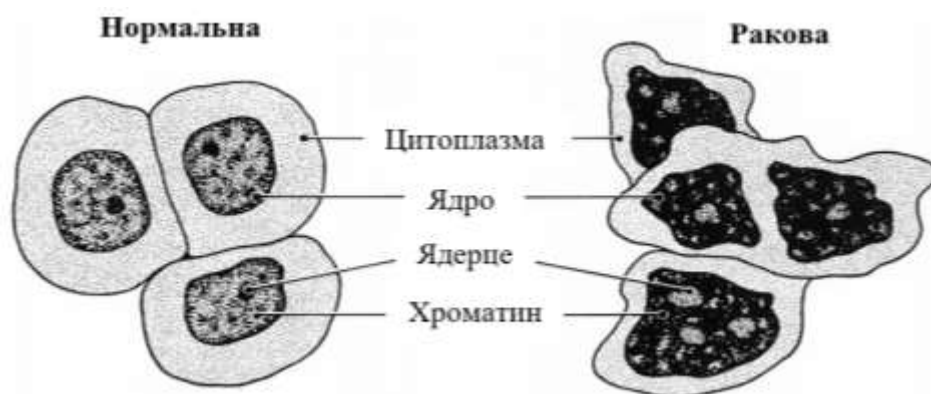


Рис. 1.4. Гістологічні особливості нормальної та ракової клітин

Через ці структурні аномалії ракові клітини та тканина, яку вони складають, мають особливий вигляд під мікроскопом. Існує декілька характерних рис, які фахівці шукають для виявлення злоякісної пухлини:

- велика кількість клітин, що діляться;
- зміни в розмірах і формі ядер;
- зміни в розмірі та формі клітини;
- втрата спеціалізованих особливостей клітин;
- втрата нормальної організації тканин;
- погано визначена межа пухлини;
- незвичайні характеристики фарбування при обробці певними барвниками

або іншими препаратами, призначеними для виділення клітинних компонентів, які не легко побачити в мікроскопі.

Нормальні клітини перестають рости (розмножуватися), коли присутня достатня кількість клітин. Наприклад, якщо клітини виробляються для відновлення порізу шкіри, нові клітини припиняють вироблятися, коли є достатньо клітин, щоб заповнити отвір. І навпаки, ракові клітини не припиняють рости, навіть коли в них достатньо клітин. Це постійне зростання часто призводить до утворення пухлини (скупчення ракових клітин) (рис. 1.5).

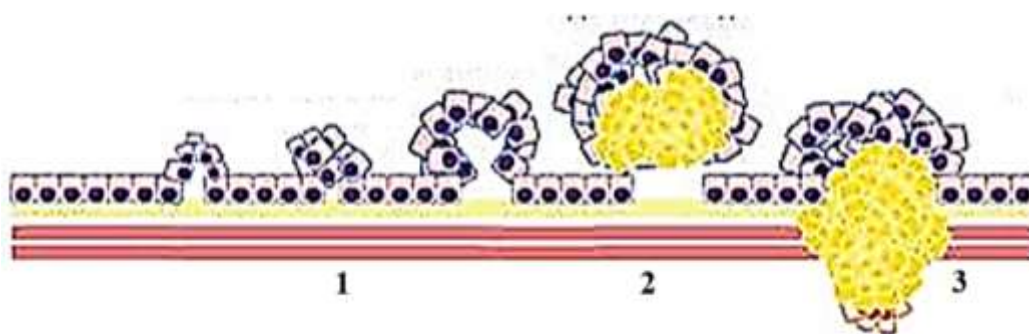


Рис.1.5. Стадії розвитку ракової пухлини: 1 – безконтрольне розмноження клітин (поява пухлин), 2 – злоякісне переродження клітин (втрата здатності до апоптозу), 3 – вростання в сусідні тканини (і поява метастазів)

В організмі людини містяться білки, так звані фактори росту – хімічні речовини, які допомагають клітинам рости і ділитися. Якщо ген, що кодує один з цих білків,

застряг у положенні «увімкнено» за допомогою мутації (онкогену), білки фактора росту продовжують вироблятися. У відповідь клітини продовжують рости.

Клітини раку не дотримуються нормальних правил гальмування контактів і продовжують розмножуватися, навіть коли вони контактують з іншими клітинами. Цей неконтрольований ріст у поєднанні з їх здатністю виділяти ферменти та порушувати замкнуті простори, дозволяє раковим клітинам вторгуватися і руйнувати сусідні нормальні тканини. Цей процес називається інвазією тканин.

Найбільш смертоносним аспектом раку є його здатність метастазувати у віддалену ділянку тіла. Це робиться шляхом проникнення в лімфатичну систему або в кровоносні судини, які несуть ракові клітини до інших місць організму.

Пухлина, від якої відриваються ці мандрівні клітини, називається первинною пухлиною. Первинні пухлини регулярно викидають ракові клітини. Більшість цих клітин гине або їх вбиває імунна система організму, однак іноді одна виживає і поселяється на новому віддаленому місці.

Якщо присутні фактори росту і кровопостачання достатньо на місці, ракова клітина проліферує, створюючи вторинну пухлину. Багато пухлин викликають розвиток власних судин – ангиогенез [36].

Ангиогенез – це процес, за допомогою якого клітини залучають кровоносні судини для росту та живлення тканини. Нормальні клітини піддаються цьому процесу лише як частина нормального росту та розвитку та коли необхідна нова тканина для відновлення пошкодженої тканини. Клітини раку піддаються ангиогенезу навіть тоді, коли зростання не є необхідним. Один із видів лікування раку передбачає використання інгібіторів ангиогенезу – ліків, які блокують ангиогенез в організмі, намагаючись утримати пухлини від зростання [37].

Звичайні нормальні клітини, як і люди, мають тривалість життя. Коли вони досягають певного віку, вони гинуть (знають апоптозу). На кінці наших хромосом знаходиться структура, відома як теломера. Щоразу, коли клітина ділиться, її теломери стають коротшими. Коли теломери стають досить короткими, клітини гинуть. Клітини раку придумали спосіб відновлення своїх теломер, щоб вони не

продовжували скорочуватися, коли клітина ділиться, таким чином, роблячи їх певним чином безсмертними [35].

Коли нормальні клітини пошкоджуються, імунна система (через клітини, які називаються лімфоцитами) визначає та видаляє їх. Клітини раку здатні уникати (обманювати) імунну систему досить довго, щоб перерости в пухлину, або уникаючи виявлення, або виділяючи хімічні речовини, які інактивують імунні клітини, які з'являються на місці події [37].

Існує стільки типів ракових клітин, скільки видів раку. Зі ста типів раку більшість з них названі за типом ракових клітин, у яких він почався. Деякі найпоширені типи включають:

- Карцинома – це рак, який виникає в епітеліальних клітинах, що вистилають порожнини тіла.
- Саркома – це рак, який виникає в мезенхімальних клітинах кісток, м'язів, судин та інших тканин. Прикладом саркоми є остеосаркома, яка є одним з найпоширеніших видів раку кісток.
- Лейкоз виникає в тканинах, відповідальних за виробництво нових клітин крові, частіше за все в кістковому мозку.
- Лімфома та міелома походять з клітин імунної системи, – це рак, який «харчується» поживними речовинами в крові та лімфатичною рідиною, так що їм не потрібно утворювати пухлини.
- Меланома починається з клітин, відомих як меланоцити. Це клітини, що відповідають за вироблення меланіну. В результаті наслідки захворювання можуть спостерігатися на шкірі та очах [35].

Ракові клітини також можуть бути класифіковані на основі їх здатності рости в культурі (рис. 1.5). Так розрізняють моношарові та суспензійні культури клітин (табл. 1.3).

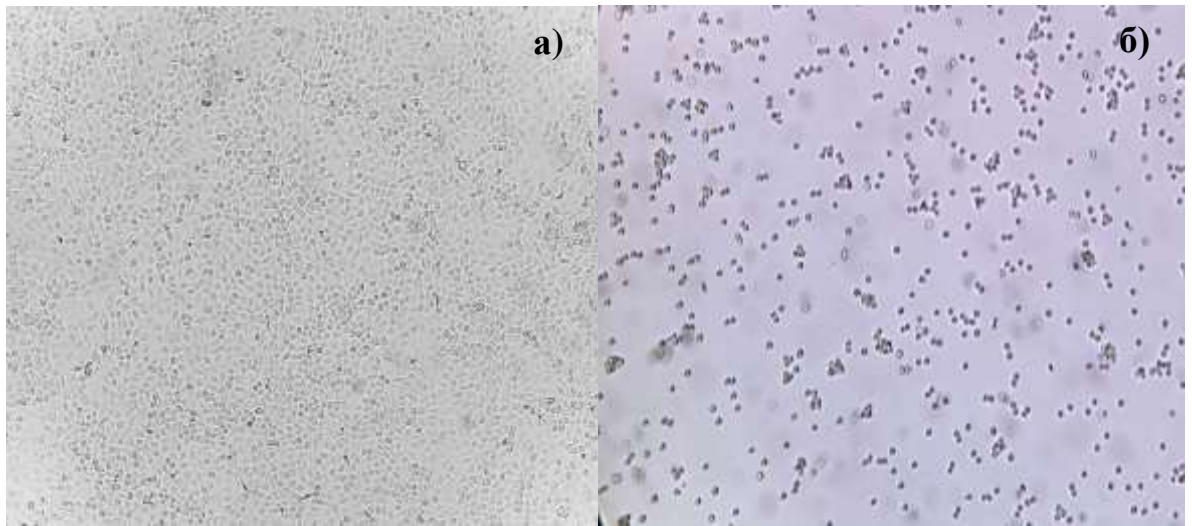


Рис. 1.5. Ракові клітинні лінії в залежності від їх здатності рости в культурі: а) моношарова культура клітин, б) суспензійна культура клітин

Більшість клітин, отриманих від хребетних, за винятком ліній гемопоетичних клітин та деяких інших, залежать від кріплення і повинні культивуватися на відповідному субстраті, спеціально обробленому, щоб забезпечити адгезію та поширення клітин (тобто культуру тканин). Однак багато клітинних ліній також можуть бути адаптовані для суспензійної культури.

Клітини, які культивують у суспензії, можна зберігати в колбах, які не обробляють культурою тканин, але, оскільки об'єм культури до площі поверхні збільшується, це перешкоджає адекватному газообміну і тому середовище потребує перемішування. Зазвичай це досягається за допомогою магнітної мішалки або обертових колб [38].

Таблиця 1.3

Особливості моношарових та суспензійних культур

Моношарова культура клітин	Суспензійна культура клітин
Підходить для більшості типів клітин, включаючи первинні культури.	Підходить для клітин, пристосованих до суспензійної культури, та кількох інших клітинних ліній, які не є адгезивними.

Потрібне періодичне пасажування; можна легко візуально оглянути під мікроскопом.	Легше пасажувати, але вимагає щоденного підрахунку кількості клітин та визначення життєздатності, щоб дотримуватися моделей росту.
Клітини здатні дисоціювати механічно або ферментативно (наприклад, Gibco™ TrypLE™ Express, трипсин).	Не потребують ферментативної або механічної дисоціації.
Ріст обмежується площею поверхні, що може обмежити вихід культури.	Ріст обмежується концентрацією клітин у середовищі, що дозволяє легко збільшити їх масштаб.
Потрібна посудину, оброблену культурою тканин.	Може зберігатися в культуральних посудинах, які не обробляються культурою тканин, але потребує перемішування для належного газообміну.

1.6. Висновки до розділу

Taraxacum officinale (кульбаба лікарська) – квітуча трав'яниста багаторічна рослина сімейства Айстрових (*Compositae*). Зростає в теплих помірних і субпомірних поясах: на газонах, на узбіччях доріг, на берегах водних шляхів, на полях, на луках та в інших районах.

Хімічний склад включає: гіркі речовини як сесквітерпени та глікозиди, тритерпенові сполуки, стерини, флавоноїди, білки, вуглеводи, ефірні олії, органічні кислоти, каротиноїди, вітаміни, макро- та мікроелементи, каучук, смоли, слиз та ін.

Через надзвичайно широкий діапазон БАР *Taraxacum officinale* має кілька корисних для здоров'я властивостей, включаючи сечогінну, жовчогінну, гепатопротекторну, проносну, заспокійливу, снодійну, знеболюючу, протизапальну та протипухлинну дію.

Для вилучення біологічно активних сполук із рослинної сировини застосовується процес екстракції – поділ речовин у суміші шляхом розчинення кожного компонента розчинниками. Існує багато різних методів отримання екстрактів із сировини, але найпоширенішими є мацерація та перколяція.

Ракові клітини – це нормальні клітини, гени яких були пошкоджені або мутовані. Деякі найпоширені типи раку включають: карцинома, саркома, лейкоз, лімфома, мієлома та меланома. Ракові клітини також можуть бути класифіковані на основі їх здатності рости в культурі. Так розрізняють моношарові та суспензійні культури клітин.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали дослідження

2.1.1. Рослинний матеріал

В експерименті досліджували такі зразки сировини: висушені та свіжі вегетативні органи кульбаби лікарської (коріння та листя). Зразки сировини збирали в Чернігівській області протягом квітня 2019 року. Частини рослини промивали під проточною водопровідною водою для видалення залишків пилу та механічно сушили за допомогою спеціального сушильного апарату (рис. 2.1) при температурі 40 °С.



Рис. 2.1. Електрична сушка «Чудесница СШ-008»

2.1.2. Ракові клітинні лінії

В даній роботі для перевірки протиракової активності ми використовували епітеліальні клітини амніону людини (WISH ATCC-№ CCL-25) та клітини мієлобластів мишей (NFS-60) (рис. 1.5). Ракові клітинні лінії були надані ТОВ «ФЗ

«Біофарма» та поставлені Інститутом експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України.

Загальна характеристика клітинної лінії WISH та клітинної лінії NFS-60 представлені у таблицях 2.1 та 2.2.

Таблиця 2.1

Загальна характеристика моношарової клітинної лінії WISH

Назва клітинної лінії та номер колекції	WISH ATCC-№ CCL-25
Організм	<i>Homo sapiens</i> , людина
Тканина походження	Шийка матки
Тип клітин	Епітеліальні
Властивості росту	Моношар
Опис	Отримано з тканини амніону людини [39]. Була використана у дослідженнях на віруси; сприйнятлива до вірусу везикулярного стоматиту, аденовірусу 3 та поліовірусу. Корисна для диференціації вірулентного та авірулентного вірусу кору [40]. Були виявлені маркерні хромосоми HeLa та тип A G6PD. Встановлено, що цю клітинну лінію неможливо відрізнити від HeLa за допомогою профілювання ДНК ПЛР STR [41]. Отже, клітинна лінія повинна розглядатися як похідна від HeLa. Етнічна приналежність: чорна.
Умови зберігання	Зберігається в рідкому азоті при таких умовах кріоконсервації: середовище для зростання RPMI-1640, 32% бичача сироватка, 8% DMSO. Концентрація клітин – до $1-2 \times 10^6$ /мл. Життєздатність після розморожування не менше 85%.

Поживне середовище	Поживне середовище RPMI-1640 із додаванням 10% фетальної телячої сироватки та 1% антибіотико-антимікотичного розчину (10000 МО/мл пеніциліну, 10 мг/мл стрептоміцину, 25 мг/мл амфотерицину В).
Захворівання	Карцинома шийки матки людини

Таблиця 2.2

Загальна характеристика суспензійної клітинної лінії NFS-60

Назва клітинної лінії та номер колекції	NFS-60 № CCL-400301
Організм	<i>Mus musculus</i> , миша
Тканина походження	Кров
Тип клітин	Лейкемія, мієлоїдна
Властивості росту	Суспензія
Опис	Мишача мієлобластична клітинна лінія, встановлена з лейкозних клітин, отриманих після зараження (NFS X DBA / 2) F1 дорослих мишей вірусом мишачого лейкозу Cas Br-M. Клітини NFS-60 залежать від ІЛ3 для росту та підтримки життєздатності <i>in vitro</i> . Клітини використовуються для аналізу мишачого та людського G-CSF. Ця біпотенціальна мишача еματοпоетична клітинна лінія реагує на ІЛ-3, GM-CSF, G-CSF та еритропоетин [42].
Умови зберігання	Зберігається в середовищі CM-1 при таких умовах кріоконсервації: температура -196 °С, середовище для зростання RPMI-1640 (L-глутамін та 1 мМ натріюпіруват), 10% фетальної бичачої сироватки та 33 МО/мл mIL-3. Концентрація клітин – до $2-4 \times 10^6$ /мл. Життєздатність після розморожування не менше 90%.

Поживне середовище	Середовище RPMI-1640, доповнене L-глутаміном, 1 мМ натрію піруватом, 10% фетальної бичачої сироватки та 33 МО/мл mL-3. Як джерело цитокінів в якості альтернативи може бути використана добавка із кондиціонованим середовищем CLS (KMG-2, номер замовлення CLS 810210 – 25 мл, 810250 – 50 мл), 10-20% у звичайному культуральному середовищі.
Захворювання	Лейкемія мишей

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Технологія приготування екстрактів кульбаби лікарської

Екстракція біологічно активних речовин зі свіжих та висушених коренів та листків кульбаби проводилась використовуючи наступний метод [43]: в скляні баночки об'ємом в 100 мл, додають 5 г подрібненої рослинної сировини (ступінь подрібнення 2-3 мм) зі 100 мл дистильованої води (рис. 2.2), та витримують на водяній бані (рис. 2.3) протягом 30 хвилин при температурі 55 °С. Після охолодження до кімнатної температури (приблизно 20 °С), екстракти відфільтровують в пластикові пробірки об'ємом 15 мл. Безпосередньо перед введенням у 96-лункову платівку з раковими клітинами всі екстракти фільтрували через бактеріологічний фільтр «Erikriz» з діаметром пор 0,22 мкм.

В результаті було отримано 4 екстракти (рис. 2.4): сухих листків з дистильованою водою, сухих коренів з дистильованою водою, свіжих листків з дистильованою водою, свіжих коренів з дистильованою водою.

Для розширення експерименту було приготовлено ще два екстракти: суміш екстрактів сухих листків та коренів у відношенні 1:1 та суміш екстрактів свіжих листків та коренів у відношенні 1:1.



Рис. 2.2. Екстракти кульбаби лікарської: 1 – сухе листя, 2 – сухі корені, 3 – свіжі листки, 4 – свіжі корені



Рис. 2.3. Витримування екстрактів на водяній бані (водяна баня-термостат з перемішування WB-4MS)



Рис. 2.4. Відфільтровані екстракти кульбаби лікарської: 1 – сухе листя, 2 – сухі корені, 3 – свіжі листки, 4 – свіжі корені

2.2.2. Технологія перевірки протиракової активності

Технологія перевірки протиракової активності була запроваджена на ТОВ «ФЗ «Біофарма». Дана технологія включає такі кроки: приготування клітинної лінії, введення екстрактів, візуалізація результатів експерименту. Для моношарової та суспензійної ліній умови проведення експерименту дещо відрізняються.

Статистична обробка отриманих даних здійснюється за допомогою процесора таблиць Microsoft Office Excel.

На основі отриманих даних були побудовані графіки залежності оптичної щільності від розведень екстрактів висушеної кульбаби та графіки залежності оптичної щільності від розведень екстрактів свіжої кульбаби. Результати представлені в розділі 3.

2.2.2.1. Постановка експерименту для клітинної лінії WISH

Першим кроком є приготування ракової клітинної лінії. Для цього з колби з одношаровими клітинами видаляють живильне середовище, ретельно промивають три рази розчином PBS і додають 2-4 мл 0,25% розчину трипсину з 0,1% ЕДТА. Потім колбу з клітинами поміщають в CO₂ інкубатор при температурі 37 °C на 3-10 хвилин для відшарування клітин. Етапи відділення від дна колби оцінюють за допомогою інвертованого мікроскопа. Через деякий час розчин трипсину обережно видаляють, і живильне середовище знову вводять у колбу.

Потім клітини суспендують за допомогою піпетування та відбирають проби для підрахунку кількості клітин в автоматизованому лічильнику клітин «Luna™». Змішуючи з живильним середовищем, концентрацію клітин у суспензії доводять до посівної (3×10^5 клітин/мл) і виливають по 100 мкл у всі лунки 96-лункової планшети.

Інкубацію проводять в атмосфері 5% CO₂ при температурі 37 °C і вологості 95-97% (стандартні умови для культури клітин) протягом 6 годин для прикріплення клітин. Всі маніпуляції з розчином і культурою клітин проводяться в асептичних умовах.

Наступним кроком є введення екстрактів. Для цього у другий ряд планшети (В1:В12) з утвореним моношаром клітин вводять 100 мкл досліджуваних розчинів (екстрактів), принаймні чотири повторення. За допомогою багатоканального пробовідбірника відбирають 100 мкл розчинів з другого ряду (В1:В12), переносять у третій ряд (С1:С12) і перемішують принаймні 5 разів. Потім відібрані 100 мкл з третього ряду (С1:С12) переносять у четвертий ряд (D1:D12) і також перемішують 5 разів. Процедуру повторюють до останнього ряду (Н1:Н12), з якого видаляють 100 мкл розчину.

Перший ряд планшету (А1:А12) залишають для контролю життєздатності клітин (табл. 2.3). Планшети інкубують протягом 48 годин.

Таблиця 2.3

Приблизна схема введення зразків

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
А	Негативний контроль											
В	ТР 1 – 1:1				ТР 2 – 1:1				ТР 3 – 1:1			
С	ТР 1 – 1:2				ТР 2 – 1:2				ТР 3 – 1:2			
Д	ТР 1 – 1:4				ТР 2 – 1:4				ТР 3 – 1:4			
Е	ТР 1 – 1:8				ТР 2 – 1:8				ТР 3 – 1:8			
F	ТР 1 – 1:16				ТР 2 – 1:16				ТР 3 – 1:16			
G	ТР 1 – 1:32				ТР 2 – 1:32				ТР 3 – 1:32			
Н	ТР 1 – 1:64				ТР 2 – 1:64				ТР 3 – 1:64			

В таблиці 2.3 наведена приблизна схема введення зразків до 96-лункової планшети (8×12), де: А1:А12 – негативний контроль; В1:В4 - Н1:Н4 – розведення тестового розчину №1 (ТР 1); В5:В8 - Н5:Н8 – розведення тестового розчину №2 (ТР 2); В9:В12 - Н9:Н12 – розведення тестового розчину №3 (ТР 3).

Після завершення інкубації з усіх лунок видаляють рідину, струшуючи різким рухом над контейнером з дезінфікуючим розчином. У всі лунки вводять 100 мкл

розчину PBS, покривають і промивають, перемішуючи вміст планшету на термошейкері при 900 об/хв при кімнатній температурі протягом 2-3 хвилин.

Останній крок – візуалізація результатів експерименту. За допомогою багатоканального дозатора у всі лунки додають 100 мкл 0,1% розчину кришталєво-фіолєтового, залишають на 5-10 хвилин і видаляють. Пленшети промивають дистильованою водою; залишок води видаляється нахилом пластини та постукуванням по фільтрувальному паперу.

Далі в лунки вводять 100 мкл 96% спиртового розчину, закривають і перемішують на термошейкері при 300-400 об/хв при кімнатній температурі протягом 15-30 хвилин до повного розчинення барвника. Отримані результати реєструють за допомогою мікропланшетного спектрофотометра при довжині хвилі 540 нм.

2.2.2.2. Постановка експерименту для клітинної лінії NFS-60

На першій стадії постановки експерименту в усі лунки планшет вносять 100 мкл середовища А (поживне середовище RPMI-1640 з додаванням 5 % ембріональної телячої сироватки). Далі додають екстракти. Для цього у другий ряд планшети (B1:B12) вносять 100 мкл досліджуваних розчинів (екстрактів), по чотири повторення. За допомогою багатоканального пробовідбірника відбирають 100 мкл розчинів з другого ряду (B1:B12), переносять у третій ряд (C1:C12) і перемішують принаймні 5 разів. Процедуру повторюють до останнього ряду (H1:H12), з якого видаляють 100 мкл розчину.

Наступним кроком є підготовка тестової культури. Середовище із суспензією клітин зливають у центрифужну пробірку об'ємом 15 мл і центрифугують 5 хвилин при 1500 об/хв. Утворену надосадову рідину видаляють, а клітини ресуспендують у розчині PBS і знову центрифугують за тих же умовах для видалення залишків поживного середовища. Надосадову рідину зливають і додають 2-3 мл середовища А.

Відбирають проби для підрахунку кількості клітин в автоматизованому лічильнику клітин «Luna™» та готують суспензію клітин 1×10^5 клітин/мл.

Готову суспензію клітин по 100 мкл вносять в усі лунки окрім першої. Планшети з клітинами інкубують в атмосфері 5% CO₂ при температурі 37 °С протягом 44-48 годин. Всі маніпуляції проводяться в асептичних умовах.

Для візуалізації результатів експерименту використовують розчин резазурину. Спочатку планшети центрифугують 5 хвилин при 1500 об/хв, далі за допомогою пристрою для промивки мікропланшет відбирають по 150 мкл розчину з кожної лунки. Вносять по 100 мкл розчину резазурину в концентрації 0,045 мг/мл та перемішують за допомогою шейкера 2 хвилини при 900 об/хв. Інкубують протягом 1 години при 37 °С. Повторно перемішують 2 хвилини при 600 об/хв.

Результати фіксують методом флуоресцентної спектрофотометрії в режимі E_x=560 нм, E_m=590 нм.

2.3. Висновки до розділу

Досліджували зразки висушених та свіжих коренів та листків кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*). Рослинну сировину було зібрано в Чернігівській області протягом квітня 2019 року. Частини рослини промивали під проточною водопровідною водою для видалення пилу та механічно сушили за допомогою спеціального сушильного пристрою при температурі 40 °С.

Для перевірки протиракової активності були використані клітинна лінія WISH ATCC-№ CCL-25 та клітинна лінія NFS-60.

Екстракцію проводили дистильованою водою на водяній бані при температурі 55 °С протягом 30 хвилин. В результаті після фільтрування було отримано 6 екстрактів: екстракти сухого кореня та сухого листя, екстракти свіжого кореня та свіжого листя, суміш екстрактів висушеного кореня та листя у співвідношенні 1:1 та суміш екстрактів свіжого кореня та листя у співвідношенні 1:1.

Перевірка протипухлинної активності проводилася в наступному порядку: підготовка клітинної лінії, введення екстрактів та візуалізація результатів експерименту.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою табличного процесора Microsoft Office Excel.

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Порівняння впливу екстрактів кульбаби лікарської на ракові клітинні лінії

Для перевірки протиракової активності екстрактів кульбаби лікарської була використана нижче наведена технологія:

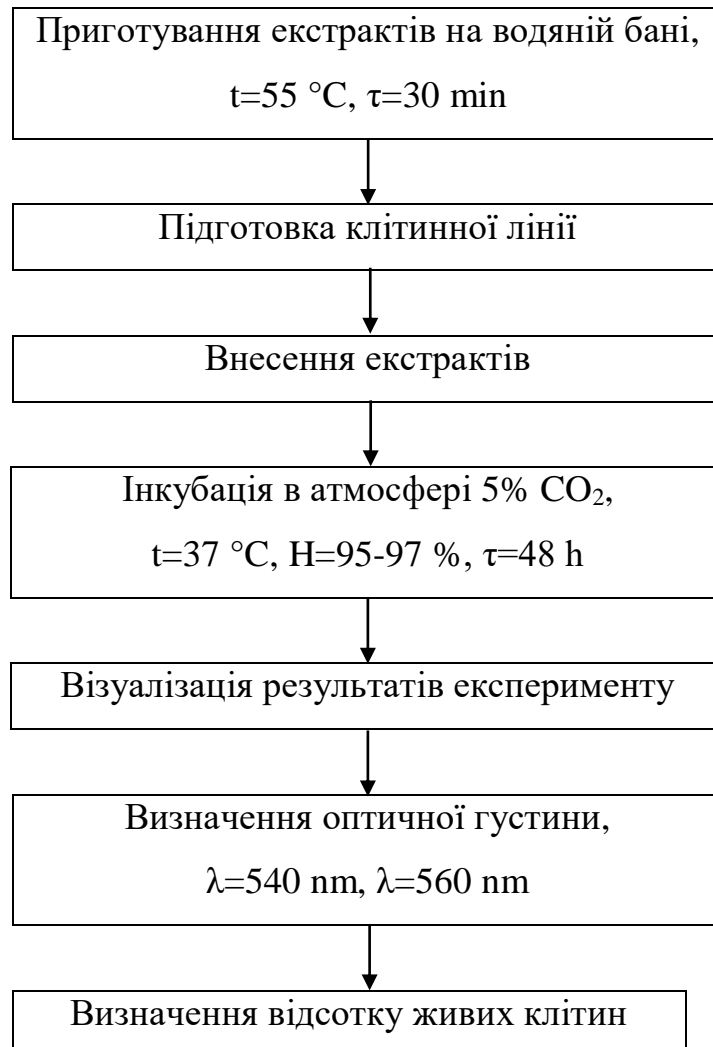


Рис. 3.1. Технологія визначення протиракової активності

Вплив екстрактів на ракову клітинну лінію WISH оцінювали за оптичною густиною використовуючи мікропланшетний спектрофотометр при довжині хвилі 540 нм (рис. 3.2). Отримані результати були описані в таблицях 3.1 та 3.2.

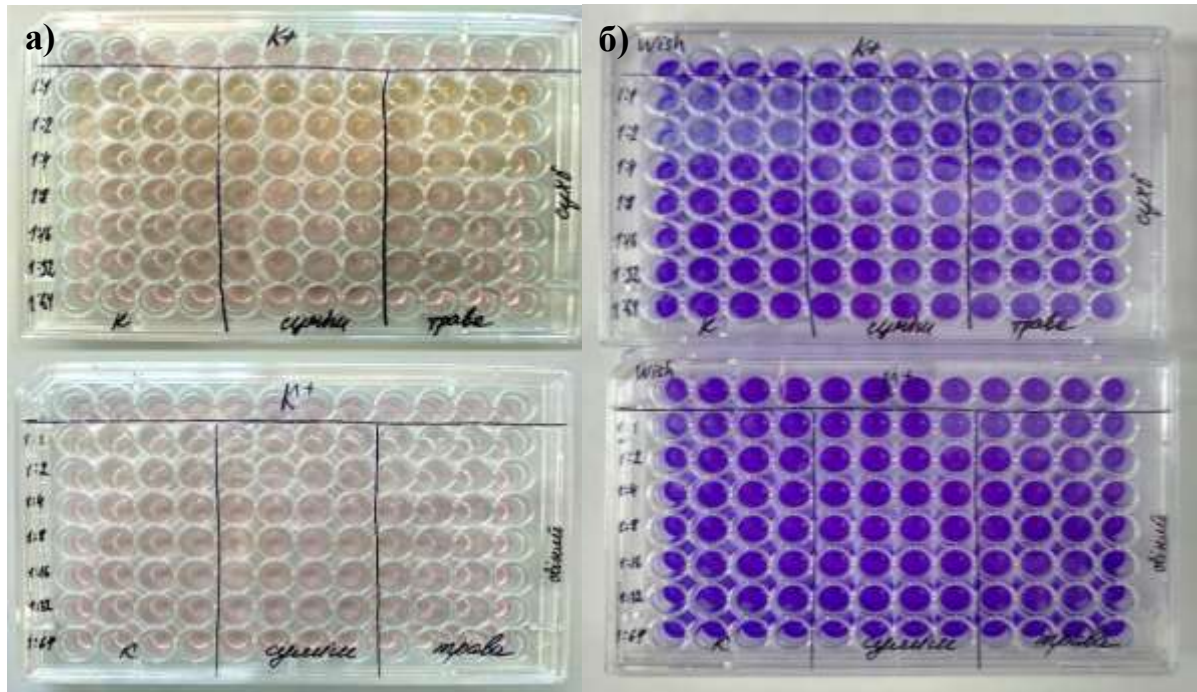


Рис. 3.2. Планшети з клітинною лінією WISH до (а) та після (б) інкубації

Таблиця 3.1

Значення оптичної густини клітинної лінії WISH після впливу екстрактів сухої кульбаби, $\lambda=540$ нм

Розведення	Екстракт сухих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт сухих листків
K+	1,51	1,42	1,29
1:1	0,59	0,60	0,56
1:2	0,39	1,17	1,05
1:4	1,43	1,19	1,06
1:8	1,55	1,33	1,16
1:16	1,66	1,49	1,27
1:32	1,58	1,44	1,31
1:64	1,53	1,46	1,25

Значення оптичної густини клітинної лінії WISH після впливу екстрактів свіжої кульбаби, $\lambda=540$ нм

Розведення	Екстракт свіжих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт свіжих листків
К+	1,92	2,04	2,11
1:1	1,07	1,19	1,24
1:2	1,60	1,79	1,97
1:4	1,69	1,95	2,07
1:8	1,65	1,84	2,03
1:16	1,66	1,86	1,98
1:32	1,65	1,87	2,00
1:64	1,60	1,88	1,91

В таблицях 3.1 та 3.2 представлені середні значення оптичної густини. К+ (контроль) це значення оптичної густини лінії WISH без екстрактів. В, С, D, Е, F, G, Н – клітини під впливом екстрактів сухої та свіжої кульбаби з концентраціями 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. Отже, якщо інгібування ракових клітин відбувається, то значення оптичних густин будуть менші ніж К+. На основі отриманих даних були побудовані графіки залежності оптичної густини від розведення зразків (рис. 3.3 та рис. 3.4)

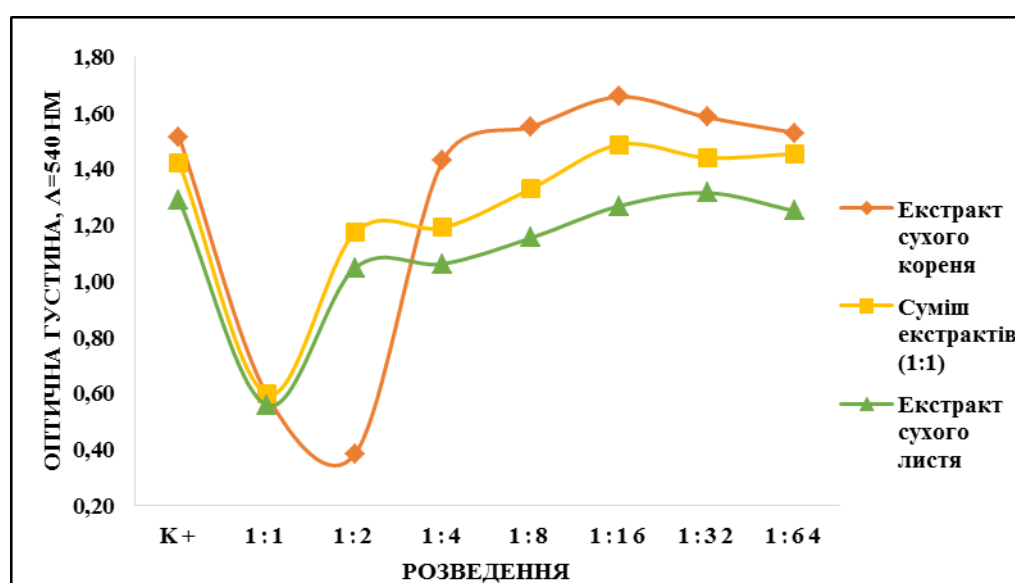


Рис. 3.3. Динаміка змін оптичної густини клітинної лінії WISH після впливу екстрактів сухої кульбаби

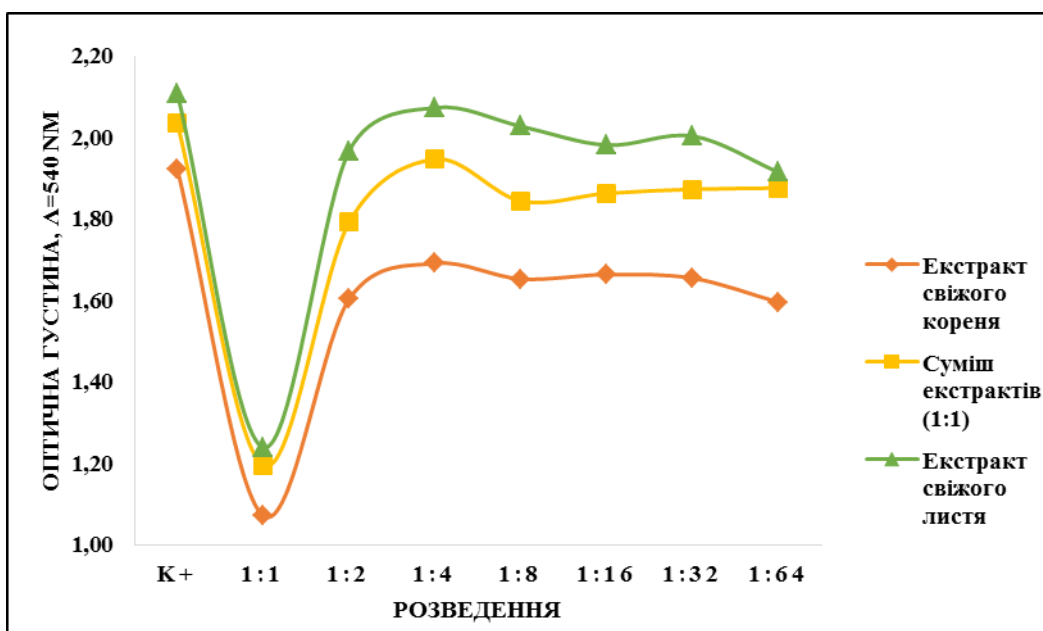


Рис. 3.4. Динаміка змін оптичної густини клітинної лінії WISH після впливу екстрактів свіжої кульбаби

Для кращого розуміння на основі значень оптичних густини було пораховано відсоток живих клітин WISH після дії екстрактів кульбаби при концентраціях 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. Дані наведені в таблицях 3.3 та 3.4.

Таблиця 3.3

Відсоток живих клітин WISH після впливу екстрактів сухої кульбаби, %

Розведення	Екстракт сухих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт сухих листків
1:1	39,2	42,0	43,3
1:2	25,5	82,5	81,3
1:4	94,5	83,7	82,4
1:8	102,3	93,5	89,6
1:16	109,4	104,5	98,4
1:32	104,6	101,2	102,0
1:64	100,9	102,2	97,0

Відсоток живих клітин WISH після впливу екстрактів свіжої кульбаби, %

Розведення	Екстракт свіжих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт свіжих листків
1:1	55,7	58,7	58,7
1:2	83,4	88,0	93,3
1:4	87,9	95,7	98,3
1:8	85,9	90,6	97,8
1:16	86,5	91,5	93,9
1:32	86,0	92,0	95,0
1:64	83,0	92,2	90,8

Також за допомогою електронного мікроскопа ми можемо спостерігати, що клітинна лінія WISH мертва (б), оскільки всі клітини не знаходяться в моношарі (рис. 3.5) проти контролю (а), де всі клітини розташовані на поверхні.

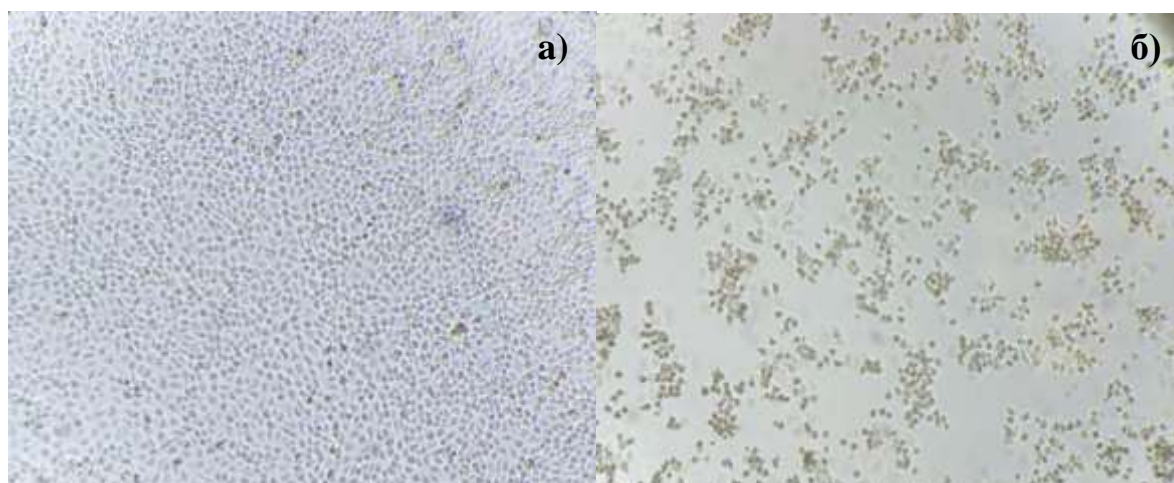


Рис. 3.5. Порівняння клітинної лінії WISH (моношар) до (а) та після (б) дії екстрактів кульбаби лікарської, 100х

Відповідно до таблиць 3.1, 3.2, 3.3 та 3.4, а також рисунків 3.3, 3.4 можна зробити наступні висновки: максимальне інгібування клітинних ліній відбувається під впливом екстракту висушених коренів у концентрації 1:2, де відсоток живих клітин становить

25,5% порівняно з контролем. Менше інгібування спостерігається при концентрації 1:1, де відсоток живих клітин становить: для екстракту сухих коренів – 39,2%; для суміші екстрактів – 42,0%; для екстракту сухого листа – 43,3%.

Максимальне інгібування клітинних ліній під дією екстракту свіжого кореня, суміші свіжих екстрактів та екстракту свіжого листа відбувається при концентрації 1:1. Відсоток живих клітин становить 55,7%, 58,7% і 58,7% відповідно.

Вплив екстрактів на ракову клітинну лінію NFS-60 оцінювали за оптичною густиною використовуючи мікропланшетний спектрофотометр при довжині хвилі 560 нм (рис. 3.6). Отримані результати описані в таблицях 3.5 та 3.6.

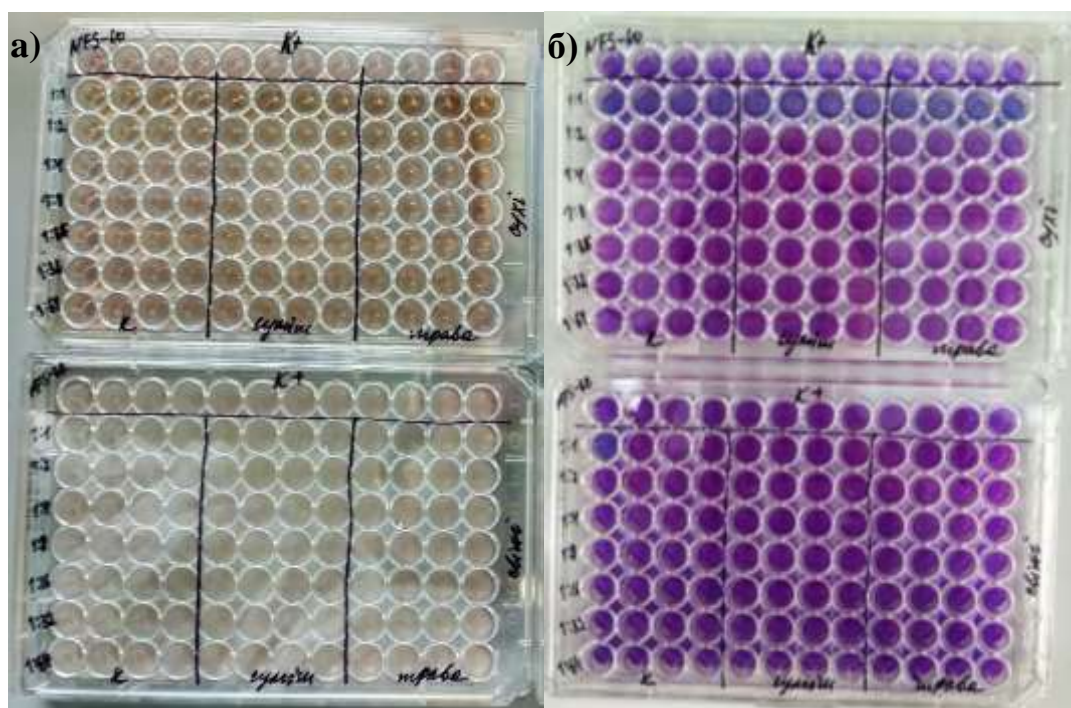


Рис. 3.6. Планшети з клітинною лінією NFS-60 до (а) та після (б) інкубації

Таблиця 3.5

Значення оптичної густини клітинної лінії NFS-60 після впливу екстрактів сухої кульбаби, $\lambda=560$ нм

Розведення	Екстракт сухих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт сухих листків
K+	4864,25	4858,75	4596,5
1:1	2073,5	1385,0	692,5

Продовження таблиці 3.5

1:2	5143,5	6747,5	4381,5
1:4	6685,75	7787,25	6178,25
1:8	6326,0	6517,0	5974,25
1:16	6277,25	6430,75	5996,0
1:32	5619,5	6330,0	6139,75
1:64	5301,25	5915,5	5885,0

Таблиця 3.6

Значення оптичної густини клітинної лінії NFS-60 після впливу екстрактів свіжої кульбаби, $\lambda=560$ нм

Розведення	Екстракт свіжих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт свіжих листків
К+	4128,8	4383,0	4565,3
1:1	5525,5	5913,3	6467,5
1:2	5452,3	6104,0	6466,5
1:4	4872,3	5167,8	5371,0
1:8	4383,5	4466,5	4750,8
1:16	4543,5	4559,3	4791,0
1:32	4426,5	4621,3	4828,3
1:64	4402,5	4673,0	4979,0

В таблицях 3.5 та 3.6 представлені середні значення оптичної густини. К+ (контроль) це значення оптичної густини лінії NFS-60 без екстрактів. В, С, D, E, F, G, Н – клітини під впливом екстрактів сухої та свіжої кульбаби з концентраціями 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. Отже, якщо інгібування ракових клітин відбувається, то значення оптичних густин будуть менші ніж К+. На основі отриманих даних були побудовані графіки залежності оптичної густини від розведення зразків (рис. 3.7 та рис. 3.8)

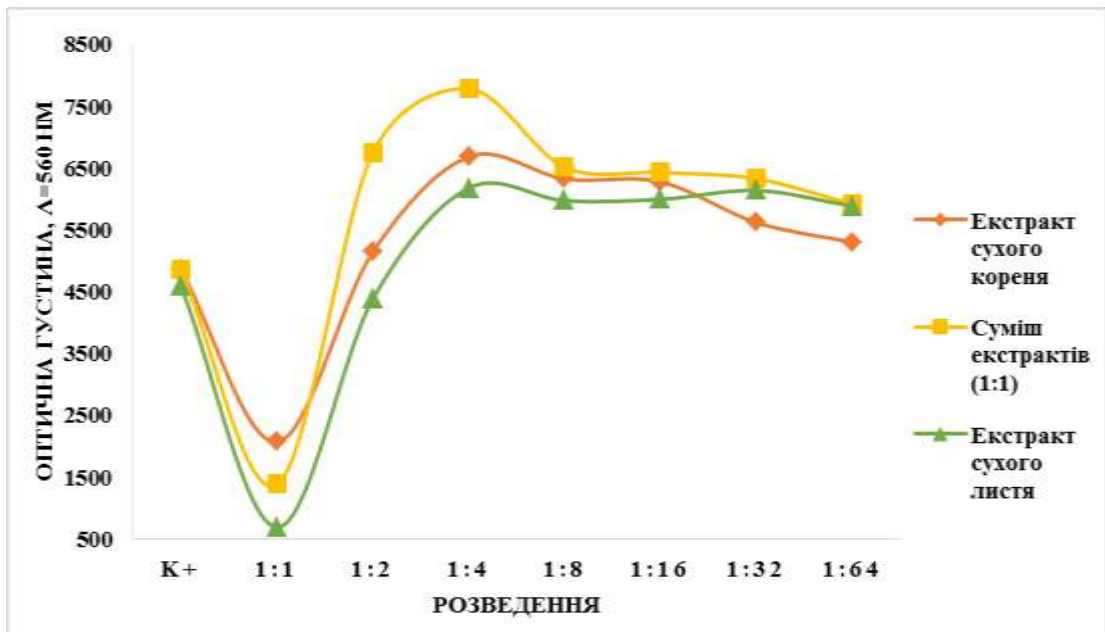


Рис. 3.7. Динаміка змін оптичної густини клітинної лінії NFS-60 після впливу екстрактів сухої кульбаби

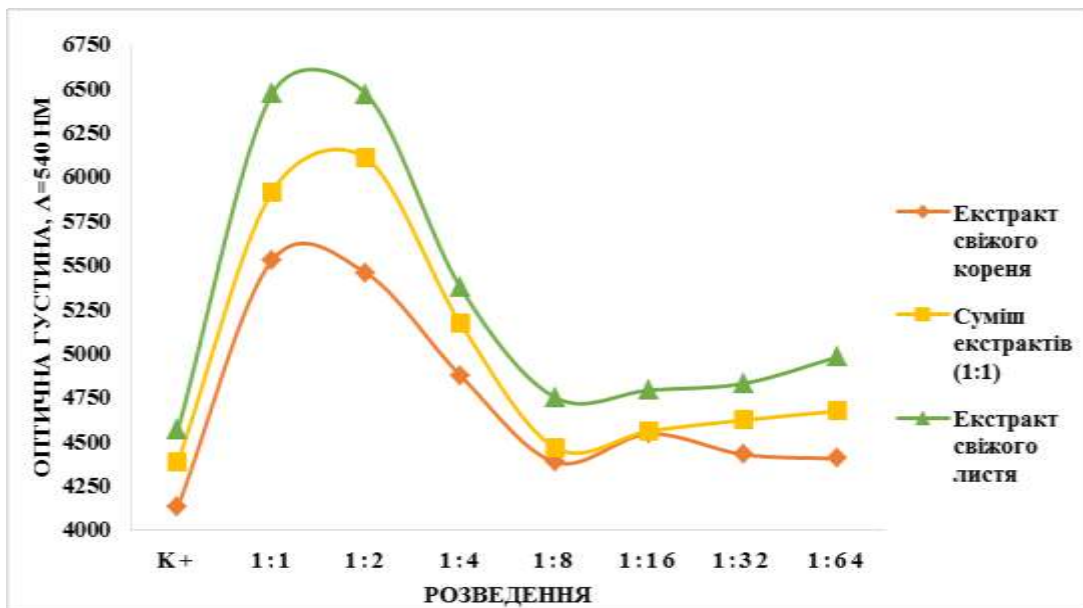


Рис. 3.8. Динаміка змін оптичної густини клітинної лінії NFS-60 після впливу екстрактів свіжої кульбаби

Для кращого розуміння на основі значень оптичних густини було пораховано відсоток живих клітин NFS-60 після дії екстрактів кульбаби при концентраціях 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. Дані наведені в таблицях 3.7 та 3.8.

Таблиця 3.7

Відсоток живих клітин NFS-60 після впливу екстрактів сухої кульбаби, %

Розведення	Екстракт сухих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт сухих листків
1:1	42,6	28,5	15,1
1:2	105,7	138,9	95,3
1:4	137,4	160,3	134,4
1:8	130,1	134,1	130,0
1:16	129,0	132,4	130,4
1:32	115,5	130,3	133,6
1:64	109,0	121,7	128,0

Таблиця 3.8

Відсоток живих клітин NFS-60 після впливу екстрактів свіжої кульбаби, %

Розведення	Екстракт свіжих коренів	Суміш екстрактів (1:1)	Екстракт свіжих листків
1:1	133,8	134,9	141,7
1:2	132,1	139,3	141,6
1:4	118,0	117,9	117,6
1:8	106,2	101,9	104,1
1:16	110,0	104,0	104,9
1:32	107,2	105,4	105,8
1:64	106,6	106,6	109,1

За допомогою електронного мікроскопа ми можемо спостерігати, що клітинна лінія NFS-60 мертва (б), оскільки всі клітини поодинокі та мають зруйноване ядро чорного кольору (рис. 3.9) проти контролю (а), де всі клітини угруповані та здорові.

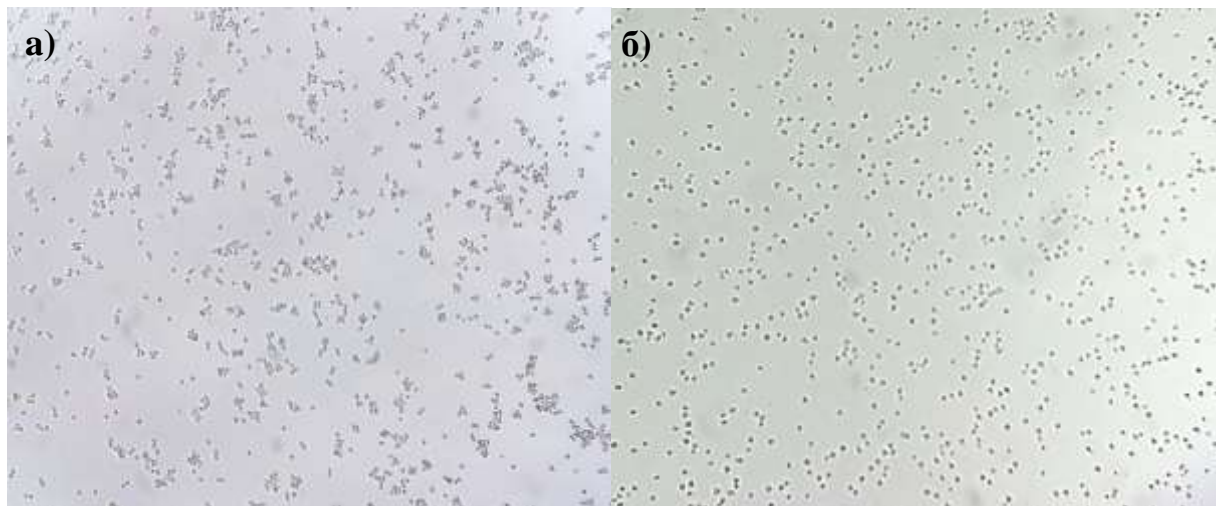


Рис. 3.9. Порівняння клітинної лінії NFS-60 (суспензія) до (а) та після (б) дії екстрактів кульбаби лікарської, 100х

Згідно таблиць 3.5, 3.6, 3.7 та 3.8, а також рисунків 3.7 та 3.8 можна зробити наступні висновки: максимальне інгібування клітинних ліній під дією екстракту сухого кореня, суміші екстрактів та екстракту сухого листа відбувається при концентрації 1:1. Відсоток живих клітин становить 42,6%, 28,5% і 15,1% відповідно.

Інгібування клітинних ліній під дією екстракту свіжого кореня, суміші екстрактів та екстракту свіжого листа не відбувається. Екстракти зі свіжих зразків кульбаби лікарської ніяк не вплинули на ріст клітинної лінії NFS-60.

Відповідно до мети дипломної роботи після проведення експерименту та загальних підрахунків було порівняно вплив екстрактів кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на різні типи ракових клітин – за особливостями росту – моношарову клітинну лінію WISH та суспензійну клітинну лінію NFS-60.

Порівнювали дію екстрактів із сухих зразків та екстрактів зі свіжих зразків кульбаби лікарської. Більшу увагу приділили дії екстрактів при концентрації 1:1, адже саме за цього співвідношення пригнічення клітинних ліній відбувається в максимальному ступені (рис. 3.10 та рис. 3.11).

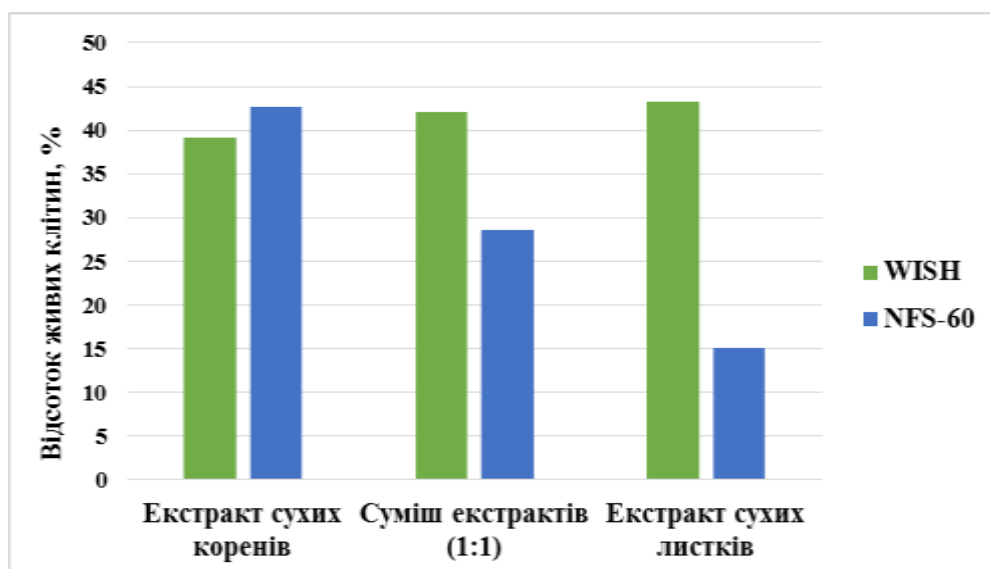


Рис. 3.10. Порівняння дії екстрактів із сухих зразків кульбаби лікарської на клітинні лінії WISH та NFS-60

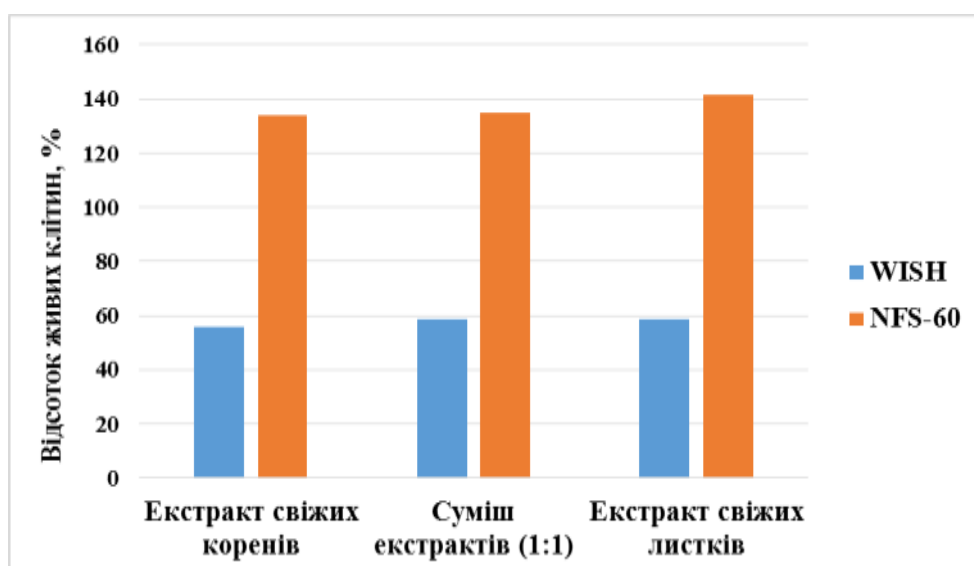


Рис. 3.11. Порівняння дії екстрактів зі свіжих зразків кульбаби лікарської на клітинні лінії WISH та NFS-60

3.2. Висновки до розділу

Інгібування ракових клітин екстрактами кульбаби порівнювали з контролем за допомогою оптичної густини використовуючи мікропланшетний спектрофотометр при довжині хвилі 540 нм та 560 нм.

Результат дослідження показує, що максимальне пригнічення клітинної лінії WISH (моношар) відбувається під впливом екстракту сухих коренів у концентрації 1:2, де відсоток живих клітин становить 25,5% порівняно з контролем. Менше інгібування спостерігається при концентрації 1:1, де відсоток живих клітин становить: для екстракту сухих коренів – 39,2%; для суміші екстрактів – 42,0%; для екстракту сухого листа – 43,3%.

Максимальне інгібування клітинної лінії WISH під дією екстракту свіжого кореня, суміші екстрактів та екстракту свіжого листа відбувається при концентрації 1:1. Відсоток живих клітин становить 55,7%, 58,7% і 58,7% відповідно.

При інших концентраціях інгібування клітинної лінії WISH не відбувається.

Максимальне інгібування клітинної лінії NFS-60 (суспензія) відбувається під дією екстракту сухого кореня, суміші екстрактів та екстракту сухого листа при концентрації 1:1. Відсоток живих клітин становить 42,6%, 28,5% і 15,1% відповідно.

Інгібування клітинної лінії NFS-60 під дією екстракту свіжого кореня, суміші екстрактів та екстракту свіжого листа не відбувається.

Відповідно до мети дипломної роботи було порівняно вплив екстрактів кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) на моношарову клітинну лінію WISH та суспензійну клітинну лінію NFS-60. Порівнювали дію екстрактів із сухих зразків та екстрактів зі свіжих зразків кульбаби лікарської при концентрації 1:1.

Встановлено, що екстракт сухих коренів краще впливає на клітинну лінію WISH, а суміш екстрактів та екстракт сухого листа – на клітинну лінію NFS-60. Екстракти із свіжих зразків кульбаби лікарської впливають лише на клітинну лінію WISH.

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ

4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори в лабораторії біологічного контролю

Для того, щоб робота в лабораторії біологічного контролю була максимально безпечною, підприємство має забезпечити належні умови праці.

Згідно ГОСТ 12.0.003-74 [44] в лабораторії біологічного контролю діють такі шкідливі та небезпечні виробничі фактори:

- Фізичні: підвищений рівень шуму на робочому місці; підвищений рівень ультрафіолетової радіації; підвищений рівень електромагнітного випромінювання.
- Хімічні фактори, що характеризуються токсичною, подразнюючою, сенсабілізуючою діями.
- Біологічні: мікроорганізми-продуценти, живі клітини і спори, що містяться в препаратах, патогенні мікроорганізми.
- Психофізіологічні: нервово-психічні перевантаження.

Підвищений рівень шуму на робочому місці в лабораторії біологічного контролю призводить до послаблення уваги працівника. Цей фактор виникає під час використання персонального комп'ютера, холодильних установок, шейкера, під час роботи вентиляційної системи, тощо. Так, шкідливий вплив підвищеного рівня шуму (згідно ДСН 3.3.6.037–99 – більше, ніж 50 дБА) може призвести до порушень психологічного та фізіологічного стану працівника (зниження гостроти слуху, зниження пам'яті, запаморочення, головний біль, підвищена стомлюваність, дратівливість, інше) [45].

Нормування ультрафіолетового випромінювання у виробничих приміщеннях здійснюють згідно з санітарними нормами СН 4557-88.

Підвищений рівень ультрафіолетової радіації виникає під дією бактерицидних ламп. Такі опромінювачі використовуються в лабораторії біологічного контролю для

створення стерильних умов в приміщенні (боксі). Спектр випромінювання ламп містить діапазон довжин хвиль від 205 до 315 нм із піком випромінювання на довжині хвилі 253,7 нм. Результатом дії ультрафіолетового випромінювання на кисень в приміщенні є утворення токсичних речовин – озону (речовина I класу небезпеки) та окису азоту. Максимальна разова допустима концентрація озону в повітрі становить 0,16 мг/м³, середньодобова – 0,03 мг/м³ [46].

Підвищений рівень електромагнітного випромінювання (ЕМВ) виникає, в основному, під час дії персонального комп'ютера, принтера, сканера, спектрофотометра, холодильних установок.

Для аналізу та обробки результатів дослідження з мікроорганізмами та лікарськими препаратами в лабораторії біологічного контролю найчастіше використовується саме комп'ютер, монітор якого є основним джерелом ЕМВ.

З розвитком технологій виробники максимально знизили рівень випромінювання екрану – сьогодні використовують рідкокристалічні монітори. Однак, ще одним джерелом ЕМВ є задня стінка монітору, яка ніяк не захищена [47]. Оскільки робота за комп'ютером займає від 6 до 10 годин на добу, надмірний рівень електромагнітного випромінювання, в результаті, спричиняє ряд порушень серцево-судинної, нервової та ендокринної систем.

Досліди в лабораторії біологічного контролю не проходять без участі хімічних речовин, які входять до складу використовуваних матеріалів. Ці речовини можуть проникати в організм людини через дихальні шляхи, слизові оболонки або ж шкірні покриви, тим самим спричиняючи подразнюючу, сенсабілізуючу та токсичну дію.

Хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори подразнюючої дії – дезінфікуючі та мийні засоби, аміак, азотмісткі сполуки, хлор, фтор; алергенної дії – вапняк, антибіотики; токсичної дії – етиловий спирт, перекис водню, різні розчинники, сірчана та соляна кислоти, гідроксиди калію та натрію, біхромати, аміак, деякі неорганічні сполуки, інші).

Небезпека роботи з хімічними речовинами пов'язана, в основному, із виникненням тісного контакту шкідливих та токсичних реактивів з людиною. Шкідливі речовини, що потрапили в організм можуть викликати отруєння (гострі чи

хронічні), і лише в тому випадку, коли їхня концентрація в повітрі перевищує граничну для кожної речовини величину [48].

Ще одними з найважливіших НШВ факторів – є біологічні. До них відносять мікроорганізми: бактерії, віруси, гриби, рикетсії, спірохети, хламідії, глисти, найпростіші, та їх продукти метаболізму; патогенні мікроорганізми; культури живих клітини і спори, що містяться в препаратах; біологічно активні речовини, які отримують методом мікробіологічного синтезу, тощо.

Більшість мікроорганізмів мають здатність викликати захворювання при контакті з людьми, здатність проникати в негерметичні приміщення, будівлі та інфікувати інших людей. Ці мікроорганізми можуть потрапляти в організм людини через верхні дихальні шляхи, кров, шкіру та слизові оболонки [49].

До психофізіологічних небезпечних та шкідливих виробничих факторів в лабораторії належать нервово-психічні перевантаження: перенапруження органів чуття, монотонність праці.

Перенапруження органів чуття, а саме органів зору та слуху, відбувається під час довготривалої роботи за комп'ютером та окремим лабораторним устаткуванням – мікродозаторами, мікроскопом, шейкером, тощо. Можливими причинами виникнення зорового дискомфорту також може бути недостатнє освітлення робочого приміщення, робота з мікропланшетами та дрібними колоніями мікроорганізмів.

4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів в лабораторії біологічного контролю

Для зменшення рівня шуму застосовують методи і засоби колективного та індивідуального захисту. Так використання звукопоглинальних матеріалів для облицювання стін, стелі та підлоги поглинають значну частину звуку. Для зменшення аеродинамічного шуму, джерелом якого є вентиляційна система, можна використовувати спеціальні глушники, або ж зменшити потік повітря в системі. В

якості засобів індивідуального захисту пропонується використовувати протишумові вставки – так звані «беруші» [50].

Для запобігання захворювань, спричиненими дією УФ-випромінювання слід дотримуватися техніки безпеки під час робіт, пов'язаних із впливом цього виробничого чинника. Пропонується використовувати засоби індивідуального захисту – окуляри із захисного скла (флінтглас).

Для зменшення наслідків дії бактерицидних ламп слід дотримуватися вимог, зазначених в паспорті та інструкції з експлуатації. Працювати з бактерицидними опромінювачами має лише той персонал, який пройшов відповідний інструктаж. Також рекомендується періодично очищувати відбивальні поверхні та колби ламп від пилу. Ще однією умовою зменшення дії таких опромінювачів на організм людини є розміщення вимикачів останніх зовні приміщення біля входних дверей [45, 46].

З метою профілактики негативного впливу електромагнітного випромінювання від комп'ютера та іншого устаткування слід:

- використовувати спеціальні екрануючі фарби для стін та інших поверхонь, які здатні поглинати електромагнітні промені;
- розміщувати монітор комп'ютера так, щоб його задня панель була відвернута від інших користувачів;
- робити перерви під час роботи з комп'ютером;
- вимикати екран, якщо на ньому не працюють.

Для працівників, які систематично перебувають у зоні дії ЕМВ, рекомендовано проводити профілактичні медичні огляди [47].

Під час роботи в умовах можливого впливу шкідливих та небезпечних хімічних речовин на організм працівника необхідно дотримуватися встановлених правил охорони праці:

- Робота в лабораторії починається з проведення інструктажів з охорони праці працівникам.
- Використовувати засоби індивідуального захисту.
- Підтримувати чистоту та порядок на робочому місці.

- Робоче місце забезпечити необхідною кількістю води та нейтралізуючих речовин.
- Систематично перевіряти роботу вентиляційної системи.
- Проводити дезінфекцію робочого місця, т.д. [51].

Усі операції, пов'язані з використанням або можливим утворенням та виділенням токсичних, вибухонебезпечних речовин або речовин із запахом, проводяться лише у витяжній шафі, з постійною вентиляцією та із обов'язковим застосуванням засобів індивідуального захисту (одяг, взуття, маски/респіратори, захисні окуляри). Речовини невідомого походження та речовини без написів на робочому місці не зберігаються.

Також для зменшення дії шкідливих та небезпечних хімічних речовин на організм людини рекомендовано проводити лікувально-профілактичні заходи: проведення медичних оглядів, відправлення працівників до лікувально-оздоровчих закладів, забезпечення харчуванням [45].

Згідно ДСП 9.9.5.-080-02 [51] при роботі з мікроорганізмами-продуцентами, патогенними мікроорганізмами, живими клітинами і спорами, що містяться в препаратах обов'язковим є застосування засобів індивідуального захисту (стерильного одягу, взуття, захисних окулярів та респіратора). Робота з біологічним матеріалом проводиться в витяжній шафі з постійною вентиляцією.

Для профілактики нервово-психічних перевантажень необхідно приділити увагу дотриманню режимів праці та відпочинку. З метою зменшення перенапруження органів зору рекомендовано встановлювати монітор комп'ютера на відстані 50-60 см від очей, але не більше ніж 75 см. При довготривалій роботі за комп'ютером необхідно робити короткочасні перерви – 5-хвилинний відпочинок після кожної години роботи. Найкращим варіантом буде покидати своє робоче місце, що дозволить відволіктися від монотонної праці [47].

Велику увагу слід також приділити раціональному освітленню робочого приміщення.

В лабораторії біологічного контролю одними з найнебезпечніших виробничих факторів є використання та робота зі шкідливим хімічними речовинами, мікроорганізмами та препаратами, що містять живі клітини та спори.

Оскільки більша частина дослідів проводиться під витяжною шафою, то для зниження впливу наведених виробничих факторів на працівника доцільним є забезпечення місцевої витяжної вентиляції.

Кількість повітря, що вилучається витяжною системою, рахується за формулою:

$$L = F \cdot v \cdot 3600, (\text{м}^3/\text{год}) \quad (1)$$

де F – площа перерізу отвору місцевої витяжки, м^2 ;

v – швидкість руху вилученого повітря в цьому отворі (приймається від 0,5 до 1,7 м/с в залежності від токсичності та леткості газів і парів) [52].

Площа перерізу отвору місцевої витяжки дорівнює:

$$F = \frac{\pi \cdot d^2}{4}, (\text{м}^2) \quad (2)$$

де d – діаметр повітропроводу, м.

Стандартний діаметр повітропроводу дорівнює 0,25 м.

$$F = \frac{3,14 \cdot 0,25^2}{4} = 0,05 (\text{м}^2)$$

Приймаємо швидкість руху вилученого повітря в отворі за 1 м/с.

Підставляємо отримані значення до формули (1):

$$L = 0,05 \cdot 1 \cdot 3600 = 180 (\text{м}^3/\text{год})$$

Отже, для забезпечення необхідної вентиляції та циркуляції повітря в лабораторії біологічного контролю потужність місцевої витяжної вентиляції має дорівнювати 180 м³/год.

4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки в лабораторії біологічного контролю

Причинами виникнення пожежі в лабораторії біологічного контролю можуть стати:

- порушення правил пожежної безпеки;
- невідповідність НПАОП 40.1-1.01-97 та робота несправного електрообладнання, що може призвести до короткого замикання, і в результаті до пожежі;
- необережне поводження з відкритим вогнем;
- використання легкозаймистих речовин (етиловий спирт, ін.), тощо.

Відповідно до НАПБ А.01.001-2004 [53] пожежна безпека в лабораторії повинна забезпечуватися системою запобігання пожежі, системою протипожежного захисту і системою організаційно-технічних заходів.

Протипожежний захист має досягатися застосуванням одного з наступних способів або їх комбінацією:

- застосуванням засобів пожежогасіння та відповідних видів пожежної техніки;
- застосуванням автоматичних установок пожежної сигналізації і пожежогасіння;
- застосуванням основних будівельних конструкцій і матеріалів, в тому числі використовуваних для облицювання конструкцій, з нормованими показниками пожежної небезпеки;
- нанесенням на поверхні конструкцій вогнезахисних фарб;
- пристроями, що забезпечують обмеження поширення пожежі;

- організацією за допомогою технічних засобів, включаючи автоматичні, своєчасного оповіщення та евакуації людей;
- застосуванням засобів колективного та індивідуального захисту людей від небезпечних факторів пожежі;
- застосуванням засобів протидимного захисту.

В лабораторії біологічного контролю повинна бути розроблена така документація з пожежної безпеки:

- загальнооб'єктова інструкція про заходи пожежної безпеки на підприємстві;
- інструкції пожежної безпеки в лабораторіях;
- інструкція з обслуговування установок пожежогасіння;
- інструкція з обслуговування установок пожежної сигналізації;
- встановлена система оповіщення людей про пожежу;
- схема евакуації людей на випадок пожежі;
- оперативний план пожежогасіння на підприємстві;
- оперативні картки дій на випадок виникнення пожежі;
- плани та графіки проведення протипожежних тренувань, навчання і перевірки знань персоналу, технічного нагляду за системами пожежного захисту [53].

У разі виникнення вибуху чи пожежі персонал лабораторії повинен негайно закрити всі вікна, вимкнути електричні та газові прилади, зупинити роботу системи вентиляції. В обов'язковому порядку викликається пожежна охорона, і за необхідності проводиться евакуація персоналу. При надзвичайних ситуаціях персонал, що працює у боксі, повинен негайно застосувати звукову сигналізацію.

4.4. Висновки до розділу

Працюючи в лабораторіях, організм людини зазнає впливу різних небезпечних та шкідливих виробничих факторів, пов'язаних з характером роботи.

Безпека в лабораторіях біологічного контролю повинна забезпечуватися відповідно до вимог ГОСТ 12.0.003-74 «Небезпечні та шкідливі виробничі фактори.

Класифікація». Лабораторія повинна відповідати вимогам гігієни праці та виробничій санітарії. Контролюються показники рівня шуму, електромагнітного та ультрафіолетового випромінювання, гранично допустимі концентрації хімічних та біологічних речовин в повітрі. Періодично проводять огляд фізичного та психологічного стану здоров'я працівників.

Забезпечення пожежної та вибухової безпеки в лабораторії біологічного контролю відбувається на підставі НАПБ А.01.001-2004 «Правила пожежної безпеки в Україні».

РОЗДІЛ 5

ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Антропогенна діяльність є частиною боротьби за задоволення основних життєвих потреб. Щоб мати змогу підтримувати життя, люди знаходять кращі засоби для вирішення проблем розвитку не дивлячись на те, що така діяльність, в результаті, впливає на зміни в навколишньому середовищі, і, в подальшому, на стан здоров'я самих людей.

Онкологічні захворювання – одна з найбільш актуальних проблем сучасності, яка в першу чергу стосується сфери медицини. Існує дуже багато факторів, які сприяють погіршенню стану людини, і одним з кращих прикладів є вплив навколишнього середовища.

З розвитком сучасних технологій, зі збільшенням кількості промислових підприємств та транспортних засобів, використанням добрив і небезпечних хімікатів, а також появою нових шкідливих речовин, екологічний стан нашої планети з кожним роком стає гірше [54].

Далі будуть наведені основні фактори навколишнього середовища, які потенційно впливають на розвиток ракових пухлин.

5.1. Фактори навколишнього середовища спричинені впливом антропогенної діяльності, що потенційно впливають на розвиток ракових пухлин

Такі фактори навколишнього середовища, як рентгенівське випромінювання, гамма-випромінювання, випромінювання від радіоактивних елементів, УФ-випромінювання, забруднення повітря, забруднення ґрунтів, забруднення води, продукти згоряння побутового газу, азбест, полімерні матеріали, харчові добавки, деякі хімічні речовини, що використовуються в косметології, відіграють важливу роль у перебігу розвитку раку.

Рентгенівське і гамма-випромінювання широко використовуються для медичної візуалізації. Лікарі використовують низькі дози опромінення для діагностики різних захворювань (наприклад, комп'ютерна томографія (КТ) – рентгенологічний метод, який генерує тривимірне зображення), або ж високі дози (при променевої терапії) – для лікування раку. Однак, у кількох дослідженнях було описано і доведено, що діагностичне рентгенівське випромінювання призводить до мутацій, і, як наслідок, – раку [55]. У літературі повідомляється, що відсоток усіх видів раку, пов'язаних з радіацією, становить 2-3%.

Іонізуюче випромінювання може також стимулювати появу новоутворень у випадку проникаючого опромінення щитовидної залози (рак щитовидної залози), грудної клітки (рак легень) та сечового міхура (злоякісні пухлини сечового міхура). Коли під час терапії пухлини головного мозку застосовуються більш високі дози опромінення, підвищується ризик розвитку гліом та гліальних пухлин.

Було встановлено, що діагностична рентгенологія, проведена вагітним жінкам, підвищує ризик розвитку раку в дитячому віці. Діти, які потрапляють під рентгенівські промені, найчастіше хворіють на рак печінки, рак кісток, рак шлунково-кишкового тракту та лейкемію, тоді як жінки, які пройшли променеви терапію злоякісної пухлини грудної клітки в дитинстві, частіше хворіють на рак молочної залози. Потреба в променевої терапії у випадку вже наявного раку в дитячому віці значно збільшує ризик вторинного раку [56].

Деяка частина випромінювання, котра впливає на організм, міститься в радіоактивних елементах. До таких елементів належить радон – самий тяжкий газ на планеті, який утворюється в земній корі в процесі розпаду більш тяжких елементів. Якщо будинки будують із каменю, а особливо із граніту, то слід очікувати підвищеного накопичення в ньому радону.

Викид великої кількості ізотопу йоду в наслідок аварії на Чорнобильській АЕС став причиною стрімкого росту захворюваності раком щитовидної залози.

Взагалі в районах вибухів атомних електростанцій, а також родовищ (в більшості випадків мова йде про уран) завжди спостерігається підвищений

радіаційний фон, розповсюджується радіоактивний пи́л і реєструється підвищена в порівнянні з іншими регіонами онкологічна захворюваність [57].

Через деформацію озонового шару – утворення так званих «озонових дірок» – з кожним роком все більше спостерігається підвищення рівня ультрафіолетового випромінювання. Це негативно може вплинути на організм людини, оскільки зменшення озонового шару навіть на 1 % призводить до посилення УФ-випромінювання на 2 % та до зростання захворювань на рак шкіри і катаракти очей на 5-6 % [58].

Хронічний та надмірний вплив сонячного світла часто призводить до таких наслідків, як еритема або сонячний опік, а також пізніх симптомів – прискореного старіння шкіри та навіть канцерогенезу. Доведено, що надмірний вплив УФ-випромінювання значно збільшує ризик розвитку пігментного та непігментного раку шкіри – меланоми та плоскоклітинного раку шкіри.

Сьогодні великої популярності серед молодих людей, які легко піддаються представленому в засобах масової інформації образу засмаглої шкіри, набули так звані солярії. Проте не всім відомо, що дози випромінювання УФ-лампами для засмаги значно перевищують дози, до яких шкіра вразлива під впливом сонячного світла, що може спричинити дефекти захисних механізмів. Наукові дослідження щодо впливу штучного ультрафіолетового випромінювання на шкіру показали, що часте та тривале використання солярію збільшує ризик розвитку меланоми та плоскоклітинного раку шкіри [56].

Високі концентрації шкідливих викидів в атмосфері є основною причиною забруднення повітря. Забруднювачі повітря, як правило, присутні у вигляді суміші із газів і частинок. На сьогодні виявлено 189 токсичних та небезпечних забруднювачів повітря. Основні з них та їх джерела наведені в таблиці 5.1 [59].

Таблиця 5.1

Джерела забруднення повітря

Забруднювач	Джерело
Ультрадисперсні тверді частинки (діаметр <0,1 мкм)	Дизельне пальне

Тверді частинки	Рух (трафік)
	Лісові пожежі
	Деревний дим
	Інфільтрація в приміщенні
Озон	Хімічна реакція на оксиди азоту та леткі органічні сполуки
Діоксид азоту	Рух (трафік)
Окис вуглецю	Рух (трафік)
Вуглекислий газ	Рух (трафік)
	Масова вирубка лісів
Діоксид сірки	Промислові відходи – спалювання та переробка вугілля, нафти та металовмісних руд
	Бензин, хоча останнім часом вміст сірки зменшився

Викиди промислових підприємств (табл. 5.2) [60] та відпрацьовані гази двигунів автомобілів – це два найголовніші фактори забруднення повітря. Заводи розташовують так, щоб всі викиди відносило повітрям в протилежну від міст сторону. Однак з часом, все розбудовується, змінюються напрямки вітрів і погодні умови. Застаріле устаткування ламається, що призводить до частіших аварій і великої кількості шкідливих викидів в атмосферу.

Таблиця 5.2

Види промислового виробництва з доведеною канцерогенністю

Назва промисловості	Назва хвороби
Виробництво чавуну і сталі	Рак легені, шлунково-кишкового тракту, сечостатевої системи
Виробництво аураміну	Рак сечового міхура, передміхурової залози

Виробництво коксу, переробка кам'яновугільних, нафтових і сланцевих смол, газифікація вугілля	Рак шкіри, легені, нирки, сечового міхура
Виробництво коксу, переробка кам'яновугільних, нафтових і сланцевих смол, газифікація вугілля	Рак шкіри, легені, сечового міхура
Виробництво гуми та гумових виробів	Рак сечового міхура, легені, шлунково-кишкового тракту, лімфатичної системи (кровотворної системи – лейкомія)
Алюмінієва промисловість	Рак сечового міхура, легені
Виробництво ізопропілового спирту	Рак гортані, пазух носа, легені
Літійна промисловість	Рак легені
Деревообробне та меблеве виробництво	Рак пазух носа
Резинова промисловість	Рак сечового міхура, легені, шлунка, товстої кишки, простати, шкіри
Взуттєва промисловість	Рак порожнини носа, сечового міхура, лейкози
Виробництво та використання фарб, до складу яких входять канцерогенні сполуки	Рак сечового міхура, легені, стравоходу

З кожним роком кількість автотранспорту зростає з геометричною прогресією – як наслідок, збільшення відпрацьованих газів, що містять більше 200 різних компонентів, багато з яких токсичні [57].

Вплив різних хімічних речовин та важких металів в залежності від опроміненої дози, генетики, імунної стійкості людей та загального стану здоров'я асоціюється з ризиком різних видів раку, включаючи рак молочної залози, підшлункової залози, рак легень та раку жовчного міхура тощо. Метали, що потрапляють в організм через повітря, їжу, воду або шкірний покрив, здійснюють свій ферментативний та генотоксичний вплив на різні органи. Деякі важкі метали – миш'як, кадмій, хром, нікель і цинк – відомі як попередники раку. Вони зв'язуються з життєво важливими клітинними компонентами, такими як структурні білки, ферменти та нуклеїнові кислоти. Так, було визначено вплив кадмію на рак легень та

простати. Крім того, існує взаємозв'язок між впливом певних сполук металів та розвитком раку молочної залози [55].

Ще однією причиною забруднення повітря є різне сміття, якого вже назбиралося близько 20 млрд тонн. Його продукти розпаду забруднюють повітря, потрапляють в ґрунт і у воду.

Забруднення повітря хімічними речовинами, які мають канцерогенні та мутагенні властивості, є значним фактором ризику появи злоякісних захворювань, насамперед органів дихання [54].

Забруднення води. Для забезпечення водними ресурсами у більшості містах найчастіше використовується вода з відкритих водойм, яка, звичайно, піддається очищенню на спеціальних очисних станціях. Не зважаючи на це, є ряд шкідливих факторів, які згубно впливають на якість води. До них належать:

- Добрива та пестициди – використовуються в сільському господарстві, з дощовими водами змиваються в найближчу водойму.
- Каналізаційні стоки – значна кількість канцерогенних речовин (пил підприємств, викиди транспорту) змивається до стоків під час дощу. Взимку ситуація погіршується, оскільки для очищення доріг та вулиць від снігу використовують солі.
- Промислові викиди. Як відомо більшість підприємств мають системами очистки, але цього не достатньо для повного знешкодження відходів власного виробництва. В результаті у воду потрапляють свинець, ртуть, хлор, миш'як і багато інших токсичних речовин, які викликають різні захворювання людини, включаючи рак [57].
- Одним із основних забруднювачів води, що збільшує ризик появи раку, є дезінфекція – процес, який захищає наше здоров'я від інших хвороб. Дезінфекція загального водопостачання хлором зменшує кількість захворювань та смерть, пов'язану з мікробами, що передаються водою. Але коли хлор взаємодіє з органічними сполуками, які часто містяться у поверхневих водах, можуть утворюватися сотні різних хімічних сумішей, які називаються побічними продуктами дезінфекції.

В експериментальних дослідженнях на тваринах було виявлено, що кілька побічних продуктів дезінфекції, включаючи хлороформ, тригалометани та деякі галоуксусні кислоти, викликають рак.

Вагомі дані епідеміологічних досліджень свідчать про те, що тривалий вплив побічних продуктів дезінфекції в питній воді збільшує ризик раку сечового міхура і, можливо, раку товстої кишки, прямої кишки та стравоходу [61].

Забруднення ґрунтів. Ґрунт є кінцевим накопичувачем практично всіх шкідливих речовин, які згадувалися вище в тексті про забруднення повітря та води. Основними джерелами забруднення ґрунтів є велика і мала промисловості та транспорт, від яких у ґрунти через атмосферу потрапляють пил, сажа і величезна кількість важких металів.

Іспанські епідеміологи та геологи виявили асоціації між раком стравоходу та ґрунтами, де багато свинцю, раком легенів та місцевостями із підвищеним вмістом міді, пухлиною головного мозку з ділянками, багатими миш'яком, та раком сечового міхура з високим вмістом кадмію. Ці статистичні зв'язки не вказують на наявність причинно-наслідкових зв'язків між типом ґрунту та раком, але вони пропонують аналізувати вплив металів із земної поверхні на географічний розподіл пухлин [62].

Сільське господарство є найбільшим забруднювачем ґрунтів, оскільки в своїй діяльності використовують різні пестициди і добрива. Якщо такі небезпечні речовини потраплять у продукти харчування та питну воду, вони можуть викликати порушення діяльності ЦНС, серцево-судинної та інших систем організму, адже володіють мутагенною та канцерогенною діями.

Сьогодні майже в кожній оселі є газові плити та колонки. Під час згоряння побутового газу в приміщення виділяється та накопичується деяка кількість чадного газу та бензопірену.

Бензопірен – один з найнебезпечніших речовин, володіє мутагенними властивостями. Онкологічна небезпека бензопірену полягає в тому, що він здатен швидко проникати в кров і розповсюджуватись практично по всіх внутрішніх органах. Відноситься до канцерогенів слабкої сили, проте його похідні набагато сильніші і провокують утворення злоякісних пухлин легень, печінки та шлунку [63].

Азбест – група волокнистих мінералів, які застосовувались раніше в промисловості завдяки таким їх винятковим якостям, як міцність при розтягуванні, низька теплопровідність і відносна стійкість до хімічного впливу. З цих причин азбест використовувався для ізоляції в будівлях і в якості інгредієнта в цілому ряді виробів, таких як покрівельні гонти, водопровідні труби, вогнезахисні покриття, а також зчеплення, гальмівні колодки, ущільнювальні кільця та опори для автомобілів.

Сьогодні ж азбест визнаний небезпечним канцерогеном. Вплив азбесту, як і його похідних, викликає рак легень, гортані і яєчників, перитонеальний рак та мезотеліому (рак плеври), а також є причиною інших захворювань [64].

Для обробки стін, для теплоізоляції та при виготовленні меблів і шпалер часто використовуються полімерні матеріали. Якщо при будівництві та ремонтах не дотримуватись встановлених норм і правил їхнього використання, то в приміщеннях у високих концентраціях можуть накопичуватись формальдегід, ацетон, бензол, бутилакрилат і багато інших речовин, які є сильними канцерогенами [57].

Сьогодні харчові добавки та барвники активно використовують в харчовій промисловості для підсилення смаку і аромату деяких продуктів. Є цілий ряд таких речовин, віднесених до числа канцерогенів.

Наприклад, у деяких експериментах були виявлені коричний антранілат та тіосечовина, подібні синтетичним добавкам, які викликають рак печінки, і тому їх заборонено вживати в продуктах харчування. Однак деякі речовини, включаючи нітритні солі, нітрит натрію (E 250) або нітрит калію (E 249), використовуються незважаючи на збільшення ризику раку. Ці речовини входять до складу м'ясних виробів, як антибактеріальні та барвникові засоби. Споживання «оброблених» м'ясних продуктів збільшує ризик розвитку раку кишечника на 21 % [55].

З хімічними речовинами, які використовуються в косметології, ознайомлений не кожен. А слід би знати, що виробники часто використовують у виробництві косметики та парфумів різні хімічні речовини.

Так, у складі косметики, а особливо у фарбі для волосся, можна побачити хімічний канцероген – ариламін, який може засвоюватися і накопичуватися в нашому організмі. Ці речовини, за даними наукових досліджень, можуть стати причиною

появи раку сечового міхура або лімфоми у тих, хто тривалий час використовує фарби для волосся. Також слід звернути увагу на наявність в складі косметики α -оксикислоти і бутилоксианізолу. Вони підвищують чутливість шкіри до УФ-променів, і як наслідок – підвищення ризику карценогенезу [65].

Ще сім хімічних речовин, таких як: діоксан, вазелін, формальдегід, синтетичні ароматизатори, тальк, парабани та фталати, які містяться в косметичних продуктах, вважаються канцерогенними [62].

5.2. Висновки до розділу

Рак – це складне генетичне захворювання, яке є наслідком впливу навколишнього середовища, і яке служить рушійною силою для ініціювання розвитку та прогресування новоутворень. На додаток до всіх вище наведених даних, є багато інших факторів навколишнього середовища, спричинених антропогенною діяльністю, які впливають на розвиток різних видів раку у людини.

Було встановлено фактори навколишнього середовища, які відіграють важливу роль у перебігу розвитку раку. До таких належать: рентгенівське випромінювання, гамма-випромінювання, випромінювання від радіоактивних елементів, УФ-випромінювання, забруднення повітря, забруднення ґрунтів, забруднення гідросфери, продукти згоряння побутового газу, азбест, полімерні матеріали, харчові добавки та барвники, деякі хімічні речовини, що використовуються в косметології.

ВИСНОВКИ

1. Кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*) – багаторічна трав'яниста рослина сімейства Айстрові. Її препарати у вигляді водних екстрактів, настоїв, настоянок та відварів застосовуються для лікування та профілактики різних захворювань. Проявляє жовчогінну, гепатопротекторну, проносну, седативну, гіпнотичну, знеболюючу, протизапальну та протипухлинну дії.

2. Протиракову активність перевіряли на ракових клітинних лініях WISH ATCC-№ CCL-25 та NFS-60. Клітинна лінія WISH це моношарова лінія епітеліальних клітин, отримана з людського амніону, розглядається як похідна від клітинної лінії HeLa. Клітинна лінія NFS-60 отримана з клітин мієлобластів мишей.

3. Екстракцію біологічно активних речовин з кульбаби лікарської проводили дистильованою водою на водяній бані при температурі 55 °C протягом 30 хвилин.

4. Результати дослідження показують, що максимальне інгібування клітинної лінії WISH відбувається під впливом екстракту сухих коренів при концентрації 1:2, де відсоток живих клітин становить 25,5% порівняно з контролем. Менше інгібування відбувається під впливом екстрактів сухої кульбаби (корінь, суміш і листя) при концентрації 1:1. Відсоток живих клітин становить: : для екстракту сухих коренів – 39,2%; для суміші екстрактів – 42,0%; для екстракту сухого листя – 43,3%.

5. Максимальне інгібування клітинної лінії WISH під дією екстракту свіжого кореня, суміші екстрактів та екстракту свіжого листя відбувається при концентрації 1:1. Відсоток живих клітин становить 55,7%, 58,7% і 58,7% відповідно. При інших концентраціях інгібування клітинної лінії відбувається в меншій мірі.

6. Максимальне інгібування клітинної лінії NFS-60 відбувається під дією екстракту сухого кореня, суміші екстрактів та екстракту сухого листя при концентрації 1:1, де відсоток живих клітин становить 42,6%, 28,5% і 15,1% відповідно.

7. Інгібування клітинної лінії NFS-60 під дією екстрактів свіжої кульбаби лікарської не відбувається.

8. Встановлено, що екстракт сухих коренів краще впливає на клітинну лінію WISH, а суміш екстрактів та екстракт сухого листя – на клітинну лінію NFS-60. Екстракти із свіжих зразків кульбаби лікарської впливають лише на клітинну лінію WISH.

СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Evaluating Medicinal Plants for Anticancer Activity / Solowey E., Lichtenstein M., et al. // *The Scientific World Journal*. – 2014. – Vol. 2014 – P. 12.
2. Куркин В. А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов / В. А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2004. – 1180 с.
3. Мельничук О. С. Етимологічний словник української мови: в 7 т. / АН УРСР, Ін-т мовознавства ім. О. О. Потебні; Редкол. О. С. Мельничук (головний ред.) та ін. – К. : Наук. Думка, 1983.
4. Lim T. K. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, volume 7: Flowers* / T. K. Lim. – London, UK: *Springer*, 2014. – P. 1102.
5. Єлін Ю. Я. Дари лісів / Ю. Я. Єлін, М. Я. Зерова, В. І. Лушпа. – 2-е вид. , доп. і перероб. – К. : Урожай, 1979. – 392 с.
6. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А. М. Гродзінський. – К. : Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М. П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. – 544 с.
7. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – 732 с.
8. Соколов П. Д. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Asteraceae (Compositae). – СПб. : Наука, 1993. – 352 с.
9. Константинов Ю. М. Одуванчик, подорожник. Природные лекарства / Ю. М. Константинов. – Москва: Центрполиграф, 2013. – 160 с.
10. Максютин, Н. П. Растительные лекарственные средства / Н. П. Максютин, Н. Ф. Комиссаренко, А. П. Прокопенко, Л. И. Погодина, Г. Н. Липкан. – К. : Здоровье, 1985. – 279 с.

11. Рева М. Л. Дикі їстівні рослини України / М. Л. Рева, Н. К. Рева. – К. : Наукова думка, 1976. – 165 с.
12. Roberfroid M. B. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients / M. B. Roberfroid. – CRC Press, 2004. – P. 392.
13. Charalampopoulos D. Prebiotics and Probiotics Science and Technology / D. Charalampopoulos, R. A. Rastall. – New York, Springer, 2009. – P. 1273.
14. Артамонов В. И. Зеленая лаборатория планеты / В. И. Артамонов. – М. : «Агропромиздат», 1987. – 143 с.
15. Ninness Kathy R. Inulin and Oligofructose: What Are They / Kathy R. Ninness // *The Journal of Nutrition*. – 1999 – Vol. 129. – P. 1402–1406.
16. Simon J. E. Herbs: an indexed bibliography. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone / J. E. Simon, A. F. Chadwick, L. E. Craquer. – Amsterdam: Hamden, Conn, 1984. – P. 345.
17. Cooper P. D. The anti-melanoma activity of inulin in mice / P. D. Cooper, M. Carter // *Molecular Immunology*. – 1986. – Vol. 23. – P. 903–908.
18. Taper H. S. Growth inhibition of transplantable mouse tumors by non-digestible carbohydrates / H. S. Taper, N. M. Delzenne, M. B. Roberfroid // *International Journal of Cancer*. – 1997. – Vol. 71. – P. 1109–1112.
19. Taper H. S. Influence of Inulin and Oligofructose on Breast Cancer and Tumor Growth / H. S. Taper, M. B. Roberfroid // *The Journal of Nutrition*. – 1999. – Vol. 129. – P. 1488–1491.
20. Inulin: Properties, health benefits and food applications / Shoaiba M., Shehzad A., et al. // *Carbohydr Polymer*. – 2016. – Vol. 147. – P. 444–454.
21. Беркало Л. А. В поисках ключ-травы: Книга о лекарственных растениях / Л. А. Беркало. – Х. : Прапор, 1990. – 269 с.
22. Буданцев А. Л. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А. Л. Буданцев, Е. Е. Лесиовская. – СПб. : Издательство СПХФА, 2001. – 663 с.
23. Ten health benefits of dandelion. Medical News Today website. – [Electronic resource]. – Access mode: https://www.medicalnewstoday.com/articles/324083#_noHeaderPrefixedContent/

24. Taraxacum officinale induces cytotoxicity through TNF- α and IL-1 α secretion in HepG2 cells / Koo H. N., Hong S. H., et al. // *Life Sciences* – 2004. – Vol. 74. – P. 1149–1157.
25. Evaluation of aqueous extracts of Taraxacum officinale on growth and invasion of breast and prostate cancer cells / Sigstedt S., Lowrey T.K., Jenkins A.R., Kornienko A., et al. // *International Journal of Oncology* – 2008. doi:10.3892/ijo.32.5.1085
26. Dandelion root extract affects colorectal cancer proliferation and survival through the activation of multiple death signalling pathways / Ovadje P., Ammar S., Guerrero J.A., et al. // *Oncotarget*, – 2016. – Vol. 7. doi:10.18632/oncotarget.11485.
27. Selective induction of apoptosis and autophagy through treatment with dandelion root extract in human pancreatic cancer cells / Ovadje P., Chochkeh M., Akbari-Asl P., et al. // *Pancreas*. – 2012. – Vol. 41. – P. 1039–1047.
28. Ovadje P. Efficient induction of extrinsic cell death by dandelion root extract in human chronic myelomonocytic leukemia (CMML) cells / Ovadje P., Hamm C., Pandey S. // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. doi:10.1371/journal.pone.0030604.
29. *Taraxacum officinale* extract shows antitumor effects on pediatric cancer cells and enhance mistletoe therapy / Menke K., Schwermer M., Felenda J., et al. // *Complementary Therapies in Medicine*. – 2018. – Vol. 40. – P. 158–164.
30. Choi E. J. Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower ethanol extract inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human ovarian cancer CSK-OV-3 cells / E. J. Choi, G. H. Kim // *Food science and biotechnology*. – 2009. – Vol. 18. – P. 552–555.
31. The Efficacy of *Taraxacum officinale* Leaves Extract in Regulate Apoptosis, RAR β 2 gene and Sox2 expression on Primary Culture Human Cervical Cancer Stem Cells / Ketut Edy Sudiarta, Satuman, Wibi Riawan, et al. // *International Journal of PharmTech Research*. – 2015. – Vol. 8. – P. 803–812.
32. Пономарев В. Д. Экстрагирование лекарственного сырья / В. Д. Пономарев. – М. : «Медицина», 1976. – 202 с.
33. Чуешов В. І. Технологія ліків промислового виробництва: підручник для студ. вищ. навч. закл. : в 2-х ч. / В. І. Чуешов, Є. В. Гладух, І. В. Сайко та ін. – 2-е вид., перероб. і доп. – Х. : НФаУ: Оригінал, 2012. – Ч. 1. – 694 с.

34. Перцев І. М. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків: Підручник для слухачів інститутів, факультетів підвищеної кваліфікації фахівців фармації: в 2-х т. / І. М. Перцев, І. А. Зупанець, Л. Д. Шевченко та ін.; За ред. І. М. Перцева, І. А. Зупанця. – Х. : Вид-во НФАУ, 1999. – Т. 2. – 448 с.
35. Eldridge Lynne. Cancer Cells: How They Start and Characteristics. – [Electronic resource]. – 2020. – Access mode: <https://www.verywellhealth.com/what-are-cancer-cells-2248795#citation-1/>
36. Cancerous Cell Growth and Development. Winchester Hospital website. – [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.winchesterhospital.org/health-library/article?id=36485/>
37. Eldridge Lynne. Cancer Cells vs. Normal Cells: How Are They Different? – [Electronic resource]. – 2019. – Access mode: <https://www.verywellhealth.com/cancer-cells-vs-normal-cells-2248794/>
38. Adherent Cell Culture vs. Suspension Cell Culture. Thermo Fisher Scientific website. – [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.thermofisher.com/ua/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/cell-lines/adherent-vs-suspension-culture.html/>
39. Hayflick L. The establishment of a line (WISH) of human amnion cells in continuous cultivation / L. Hayflick // *Experimental Cell Research*. – 1961. – Vol. 23. – P. 14–20.
40. Hulkower K. I. Induction of Prostaglandin H Synthase-2 and Tumor Necrosis Factor- α in Human Amnionic WISH Cells by Various Stimuli Occurs Through Distinct Intracellular Mechanisms / K. I. Hulkower, et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1997. – Vol. 280. – P. 1065–1074.
41. William D. Meek. (1986) Fine structure and immunofluorescent studies of the wish cell line / D. Meek William, L. Davis Walter // *In Vitro Cellular & Developmental Biology*. – 1986. – Vol. 22. – P. 716–724.
42. CLS Product Information: NFS-60. – [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.clsgmbh.de/pdf/nfs-60.pdf/>
43. Яблонська К. М. Отримання біологічно активних речовин з кульбаби лікарської (Taraxacum Officinale Wigg.) / К. М. Яблонська, Л. О. Косогорова, Л. І. Мосюк – Проблеми

екологічної біотехнології – [Електронний ресурс]. – 2015. – № 1. – Режим доступу: <http://ecobio.nau.edu.ua/index.php/ecobiotech/article/view/8366/16429>

44. ГОСТ 12.0.003-74. Система стандартов безопасности труда. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация. – Введ. 1976–01–01. – М. : Изд.-во стандартов, 2004. – 8 с.

45. Основи охорони праці / [Ткачук К. Н., Халімовський М. О., Запарний В. В. та ін.]; під ред. Ткачука К.Н. та Халімовського М.О. – [2-ге вид., допов. та перероб.] – К. : Основа, 2006. – 448 с.

46. Бактерицидні лампи та їх застосування у медичних закладах – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.medsprava.com.ua/article/411-bakteritsidn-lampi-ta-h-zastosuvannya-u-medichnih-zakladah#baktericidny_oprominiuvac1

47. Ткачишин В. Як захиститися від електромагнітного випромінювання побутових приладів. – Довідник спеціаліста з охорони праці № 1 – [Електронний ресурс]. – 2018. – Режим доступу: <https://esop.mcfrr.ua/615917>

48. Березюк О. В. Безпека життєдіяльності : навч. посіб. / О. В. Березюк, М. С. Лемешев; Вінниц. нац. техн. ун-т. – Вінниця, 2011. – 203 с.

49. Толлок А.О. Крюковська О.А. Безпека життєдіяльності: Навч. посібник. – Дніпродзержинськ, 2011. – 215 с.

50. Безпека праці та промислова санітарія: курс охорони праці для студентів інженерно-економічного напрямку підготовки / [К.Н. Ткачук, О.Л. Гуменюк, Бивойно Т.П., Денисова Н.М. та інші]; За редакцією К.Н. Ткачука і О.Л. Гуменюк – Чернігів: ЧДТУ, 2010. – 368 с.

51. ДСП 9.9.5.-080-02. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю. – Введ. 2002–28–01. – К. : Міністерство охорони здоров'я України, 2002. – 34 с.

52. Жидецький В. Ц. Основи охорони праці : [підруч. для студ. вищ. навч.закл.] / В. Ц. Жидецький. – Л.: Українська академія друкарства, 2006. – 336 с.

53. НАПБ А.01.001-2014. Правила пожежної безпеки в Україні. – Введ. 2014–30–12. – К. : Міністерство внутрішніх справ України, 2002. – 91 с.

54. Лекція 1. Вплив екологічних факторів на організм людини. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.kegt-rshu.in.ua/images/dustan/stas_med_ekol.pdf
55. Kaleli S. Which environment makes cancer? / S. Kaleli, A. Devenci, G. G. Eskiler // *Oncology Research and Reviews*. – 2018. – Vol.1. – P. 1–4.
56. Lewandowska A. M. Environmental risk factors for cancer – review paper / A. M. Lewandowska, M. Rudzki, et al. // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2019. – Vol. 26. – P. 1–7.
57. Вплив екологічного стану навколишнього середовища на розвиток онкологічних захворювань. – [Електронний ресурс]. – 2015. – Режим доступу: <https://ecolog-ua.com/news/vpliv-ekologichnogo-stanu-navkolishnogo-seredovishcha-na-rozvitok-onkologichnih-zahvoryuvan>
58. Хилько М. І. Екологічна безпека України: Навчальний посібник / М. І. Хилько. – Київ, 2017. – 267 с.
59. Abelsohn A. Health effects of outdoor air pollution / A. Abelsohn, D. M. Stieb // *Can Fam Physician*. – 2011. – Vol. – P. 881–887.
60. ДГН 1.1.2.123-2006. Перелік речовин, продуктів, виробничих процесів, побутових та природних факторів, канцерогенних для людини. – Введ. 2006–22–02. – К.: ІДС БУДСТАНДАРТ, 2006.
61. Jacobs Molly. Cancer. Air and Water Pollutants [Electronic resource]. – 2008. – Access mode: http://www.sustainableproduction.org/downloads/Airandwaterpollutants_001.pdf
62. Parsa N. Z. Environmental Factors Inducing Human Cancers / N. Z. Parsa // *Iran Journal of Public Health*. – 2012. – Vol. 41. – P. 1–9.
63. Вейбер Н.Ю., Гагаркин В.Е. Экологические аспекты технологий производства алюминия. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: file:///C:/Users/Sasha/Downloads/s07_002.pdf
64. Асбест: ликвидация болезней, связанных с асбестом. – [Електронний ресурс]. – 2018. – Режим доступу: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/asbestos-elimination-of-asbestos-related-diseases>

65. Яку небезпеку можуть нести в собі косметика і парфуми? – [Електронний ресурс]. – 2011. – Режим доступу: https://news.24tv.ua/yaku_nebezpeku_mozhut_nesti_v_sobi_kosmetika_i_parfumi_n89856