

## ИНТРОДУКЦИЯ РАСТЕНИЙ И БОТАНИЧЕСКОЕ РЕСУРСОВЕДЕНИЕ

УДК 615.322

### ИЗУЧЕНИЕ МИТОЗМОДИФИЦИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА АЛОЭ ЖИДКОГО (EXTRACTUM ALOES FLUIDUM) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ALLIUM TEST

Н. А. Дурнова, А. С. Шереметьева, Д. А. Тяпкина

*Саратовский государственный медицинский университет  
имени В. И. Разумовского  
Россия, 410012, Саратов, Б. Казачья, 112  
E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru*

Поступила в редакцию 02.04.2018 г., принята 23.04.2018 г.

Проведена оценка цитогенетического действия экстракта алоэ жидкого (Extractum Aloes fluidum) в диапазоне концентраций 250–4000 мг/л на клетки меристемы корней лука (*Allium cepa* L.). Учитывалась динамика роста корней лука, а также показатель митотической активности – митотический индекс. Анализ препаратов клеток корней *A. cepa* после воздействия экстрактов алоэ разных концентрации относительно негативного (дистиллированная вода) и позитивного (диоксидин 100 мг/л) контроля показал статистически значимую ( $p < 0.05$ ) обратную зависимость прироста корней и митотического индекса от концентрации. Установлено достоверное ( $p < 0.05$ ) митостатическое действие экстракта алоэ жидкого при концентрациях 500 мг/л, 1000 мг/л, 2000 мг/л, 4000 мг/л на клетки корней лука по сравнению с негативным контролем. Максимальная концентрация экстракта проявила ингибирование митотической активности сильнее ( $p < 0.05$ ), чем позитивный контроль. При воздействии на корни *A. cepa* экстракта алоэ минимальной исследуемой концентрацией 250 мг/л наблюдалась стимуляция митоза относительно негативного контроля. В результате проведенного эксперимента установлено, что алоэ жидкий обладает противоположными свойствами: при минимальной исследуемой концентрации (250 мг/л) экстракт продемонстрировал митозстимулирующие свойства, а при остальных (500–4000 мг/л) – ингибирование митотической активности.

**Ключевые слова:** экстракт алоэ жидкий, митотический индекс, *Allium test*.

DOI: 10.18500/1682-1637-2018-2-3-11

## ВВЕДЕНИЕ

Исследование возможного воздействия БАВ на деление клеток является одним из важных аспектов изучения их биологической активности и включено в руководство ВОЗ по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ (Руководство..., 1989). Для первичной оценки цитогенетического действия факторов химической и физической природы, оказывающие влияние на митотическую активность широко используется *Allium test* (Руководство..., 1989; Levan, 1949; Fiskesjo, 1985; Лаврский и др., 2013).

Для экстрактов некоторых лекарственных растений выявлена способность по-разному влиять на наследственный аппарат клеток, оказывая митозстимулирующее или митостатическое действие (Песня и др., 2011; Шереметьева, 2017). Экстракт алоэ жидкий – биогенный стимулятор растительного происхождения (Машковский, 2017). Согласно инструкции по применению инъекционного лекарственного препарат «алоэ экстракт жидкий» (ЛП-001319 от 01.06.2015) оказывает адаптогенное, общетонизирующее, противовоспалительное действие, улучшает клеточный метаболизм, трофику и регенерацию тканей (Реестр..., 2016). Нативный сок алоэ показал антиоксидантную активность в эксперименте по определению биологической активности кондуктометрическим методом (Рюшина и др., 2010). Другое исследование по влиянию ударных доз (в восемь раз больше терапевтической) экстракта алоэ на течение кистозной мастопатии у белых самок крыс доказало неполное обратное развитие заболевания в экспериментальной группе по сравнению с контролем (Огольцова и др., 2002), что указывает на его вероятную митостатическую активность. При этом прямые экспериментальные доказательства влияния экстракта алоэ разных концентраций на митотическую активность клеток отсутствуют.

Цель: изучить влияние экстракта алоэ жидкого разных концентраций (250 мг/л, 500 мг/л, 1000 мг/л, 2000 мг/л, 4000 мг/л) на митотическую активность с помощью *Allium test*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для оценки митотической активности экстракта алоэ жидкого с помощью *Allium test* использовали луковицы *Allium cepa* сорт ‘Штутгартенризен’ (Fiskesjo, 1985), которые проращивали в течение трех суток в растворах разных концентраций. Эксперимент проведен в 5-ти кратной повторности. В каждой серии исследовали 7 опытных групп: экстракт алоэ жидкий, приготовленный серией двукратных разведений

инъекционного лекарственного препарата: 250 мг/л, 500 мг/л, 1000 мг/л, 2000 мг/л, 4000 мг/л позитивный контроль – диоксидин в концентрации 100 мг/л (Шкарупа, Барияк, 2006; Шкарупа и др., 2010; Шереметьева и др., 2017) и негативный контроль – дистиллированная вода.

Анализ митотической активности проводили с помощью двух показателей: прироста корней и митотического индекса (Fiskesjo, 1985). Измерение динамики прироста осуществляли на 3-и сутки: с луковиц срезали по 15 самых длинных корней, измеряли их длину линейкой и фиксировали в ацетоалкоголе. Затем готовили микропрепараты меристем корней *A. vera* по стандартной методике (Калаев, 2004). При анализе микропрепаратов использовали микроскоп «Carl Zeiss Primo Star» и видеоокуляр CMOS 3.1МП. На каждом микропрепарате учитывали клетки на разных стадиях митоза и число клеток на стадии интерфазы. Просматривали не менее 1000 клеток при увеличении  $16 \times 40$ . Всего было проанализировано 34277 клеток (34 микропрепарата).

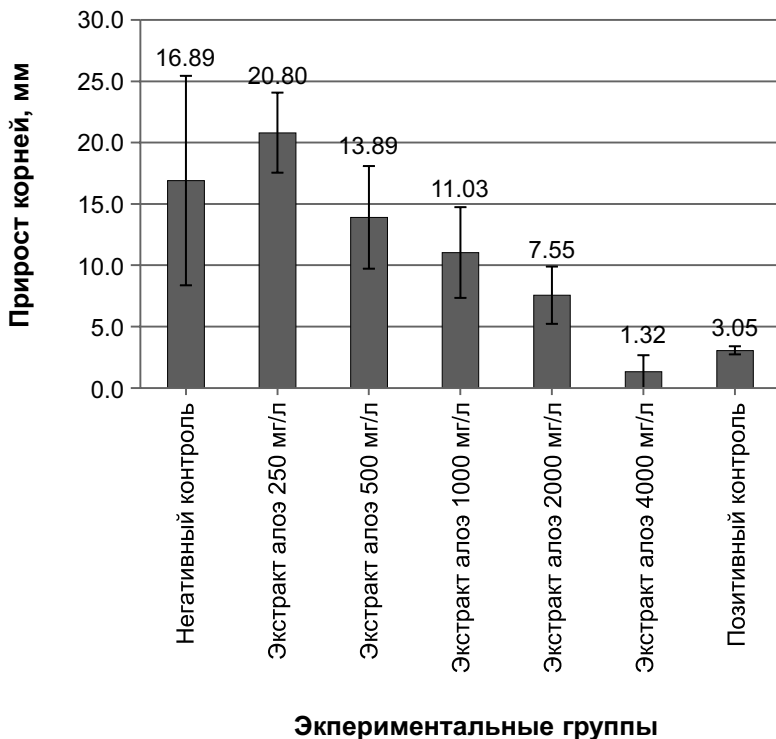
Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office 2016 с использованием критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при  $p < 0.05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение длины корней *A. vera*, получавших воздействие экстрактов алоэ разных концентраций (4000 мг/л; 2000 мг/л; 1000 мг/л; 500 мг/л; 250 мг/л) показало зависимость прироста от концентрации (рис. 1).

В эксперименте наблюдалась обратная зависимость показателей: при увеличении концентрации воздействующего экстракта, прирост корней уменьшался. Корни, прораставшие в экстракте при концентрации 250 мг/л, показали больший прирост ( $20.8 \pm 3.7$  мм) по сравнению с негативным контролем ( $16.9 \pm 8.5$  мм) (но различия при  $p < 0.05$  не достоверны). При концентрациях экстракта алоэ 500 мг/л, 1000 мг/л и 2000 мг/л прирост корней был меньше ( $13.9 \pm 4.2$ ;  $11.0 \pm 3.7$  и  $7.6 \pm 2.3$  мм соответственно) относительно негативного контроля (различия достоверны при  $p < 0.05$ ), но больше чем в позитивном ( $3.1 \pm 0.3$  мм) (различия достоверны при  $p < 0.05$ ). А при концентрации экстракта 4000 мг/л корешки продемонстрировали меньший прирост ( $1.3 \pm 1.3$  мм) по сравнению с позитивным контролем ( $3.1 \pm 0.3$  мм) (различия достоверны при  $p < 0.05$ ).

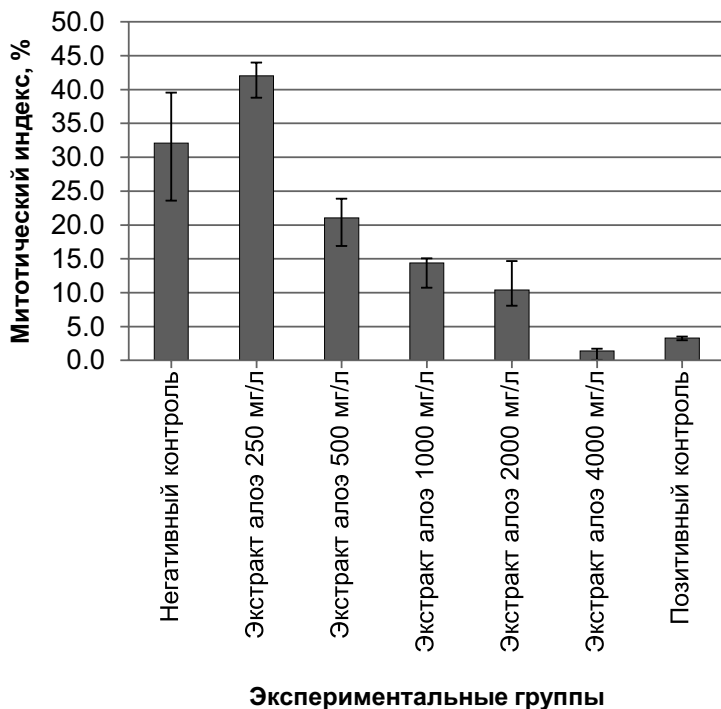
Сравнение значений митотического индекса корней *A. vera*, получавших воздействие экстрактов алоэ разных концентраций (4000 мг/л; 2000 мг/л; 1000 мг/л; 500 мг/л; 250 мг/л) подтвердило обратную зависимость митотического индекса от концентрации (рис. 2).



**Рис. 1.** Длина корешков *A. sepa* в разных экспериментальных группах  
**Fig. 1.** Length of *A. sepa* roots in different experimental groups

Значения митотического индекса при воздействии на корни экстракта алоэ концентрацией 250 мг/л ( $42.0 \pm 2.1\%$ ) были больше по сравнению с негативным контролем ( $32.1 \pm 4.1\%$ ) (при  $p < 0.05$ ). При концентрациях экстракта 500 мг/л, 1000 мг/л и 2000 мг/л митотический индекс меньше ( $21.1 \pm 2.5\%$ ,  $14.4 \pm 1.2\%$ ,  $10.4 \pm 3.1\%$  соответственно), чем в негативном контроле ( $32.1 \pm 4.1\%$ ) (при  $p < 0.05$ ), но больше, чем позитивном ( $3.3 \pm 0.7\%$ ) (при  $p < 0.05$ ). При максимальной концентрации (4000 мг/л) митотический индекс составил  $1.4 \pm 0.8\%$ , что ниже по сравнению с позитивным контролем ( $3.3 \pm 0.7\%$ ) ( $p < 0.05$ ).

Исследований по влиянию растительных экстрактов на скорость деления клеток до настоящего времени проводилось немного. Изучалось влияние антидиабетического растительного сбора (*Rubus*



**Рис. 2.** Значения митотического индекса в разных экспериментальных группах  
**Fig. 2.** The values of the mitotic index in different experimental groups

Изучалось влияние антидиабетического растительного сбора (*Rubus fruticosus* L., *Vaccinium myrtillus* L., *Potentilla erecta* Uspenski ex Ledeb., *Geum banum* L. и *Phaseolus vulgaris* L.) на митотическую активность клеток *A. cepa* (Madic et al., 2017) при концентрациях 400 мкг/мл (400 мг/л), 800 мкг/мл (800 мг/л), 1200 мкг/мл (1200 мг/л) по сравнению с негативным (дистиллированная вода) и позитивным (толуол 500 мкг/мл (500 мг/л)) контролем. Показано, что компоненты сбора оказали ингибирование митоза, зависящее от концентрации (при увеличении концентрации экстракта митотическая активность снижалась). Все испытуемые экстракты оказывали максимальное митостатическое действие ( $p < 0.05$ ) при концентрации 1200 мг/л, и минимальное – при концентрации 400 мг/л, при этом экстракт *Potentilla erecta* при концентрации 400 мг/л не проявил достоверного снижения

митотического индекса по сравнению с позитивным контролем.

Исследуемые экстракты алоэ жидкого были взяты в концентрациях, близких к концентрациям в описанном эксперименте по изучению антидиабетического сбора и показали аналогичную обратную зависимость митотического индекса от концентрации. Митостатические свойства по сравнению с негативным контролем экстракт алоэ жидкий проявляет в диапазоне концентраций 500–2000 мг/мл, как и компоненты антидиабетического сбора в исследованных концентрациях (400–1200 мг/мл). Терапевтическая концентрация (4000 мкг/мл) лекарственного препарата экстракта алоэ жидкого ингибирует митоз сильнее, чем позитивный контроль и компоненты антидиабетического сбора в изученном диапазоне концентраций.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведен анализ цитогенетической активности экстракта алоэ жидкого с помощью *Allium test*, который показал противоположные свойства: относительно влияния на митоз в растительных тканях экстракт алоэ жидкий продемонстрировал митозстимулирующие свойства при концентрации 250 мг/л по сравнению с негативным контролем, но с увеличением концентрации наблюдалось угнетение митотической активности (при концентрации 4000 мг/л экстракт показал митостатические свойства по сравнению с позитивным контролем). Так как полученные ранее результаты влияния экстракта на течение кистозной мастопатии (угнетение ее развития) у белых самок крыс показало вероятную митостатическую активность экстракта алоэ (Огольцова и др., 2002), то полученные нами экспериментальные данные актуализируют вопрос зависимости эффекта его воздействия от концентрации, а также вопрос механизмов биологического действия этого экстракта на клеточную пролиферацию и биогенную стимуляцию в целом.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Калаев В. Н.* Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2004. 80 с.

*Лаврский А. Ю., Лебединский И. А., Кузаев А. Ф., Четанов Н. А., Артамонова О. А.* Влияние электромагнитных колебаний различных частот на деление клеток в меристеме корня *Allium cepa* // Международный научно-исследовательский журнал. 2013. № 5 – 1 (12). С. 43 – 45.

*Машковский М. Д.* Лекарственные средства. М.: Новая Волна, 2017. 1216 с.  
*Огольцова Ж. А., Чумаченко П. А., Мнихович М. В., Анисимова С. А.*

К вопросу о влиянии алоэ на дисгормональные процессы в молочной железе в эксперименте // Материалы региональной научно-практической конференции НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН. Томск: Изд-во НТЛ, 2002. С. 148.

Песня Д. С., Серов Д. А., Вакорин С. А., Прохорова И. М. Исследование токсического, митозмодифицирующего и мутагенного действия Борщевика Сосновского // Ярославский педагогический вестник. 2011. Том. 3, № 4. С. 93–98.

Реестр лекарственных средств России – Энциклопедия лекарств. М.: РЛС, 2016. 1520 с.

Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ. Женева: Всемирная организация здравоохранения, «Медицина», 1989. 212 с.

Роушина В. А., Габрук Н. Г., Шутеева Т. А. Идентификация биологически активных компонентов *Aloe arborescens* Miller // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Естественные науки. 2010. Вып. 10, № 3 (74). С. 93 – 96.

Шереметьева А. С. Allium test в исследованиях цитогенетических эффектов биологически активных веществ // Экспертное мнение: сб. ст. Междунар. науч.-практ. конф. Ч. 1. Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение», 2017. С. 21 – 25.

Шереметьева А. С., Жук А. А., Переверзева Я. О., Хомякова У. А. Исследование влияния диоксидина на митотическую активность корней *Allium cepa* // Бюллетень медицинских-интернет конференций. 2017. <https://medconfer.com/node/14974> (дата обращения: 21.03.2018.).

Шкарупа В. М., Барияк І. Р. Мутагенез, індукований діоксидином в Allium-тесті // Цитология и генетика. 2006. Т. 40, вып. 5. С. 31 – 35.

Шкарупа В. М., Барияк І. Р., Неумержицька Л. В., Гуменюк І. Д. Генопротекторний ефект гумату натрію за умов індукованого оксидантного стресу // Цитология и генетика. 2010. Т. 44, вып. 1. С. 54 – 56.

Fiskesjo G. The Allium Test as a Standard in Environmental Monitoring // Hereditas. 1985. Vol. 102. P. 99 – 112.

Levan A. The Influence on Chromosomes and Mitosis of Chemicals, as Studied by the Allium Test // Hereditas. 1949. Vol. 35. P. 325 – 337.

Madic V., Jovanovic J., Stojilkovic A., Vasiljevic P. Evaluation of Cytotoxicity of «anti-diabetic» Herbal Preparation and Five Medicinal Plants: an *Allium cepa* Assay // Biologica Nyssana. 2017. Vol. 2, Is. 8. P. 151 – 158.

---

**Образец для цитирования:**

Дурнова Н. А., Шереметьева А. С., Тяпкина Д. А. Изучение митозмодифицирующего влияния экстракта алоэ жидкого (*Extractum Aloes fluidum*) с использованием Allium test // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2018. Т. 16, вып. 2. С. 3–11. DOI: 10.18500/1682-1637-2018-2-3-11.

---

**STUDY THE EFFECT OF EXTRACTUM ALOES FLUIDUM  
ON THE MITOTIC ACTIVITY OF CELLS  
USING THE ALLIUM TEST**

**N. A. Durnova, A. S. Sheremetyeva, D. A. Tyapkina**

*V. I. Razumovsky Saratov State Medical University  
112 B. Kazachya Str., Saratov 410012, Russia  
E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru*

Received 2 April 2018, Accepted 23 April 2018

The evaluation of the cytogenetic action of aloe extract liquid (Extractum Aloes fluidum) in a concentration range of 250–4000 mg/l in meristem cells of onion roots (*Allium cepa* L.) was carried out. The dynamics of onion root growth and mitotic activity index were taken into account. Analysis of preparations of *A. cepa* root cells after exposure to aloe extracts of different concentrations with respect to negative (distilled water) and positive (dioxidine 100 mg/l) control showed statistically reliable ( $p < 0.05$ ) inverse dependence of root growth and mitotic index on concentration. Aloe extract liquid inhibits the mitotic activity of cells ( $p < 0.05$ ) at concentrations of 500 mg/l, 1000 mg/l, 2000 mg/l, 4000 mg/l, compared with a negative control are shown. The maximum concentration of the extract showed inhibition of mitotic activity stronger ( $p < 0.05$ ) than positive control. Aloe extract stimulated mitosis in comparison with negative control at the impact on the roots of *A. cepa* investigated the minimum concentration of 250 mg/l. Aloe liquid has opposite properties: the extract demonstrated mitosis stimulating properties at the minimum test concentration (250 mg/l), and in others (500–4000 mg/l) – inhibited mitotic activity as a result of the experiment revealed.

**Key words:** Aloe extract liquid, mitotic index, Allium test.

DOI: 10.18500/1682-1637-2018-2-3-11

**REFERENCE**

Fiskesjo G. The Allium Test as a Standard in Environmental Monitoring. *Hereditas*, 1985, vol. 102, pp. 99 – 112.

*Guidelines for Short-term Tests for the Detection of Mutagenic and Carcinogenic Chemicals*. Geneva: World Health Organization, 1985. 208 p.

Kalayev V. N. *Cytogenetic Monitoring: Methods for Assessing Environmental Pollution and the State of the Body's Genetic Apparatus*. Voronezh: Izdatel'stvo Voronezhskogo Universiteta, 2004. 80 p. (in Russian)

Lavrsky A. Yu., Lebedinsky I. A., Kuzaev A. F., Chetanov N. A., Artamonova O. A. Effect of electromagnetic oscillations of different frequencies on cell division in root meristem *Allium cepa*. *International Research Journal*, 2013, iss. 5–1 (12),



pp. 43 – 45. (in Russian)

Levan A. The Influence on Chromosomes and Mitosis of Chemicals, as Studied by the Allium test. *Hereditas*, 1949, vol. 35, pp. 325 – 337.

Madic V., Jovanovic J., Stojilkovic A., Vasiljevic P. Evaluation of Cytotoxicity of “Anti-diabetic” Herbal Preparation and Five Medicinal Plants: an *Allium cepa* Assay. *Biologica Nyssana*, 2017, vol. 2, iss. 8, pp. 151 – 158.

Mashkovskiy M. D. *Medicinal Products*. Moscow: Izdatel'stvo “Novaya Volna”, 2017. 1216 p. (in Russian)

Ogol'tsova Zh. A., Chumachenko P. A., Mnichovich M. V., Anisimova S. A. To the Question of the Effect of Aloe on Dysghormonal Processes in the Mammary Gland in the Experiment. *Materials of the Regional Scientific and Practical Conference of the Scientific Research Institute of Oncology of the Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. Tomsk: Izdatel'stvo NTL, 2002. pp. 148. (in Russian)

Pesnya D. S., Serov D. A., Vakorin S. A., Prohorova I. M. 2011. Research of the Toxic, Mitosis Modifying and Mutagen Effect of *Heracleum Sosnowskyi*. *Yaroslavl Pedagogical Herald*, vol. 3, iss. 4, pp. 93 – 98. (in Russian)

Ryushina V. A., Gabruk N. G., Shuteeva T. A. Identification of Biologically Active Substances of *Aloe arborescens* Miller. *Scientific Bulletins. Series of Natural Sciences*, 2010, vol. 10, iss. 3(74), pp. 93 – 96. (in Russian)

Sheremetyeva A. S. Allium Test in Researches of Cytogenetic Effects of Biologically Active Substances. *Expert Opinion: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference*. Vol. 1. Penza: Nauka I Prosveshenie, 2017. pp. 21 – 25. (in Russian)

Sheremetyeva A. S., Zhuk A. A., Pereverzeva Ya. O., Khomyakova U. A. Study of the Influence of Dioxygen on the Mitotic Activity of the Roots of *Allium cepa*. *Bulletin of medical Internet conferences*. 2017. <https://medconfer.com/node/14974> (Date of access: 21.03.2018.). (in Russian)

Shkarupa V. M., Barlyak I. R. Genoprotective Effect of Sodium Humate in Conditions of Induced Oxidative Stress. *Cytology and Genetics*, 2006, vol. 40, iss. 5, pp. 31 – 35. (in Ukrainian)

Shkarupa V. M., Barlyak I. R., Neumerzhitska L. V., Gumenyuk I. D. Genoprotective Effect of Sodium Humate in Conditions of Induced Oxidative Stress. *Cytology and Genetics*, 2010, vol. 44, iss. 1, pp. 54 – 56. (in Ukrainian)

---

**Cite this article as:**

Durnova N. A., Sheremetyeva A. S., Tyapkina D. A. Study the Effect of Extractum Aloes Fluidum on the Mitotic Activity of Cells Using the Allium Test. *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2018, vol. 16, iss. 2, pp. 3–11 (in Russian). DOI: 10.18500/1682-1637-2018-1-3-11.

---