

Zaburzenia podziałów mitotycznych w komórkach somatycznych wywołane wpływem taksolu i wyciągu z *Rhodiola rosea*

Mitotic abnormalities in somatic cells caused by the influence of taxol and Rhodiola rosea extract from

Marcin Domaciuk¹, Marcin Anusiewicz²,
Agnieszka Anusiewicz³,
Dominika Dereń⁴, Klaudia Czajka⁴

¹ Zakład Anatomii i Cytologii Roślin,
Wydział Biologii i Biotechnologii,
Instytut Biologii i Biochemii, Uniwersytet
Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Polska

² Zakład Botaniki i Mykologii, Wydział
Biologii i Biotechnologii, Instytut Biologii
i Biochemii, Uniwersytet Marii Curie-
-Skłodowskiej w Lublinie, Polska

³ Samodzielny Publiczny Szpital
Kliniczny Nr 4 w Lublinie, Polska

⁴ Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut
Biologii i Biochemii, Uniwersytet Marii
Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Polska

**European Journal
of Medical Technologies**

2014; 4(5): 34-41

Copyright © 2014 by ISASDMT
All rights reserved

www.medical-technologies.eu
Published online 31.12.2014

Adres do korespondencji:

Mgr Marcin Domaciuk
Zakład Anatomii
i Cytologii Roślin
Wydział Biologii
i Biotechnologii, Instytut
Biologii i Biochemii UMCS
20-033 Lublin,
ul. Akademicka 19
Tel. 81 537-50-05
e-mail: marcin.domaciuk@
poczta.umcs.lublin.pl

Streszczenie

Wstęp. Cyklem komórkowym nazywamy ciąg zdarzeń zachodzący między dwoma kolejnymi podziałami, obejmujący podział jądra (mitoza), podział cytoplazmy (cytokineza) oraz stan między kolejnymi podziałami (interfaza), składający się z trzech faz: G1, S, G2 [2].

W trakcie trwania cyklu komórkowego przebiegają procesy biochemiczne, biofizyczne i cytologiczne, prowadzące do podziału protoplastu, w tym do replikacji genomu oraz precyzyjnej segregacji materiału genetycznego do dwóch komórek potomnych [1].

Cel. Celem pracy było wykazanie wpływu taksolu i wyciągu z *Rhodiola rosea* na podziały mitotyczne.

Materiał i metody. W przeprowadzonym doświadczeniu inkubacją objęte zostały merystemy wierzchołkowe korzeni *Allium cepa* przez 2, 4, 8, 12, 16, 24 godziny w roztworze z wyciągu *Rhodiola rosea* oraz w roztworach taksolu i wyciągu z *Rhodiola rosea*. Taksol jako substancja chemiczna wyizolowana z *Taxus brevifolia* [8] stanowi obok cefalomanniny najczęściej badany związek ze względu na właściwości antynowotworowe [9].

Wyniki i wnioski. Przeprowadzane badania pokazują, że ekstrakt z wyciągu korzeni i kłączy *Rhodiola rosea* hamuje aktywność mitotyczną w komórkach, przez co pełni rolę antynowotworową. Inkubacja w mieszaninie ekstraktu *Rhodiola rosea* i roztworu taksolu, a także samego ekstraktu z *Rhodiola rosea* spowodowała szereg zmian metabolicznych i anatomicznych, które związane były ostatecznie z zahamowaniem podziałów komórkowych.

Po 2-godzinnej inkubacji w ekstrakcie *Rhodiola rosea* oraz mieszaninie taksolu i ekstraktu *Rhodiola rosea* widoczne były licznie zachodzące podziały mitotyczne. Liczba podziałów została wyraźnie ograniczona po 8 i 12 godzinach inkubacji, prowadząc do silnych obkurczeń, oraz przy 16- i 24-godzinnej inkubacji do całkowitego zahamowania podziałów komórkowych.

Abstract

Introduction. The cell cycle is a sequence of events occurring between two successive divisions comprising division of the nucleus (mitosis), division of the cytoplasm (cytokinesis), and the state between the consecutive divisions (interphase) consisting of three phases: G1, S, and G2 [2]. During the cell cycle, biochemical, biophysical, and cytological processes take place, leading to division of the protoplast including replication of the genome and precise segregation of genetic material into two daughter cells [1].

Aim. The aim of the investigations was to demonstrate the effect of taxol and the *Rhodiola rosea* extract on mitotic divisions.

Material and method. In the experiment, apical meristems of *Allium cepa* roots were incubated for 2, 4, 8, 12, 16, and 24 hours in a solution of a *Rhodiola rosea* extract as well as a combination of taxol solutions and the *Rhodiola rosea* extract. Besides cephalomannin, taxol, i.e. a chemical substance isolated from

Słowa kluczowe:

mitoza, cykl komórkowy, taxol, *Rhodiola rosea*

Key words:

mitosis, cell cycle, taxol, *Rhodiola rosea*

Taxus brevifolia [8], is one of the most commonly analysed compounds with anti-cancer properties.

Results and conclusions. The investigations show that the extract from *Rhodiola rosea* roots and rhizomes inhibits mitotic activity in cells, thereby serving an anti-cancer role. Incubation in the mixture of the *Rhodiola rosea* extract and the taxol solution as well as in the *Rhodiola rosea* extract alone induced a series of metabolic and anatomical changes that were ultimately associated with inhibition of cell division.

Numerous mitotic divisions were evident after the 2-hour incubation in the *Rhodiola rosea* extract and in the mixture of taxol and the *Rhodiola rosea* extract. The number of the divisions was clearly reduced after the 8- and 12-hour incubation, which led to intense shrinkage; in turn, after the 16- and 24-hour incubation, the cell divisions were completely inhibited.

Wstęp

Wszystkie organizmy żywe zbudowane są z komórek, z których każda powstaje w wyniku podziału innej, istniejącej już komórki. Komórki podlegające podziałom i w ten sposób budujące żywy organizm, przechodzą uporządkowaną sekwencję przemian w cyklu komórkowym, w trakcie którego obserwuje się wzmożoną aktywność biosyntetyczną, jej wzrost i podwojenie masy, po której następuje podział całej zawartości. Cykl komórkowy jest więc ciągiem zdarzeń zachodzących między dwoma kolejnymi podziałami, obejmującymi procesy biochemiczne, biofizyczne i cytologiczne, prowadzące do podziału protoplastu, w tym do replikacji genomu oraz precyzyjnej segregacji materiału genetycznego do dwóch komórek potomnych [1]. Cykl komórkowy obejmuje podział jądra (mitoza), podział cytoplazmy (cytokineza) oraz stan między kolejnymi podziałami (interfaza), w której wyróżniono trzy fazy: G1, S, G2 [2].

Faza G1 trwa od telofazy mitozy do fazy rozpoczęcia replikacji materiału genetycznego. W tej fazie zachodzi intensywny wzrost jądra (powiększenie objętości kariolimfy) oraz cytoplazmy.

W fazie S (syntezy DNA) następuje podwojenie materiału genetycznego, synteza białkowych składników chromosomów (głównie histonów), zwiększenie objętości jądra, a także całej komórki [1].

W fazie G2 zachodzi synteza białek wrzeciona kariokinetycznego i cytokinetycznego, głównie

tubuliny (α i β), oraz synteza składników potrzebnych do odtworzenia błon otoczki jądrowej, plazmolemy i ściany komórkowej [3]. Zakończenie przez komórkę syntezy kwasów nukleinowych i białek histonowych oraz nagromadzenie ATP przypadające na fazy S i G2, są warunkami pozwalającymi komórce rozpocząć mitozę [4].

Mitoza jest drugim etapem obok interfazy cyklu komórkowego, obejmującym podział jądra komórkowego, czyli kariokinezę i podział cytoplazmy – cytokinezę. Zmiany zachodzące w trakcie mitozy mają charakter ciągły i podzielone są na cztery etapy: profazę, metafazę, anafazę i telofazę [5]. Profaza jest stadium przygotowawczym do rozdziału chromosomów zreplikowanych w fazie S. Chromosomy z długimi, cienkimi nićmi ulegają stopniowej kondensacji, w wyniku czego dochodzi do ich skracania i pogrubienia. W tej fazie następuje rozpad otoczki jądrowej i zanik jąderek, co prowadzi do degradacji jądra komórkowego [6]. Pod koniec tej fazy każdy z chromosomów składa się z dwóch siostrzanych chromatyd, połączonych centromerem, w okolicy którego powstają kinetochory, do których przylegają mikrotubule wrzeciona podziałowego. W metafazie pojawia się wrzeciono mitotyczne i chromosomy, które ulegają kondensacji oraz ustawiają się w płaszczyźnie równikowej wrzeciona, tworząc płytkę metafazową. W tym samym czasie odbywa się rozdział organelli komórkowych i pozostałych składników cytoplazmy. Warunkiem rozpoczęcia anafazy jest przecięcie przez

enzymy proteolityczne połączeń między siostrzanymi chromatydami, w wyniku czego każda chromatyda zostaje przemieszczona do tego bieguna, do którego jest przyłączona przez pęczek mikrotubul [7]. W telofazie formowane są dwa jądra potomne oraz zostaje odtwarzana otoczka jądrowa. Jądro powiększa się, a skondensowane chromosomy ulegają de-kondensacji do ich interfazowego stanu. Po powstaniu dwóch jąder (kariokineza) następuje cytokineza oraz podział organelli prowadzący do utworzenia dwóch komórek potomnych [5].

Rhodiola rosea (różeniec górski) to roślina arktyczno-alpejska, występująca na obszarach Eurazji, Ameryki Północnej i w polarnej tundrze. Różeniec górski posiada kłącza, z których wyrastają okrągłe, dość grube, nierozgałęziające się pędy nadziemne z licznymi mięsistymi liśćmi. Przeprowadzone badania nad składem fitochemicznym *Rhodiola rosea* ukazały pokazną listę substancji czynnych o leczniczym działaniu: tyrozol proantycyjanekowy, glikozyd salidrozydu a także fenoloalkohol. Związkami czynnymi występującymi w kłączach są: związki fenolowe – glikozydy alkoholu transcynamonowego i rozawin (3% suchej masy w kłączu), kwasy organiczne: bursztynowy, cytrynowy, jabłkowy, szczawiowy, garbniki, wosk cukrowy: sacharoza i glukoza oraz mikroelementy, takie jak: cynk, bor, miedź z dużą ilością manganu.

Taksol (chem. – paclitaxel) jest związkiem chemicznym wyizolowanym z *Taxus brevifolia* [8]. Wśród taksanów dwa z nich – taksol i cefalomannina – należą do najczęściej badanych związków ze względu na właściwości antynowotworowe. Aktywność taksolu uniemożliwia odłączenie się jednostek białkowych od mikrotubul, w wyniku czego dochodzi do ich depolimeryzacji [9]. Proces ten prowadzi do uszkodzenia komórek szybko dzielących się, a nieprawidłowa struktura mikrotubul wrzeczona podziałowego uniemożliwia dokończenie mitozy [8]. Cząsteczki taksolu łączą się także z białkiem Bcl-2, co powoduje zmianę kształtu tego białka (białko uczestniczące w procesie apoptozy). Spadek ilości białka Bcl-2 stanowi sygnał dla komórek nowotworowych do poniesienia śmierci na drodze apoptozy.

Cel

Zbadanie wpływu taksolu i wyciągu z *Rhodiola rosea* na podziały mitotyczne w merystemie wierzchołkowym korzenia *Allium cepa*.

Materiały i metody

Doświadczenie przeprowadzono na merystemach wierzchołkowych korzeni *Allium cepa*, które inkubowane były w roztworach taksolu i wyciągu z *Rhodiola rosea*. Roztwory używane w doświadczeniu pochodziły z Katedry i Zakładu Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie. Ekstrakt z *Rhodiola rosea* rozcieńczono w 1 ml metanolu i 0,65 ml DMSO. W ten sposób sporządzono roztwór roboczy przez rozcieńczenie 80 µl elektrolitu do 9 ml H₂O destylowanej. W doświadczeniu przeprowadzono dwie serie inkubacji; pierwsza zawierała korzenie inkubowane w wyciągu *Rhodiola rosea*, druga seria połączone roztwory taksolu i *Rhodiola rosea*. Obie serie inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2, 4, 8, 12, 16, 24 godziny. Równocześnie przeprowadzono inkubacje 16-godzinną w roztworach *Rhodiola rosea* i taksolu oraz samego ekstraktu z *Rhodiola rosea* z postinkubacją w H₂O przez 4 godziny. Badanie przeprowadzono przy użyciu metody parafinowej, w której korzenie były przeniesione do utrwalacza CrAF (odpowietrzanie w podciśnieniu o wartości 0,8 At. 3 x 5 min). Materiał poddano odwodnieniu w szeregu alkoholu etylowego (10, 30, 50, 70, 90, 99,8%), a następnie przesycono w parafinie. Krojenie skrawków o grubości 5 µm wykonano na mikrotomie E – Leitz Wietzlar. Skrawki barwiono w safraninie O oraz zieleni jasnej i obserwowano w mikroskopie świetlnym Nikon Optiphot 2, rejestrując kamerą cyfrową Nikon Coolpix 4500.

Obserwacje

Obserwacje komórek poddanych działaniu ekstraktu *Rhodiola rosea* przez 2 godziny wykazały liczne podziały mitotyczne z obserwowanymi stadiami

profazy, metafazy i telofazy (tablica I, ryc. 1), a także anafazy (tablica I, ryc. 2). Podobna inkubacja 2-godzinna w mieszaninie ekstraktu z *Rhodiola rosea* i roztworu taksolu ukazała typowe i bardzo licznie zachodzące podziały mitotyczne z wyraźną profazą i telofazą (tablica I, ryc. 3), a także występującą bez zaburzeń metafazą (tablica I, ryc. 4). Inkubacja 4-godzinna ekstraktu *Rhodiola rosea* wykazała zmniejszenie ilości komórek przechodzących mitozę, zmiany w gęstości cytoplazmy, obkurczanie niektórych jąder przypominające apoptozę, a także zróżnicowaną wielkość komórek (tablica I, ryc. 5). U części komórek inkubowanych przez 4 godziny w mieszaninie ekstraktu *Rhodiola rosea* i roztworu taksolu nie zachodziła do końca cytokineza, w wyniku czego powstawały komórki o niekompletnej ścianie lub komórki dwujądrowe (tablica I, ryc. 6, 7). Inkubacja 8-godzinna w mieszaninie *Rhodiola rosea* i roztworu taksolu spowodowała zahamowanie podziałów komórkowych w części przyśrodkowej, np. na granicy przyosiowej (tablica I, ryc. 8), natomiast 8-godzinne traktowanie w ekstrakcie z *Rhodiola rosea* wykazało silną wakuolizację komórek oraz pierwsze oznaki apoptycznej degeneracji z zanikaniem typowych chromosomów (tablica II, ryc. 1). W korzeniach cebuli traktowanych 12 godzin w mieszaninie *Rhodiola rosea* i roztworu taksolu obserwowano wyraźne zmniejszenie liczby podziałów komórkowych (tablica II, ryc. 2), a także rzadko występujące i niespecyficzne ułożenie chromosomów będących w stadium profazy (tablica II, ryc. 3). Inkubacja 12-godzinna ekstraktem *Rhodiola rosea* ukazała ograniczoną obecność figur mitotycznych z widocznie niesymetrycznym rozmieszczeniem jąder potomnych z większą komórką górną, jak również upośledzenie w formowaniu ściany (tablica II, ryc. 4, 5). Inkubacja 16-godzinna w ekstrakcie *Rhodiola rosea* korzeni cebuli nie ukazała podziałów komórkowych (tablica II, ryc. 6), podobnie jak w korzeniach inkubowanych w mieszaninie roztworu taksolu i ekstraktu *Rhodiola rosea*. Większość jąder komórkowych po inkubacji 16-godzinnej ma nietypowy kształt lub jest w różnych stanach apoptozy (tablica II, ryc. 7). Komórki traktowane 24 godziny mieszaniną roztworu taksolu i ekstraktu *Rhodiola rosea* nie wykazywały podziałów mitotycznych, a jądra na tym etapie wykazywały objawy obkurczania i silnego

zabarwienia (tablica 2, ryc. 8). Inkubacja 24-godzinna w ekstrakcie *Rhodiola rosea* wykazała także apoptyczne zmiany jąder. Wszystkie komórki na tym etapie miały powiększone wakuole i degenerującą cytoplazmę. Przeprowadzona inkubacja 16-godzinna w ekstrakcie *Rhodiola rosea*, a następnie 4-godzinna postinkubacja w wodzie oraz 16-godzinna inkubacja w mieszaninie roztworu taksolu i ekstraktu *Rhodiola rosea* i 4-godzinna postinkubacja w wodzie wykazały również brak podziałów komórkowych z jądrami w stadium apoptozy (tablica 2, ryc. 9).

Dyskusja i wnioski

Przeprowadzone badania miały na celu zbadanie wpływu roztworu taksolu i ekstraktu *Rhodiola rosea* na komórki wierzchołkowe korzeni cebuli (tzw. testu *Allium*), które przypominają pod wieloma względami komórki nowotworowe i często są stosowane do testowania w badaniach cytologicznych i biochemicznych. Traktowanie cytostatykami spowodowało szereg zmian metabolicznych i anatomicznych, które związane były z zahamowaniem podziałów komórkowych. Po 2-godzinnej inkubacji w ekstrakcie *Rhodiola rosea* oraz mieszaninie taksolu i ekstraktu *Rhodiola rosea* w obu przypadkach widoczne były licznie zachodzące podziały mitotyczne. W komórkach korzeni cebuli inkubowanych 4 godziny w ekstrakcie *Rhodiola rosea* i mieszaninie roztworu taksolu i ekstrakcie *Rhodiola rosea* można było zaobserwować spadek liczby mitoz. Inkubacja 8-godzinna w obu przypadkach wykazała silną wakuolizację komórek, ograniczenie podziałów mitotycznych oraz obkurczania jąder przypominające apoptozę, co jest zgodne z wynikami otrzymanymi przez Majewską i wsp. [10], gdzie po 9 godzinach nastąpiło wyraźne zmniejszenie liczby zachodzących mitoz. Kolejne inkubacje (12 i 16 godz.) w obu przypadkach wykazały silne obkurczanie jąder komórkowych i zdegradowaną cytoplazmę, pomimo zastosowania 4-godzinnej postinkubacji w H₂O również nie dochodziło do cofnięcia zmian degeneracyjnych. W badaniach Zhang i wsp. [11] z użyciem hydroksymocznika nastąpiło całkowite zatrzymanie podziałów po 24 godzinach inkubacji.

Tablica I

Ryc. 1. Strefa komórek znajdujących się w prawidłowo przebiegających stadiach mitotycznych

Ryc. 2. Widoczne chromosomy ułożone w stadium anafazy

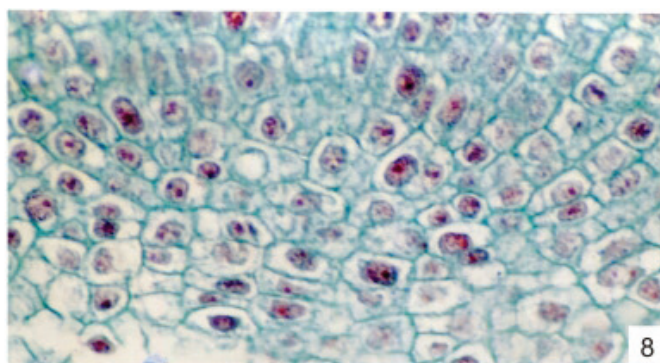
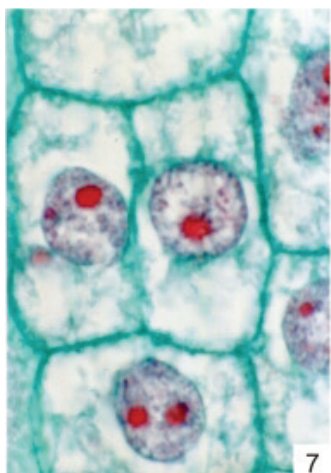
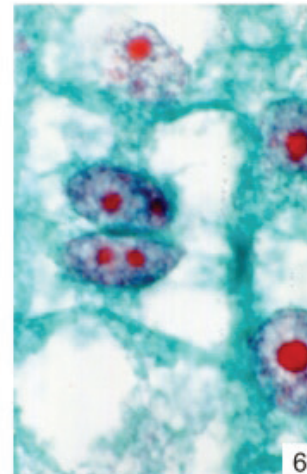
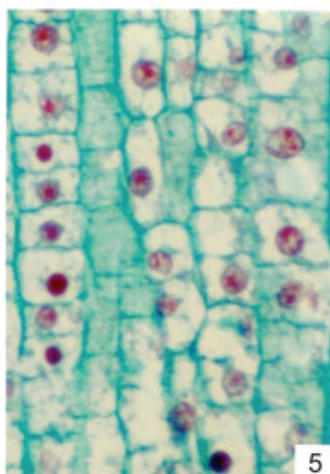
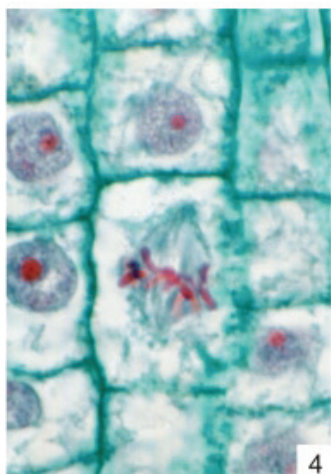
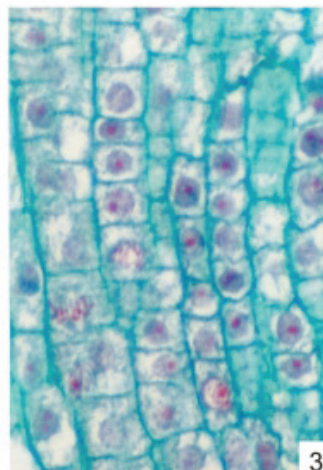
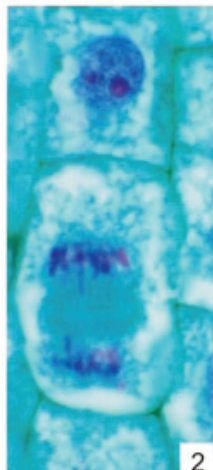
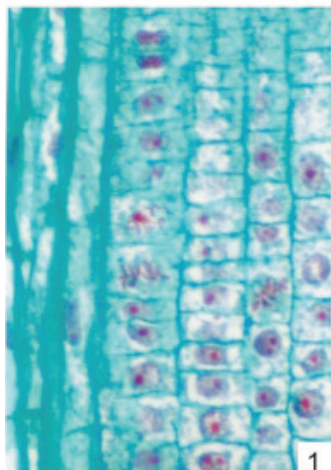
Ryc. 3. Liczne podziały mitotyczne z wyraźnie widoczną profazą, metafazą i telofazą

Ryc. 4. Metafaza z płytką chromosomów oraz wrzecionem kariokinetycznym

Ryc. 5. Ograniczona ilość podziałów komórkowych z obkurczeniami jąder komórkowych

Ryc. 6, 7. Komórki dwujądrowe z niecałkowicie zakończoną cytokinezą

Ryc. 8. Zahamowanie podziałów komórkowych w części przyśrodkowej



Tablica II

Ryc. 1. Silna wakuolizacja komórek z oznakami apoptozy. Zanik chromocentrów

Ryc. 2. Strefa komórek z ograniczoną liczbą podziałów komórkowych

Ryc. 3. Stadium profazy z grubymi chromosomami

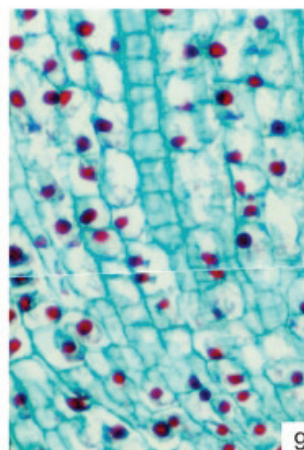
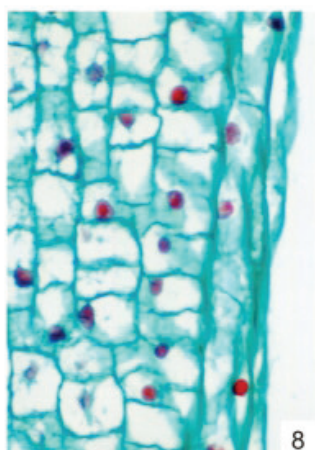
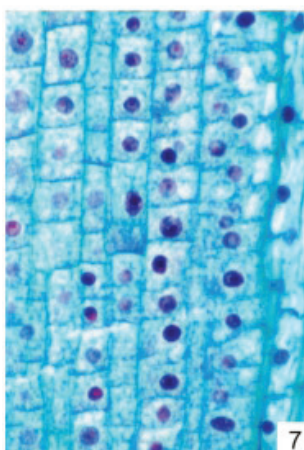
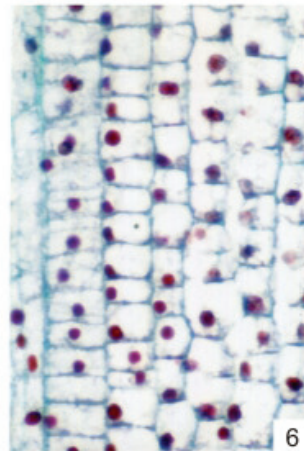
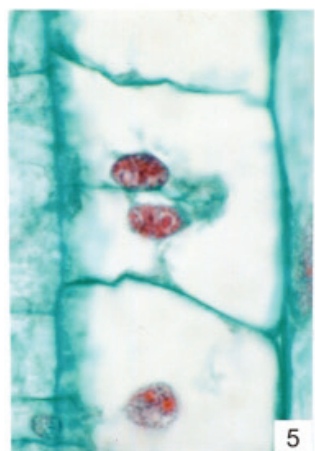
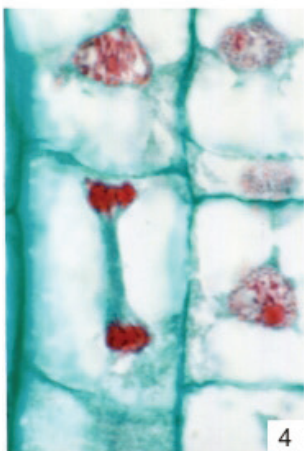
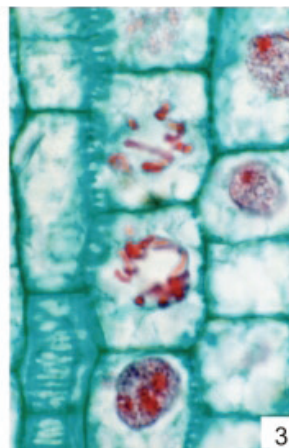
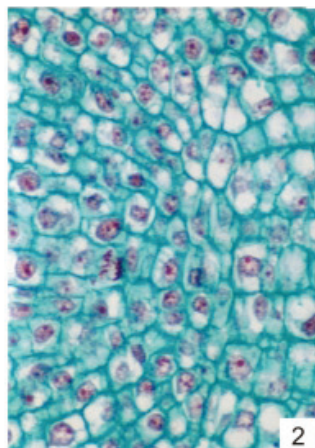
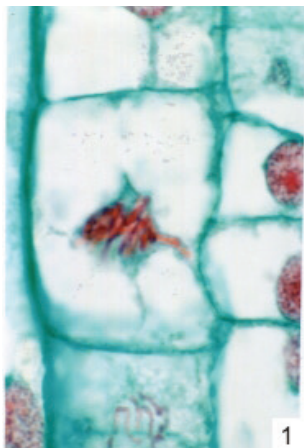
Ryc. 4, 5. Zanik prawidłowych podziałów mitotycznych. Upośledzenie formowania ściany komórkowej. Niesymetryczne rozmieszczenie jąder potomnych

Ryc. 6. Strefa komórek z zahamowanymi podziałami komórkowymi

Ryc. 7. Jądra komórkowe w stanie apoptozy. Brak podziałów komórkowych

Ryc. 8. Apoptyczne zmiany komórek z silnym obkurczeniem jąder komórkowych

Ryc. 9. Komórki w stadium apoptozy. Brak podziałów komórkowych



Efekt był natomiast odwracalny, tzn. po wypłukaniu wodą pojawiały się kolejno następujące po sobie mitozy oraz zanik apoptozy w inkubowanych komórkach. Inkubacja 24-godzinna w ekstrakcie *Rhodiola rosea*, a także w mieszaninie roztworu taksolu i ekstraktu *Rhodiola rosea* wykazała, że jądra wszystkich komórek uległy zmianom apoptycznym. W przeprowadzonych badaniach cytologicznych z użyciem ekstraktu uzyskanego z *Rhodiola rosea*, a także ekstraktu *Rhodiola rosea* i taksolu wyizolowanego z *Taxus brevifolia* liczba podziałów została ograniczona już po 8 godzinach inkubacji w obu seriach, prowadząc do silnych obkurczeń przy 12 godzinach traktowania i do całkowitego zahamowania podziałów komórkowych przy 16- i 24-godzinnej inkubacji korzeni cebuli. Podobny sposób działania ma ekstrakt *Vilcacory* uzyskany z rośliny *Uncaria tomentosa*. Hamuje on podziały mitotyczne, ale w sposób łagodny i nie prowadzi do dezorganizacji mitoz, w tym aberacji chromosomów zawierających materiał genetyczny [12]. Sam mechanizm w obu przypadkach zależy jednak od stężenia i czasu działania danego ekstraktu. Badania wskazują na antynowotworową rolę *Rhodiola rosea*, co zostało potwierdzone w badaniach na liniach nowotworowych B16 i Levis. Jednym z mechanizmów zastosowania ekstraktu *Rhodiola rosea* jest antymutagenna reakcja, obniżająca liczbę aberacji chromosomowych i jąderek po traktowaniu cyklofosfoamidem i hamująca szybką syntezę DNA powodowaną przez benzopiren czy metale ciężkie [10]. Prowadzone w ostatnich latach badania pokazują, że wyciąg z korzeni i kłączy *Rhodiola rosea* hamuje aktywność mitotyczną bez aberacji chromosomowych [13].

Piśmiennictwo

1. Deckert J. Regulacja genów cyklu komórkowego roślin. 2000. Wydawnictwo Naukowe UAM. Poznań.
2. Giese A.C. Fizjologia komórki. PWN Warszawa 1985: 671-678.

3. Kawiak J., Marecka J., Olszewska M., Warchol J. Podstawy cytofizjologii. 1997. PWN Warszawa: 294-303, 337-347.
4. Olszewska M. Cytologia roślin. PWN Warszawa 1971: 79-80, 317-355, 425-437.
5. Woźny A., Michejda J., Ratajczak L. Podstawy biologii komórki roślinnej. Wydawnictwo Naukowe UAM Poznań 2000: 227-253.
6. Kilarski W. Strukturalne podstawy biologii komórki. PWN Warszawa 2003.
7. De Laney E., Johnson W. H., Coll T. A. Podstawy biologii. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa 1975.
8. Rodi D., Janes R., Sanganee H., Holton R., Wallace B., Makowski L. Screening of a library of phage – displayed peptides identifies human Bcl-2 as a taxol – binding protein. J Mol Biol 1999; 285: 197-203.
9. Główniak K., Furmanowa M., Józefczyk A., Zgórka G., Olędzka H. Materiale with 5th conference on the application of chromatographic methods In phytochemical and biomedical research. Isolation and determination of taxol and cephalomannine in twigs, needles and tissue cultures from *Taxus cuspidate* SIEB. 2002. Et ZUCC.
10. Majewska A., Wolska E., Śliwińska E., Furmanowi M., Urbańska N., Pietrasiuk A., Zobel A., Kuraś M. Anymitotic effect, G2/M accumulation, chromosomal and ultrastructure changes in meristematic cells of *Allium cepa* L. Root tips treated with the extract from *Rhodiola rosea* roots. Caryology 2003; 56(3).
11. Zhang H.Q., Li Y. Q., Kuraś M., Bednara J., Cresti M. Influence of hydroxyurea on cell division and microtubular cytoskeleton in *Allium cepa* root meristem. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 1996; 65(1-2): 179-189.
12. Kuraś M. Doniesienie z prasy farmakologicznej. 2004. IV.
13. Furmanowa M., Kędzia B., Hartwich M., Kozłowski J., Krajewska-Patan A., Mścisz A., Jankowiak J. Phytochemical and pharmacological properties of *Rhodiola rosea* L. Herba Pol 1999; 45: 108-13.