تأثير مستخلصات الثوم *Allium sativum* في تثبيط الفعل التطفيري لعقار الميثوتركسيت في الفئران البيض

Effect of Garlic (*Allium sativum*) extracts in inhibiting of the mutagenic action of Methotrexate in albino mice

نضال عبد الحسين البديري /كلية التربية للبنات/ جامعة الكوفة

الخلاصة

تم دراسة تثبيط الفعل التطفيري لعقار الميثوتركسيت Methotrexate (MTX) باستعمال مستخلصات الثوم، ففي هذه الدراسة استعمل النظام داخل الجسم الحي *In vivo* في الفأر المختبري الأبيض *Mus musculus* وبالاعتماد على التحليلات الوراثية الخلوية كاختبار مؤشر الانقسام للخلايا الجسمية (نقي العظم) والجنسية (الخصى في الذكور) واختبار التغيرات الكروموسومية في الخلايا الجسمية. وتم تجريع الفئران عقار الميثوتركسيت بجرعة مقدارها 4 ملغم/ كغم من وزن الجسم، واستعملت مستخلصات الثوم (المائي البارد، المائي المغلي،الكحولي) بالتراكيز (50،100،250) ملغم/ كغم من وزن الجسم، إذ جرعت الفئران بهذه المستخلصات لمدة 7 أيام قبل تجريعها العقار مرة وبعد تجريعها العقار مرة أخرى.لقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية انعدام التأثير السمي والتطفيري لمستخلصات الثوم وامتلاك عقار الميثوتركسيت القدرة على تثبيط وخفض مؤشر الانقسام للخلايا الجسمية والجنسية وله القدرة على استحثاث التغيرات الكروموسومية، كما أظهرت النتائج امتلاك مستخلصات الثوم القدرة في خفض التأثيرات السمية والتطفيرية لعقار الميثوتركسيت.

Abstract

In vivo experiments were designed to investigate the role of garlic (*Allium sativum*) in the inhibition of genotoxic effect of methotrexate (MTX) in albino mice (*Mus musculus*).The genotoxic effects of MTX at a dose of 4 mg/ kg B. wt. on somatic cells (bone marrow) and germ cells of male mice were analyzed cytogenetically by determining the mitotic index of somatic and germ cells and chromosomal aberration in somatic cells.The potential genotoxic and mutagenic activity of garlic extracts (cold aqueous, boiled aqueous, alcoholic) at doses (50,100,250) mg\ kg B. wt. were investigated by using the above mentioned parameters. The antigenotoxic activity of garlic extracts against MTX effects for 7 days before and after exposure to MTX was tested. The results revealed the absence of toxicity and mutagenicity for all garlic extracts at tested doses, the high inhibitory effects of MTX for cell division in addition to induction of chromosomal aberration, the inhibitory efficiency of all garlic extracts against the toxicity and mutagenicity of MTX, the high inhibitory efficiency of cold and boiled aqueous and alcoholic extracts against the toxicity and mutagenicity of MTX and the best inhibitory efficiency of all garlic extracts occurred when the extracts were used before the MTX in comparison with their effects when used after the MTX.

المقدمة

يتعرض الإنسان في حياته إلى العديد من المواد الكيميائية ذات التأثير المطفر والمسرطن وتختلف شدة التعرض بين التعرض الحاد وشبه الحاد والتعرض المزمن (Moutschen, 1985). وتشمل المواد الكيميائية التي يتعرض لها الإنسان الغذاء (Meier *et al*., 1975) وأثناء التعرض المهني (Al- Hakkak *et al*., 1986) والمبيدات (الجنابي، 1997) والسموم الفطرية كالأفلاتوكسين (Moutschen, 1985) والدواء (Shubber and Salih, 1987)، ومن بين الأدوية التي تستعمل لعلاج حالات السرطان عقار الميثوتركسيت (MTX) ولهذه المواد تأثيرات سمية خلوية كمواد مطفرة ومسرطنة (Sieber and Adamson, 1975 وHaris, 1976)، ويعد MTX أحد الأدوية التي تستعمل بشكل واسع في معالجة الأورام السرطانية المبكرة، كما أنه يستعمل بشكل مستمر في معالجة اللوكيميا وأورام أخرى كثيرة، إذ أن تأثيره

ينتج من أنه يسهل أخذه بواسطة الخلية بسرعة وبالتالي يؤدي إلى تثبيط فعالية أنزيم Dihydrofolate (DHFR) reductase وهذا الأنزيم هو مفتاح التضاعف في الخلية (Huennekens, 1994). أما من ناحية التأثيرات الخلوية الوراثية التي يحدثها العقار، ففي هذا الصدد أجريت دراسة خلوية وراثية على 22 مريضاً تم معاملتهم بعقار MTX وبجرع تراوحت بين (25- 50) ملغم، وتم اخذ خلايا نقي العظم وخلايا الدم المحيطية ولوحظ أن الخلايا التي تم تحضيرها من خلايا نقي العظم تحتوي على تغيرات كروموسومية تركيبية في حين لم تلاحظ مثل هذه التغيرات في الخلايا المحضرة من الدم المحيطي (Jensen and Nyfors, 1979). كما أشار Borchers وجماعته (1990) إلى أن MTX يعترض إصلاح التلف التلقائي في الـ DNA علاوة على ذلك يؤدي إلى تلف جزيئة الـ DNA، ولمعرفة هذا التأثير تم موازنة تأثير الـ MTX مع Hydroxyl urea و Arabinofranosyl cytosine وأظهرت النتائج أن الـ MTX يؤدي إلى تراكم الكسور في أشرطة الـ DNA المفرد داخل الخلية وأن هذا التأثير يحدث نتيجة العقار إذ يوقف عمل أنزيم DNA polymerase الخاص بنظام الإصلاح بواسطة القص Excision repair وعند إضافة Hypoxanthine وThymidine إلى الخلايا المعاملة بالـ MTX لوحظ منع تراكم كسور الـ DNA وهذا ما يثبت أن دور الـ MTX يؤدي إلى حدوث نضب في النيوكليوتيد وبالتالي يؤثر في عملية إصلاح التلف الذي يحدث بواسطة العوامل الخارجية Exogenous agents.أن الغذاء يحتوي على العديد من المركبات والعناصر التي تؤدي دوراً كبيراً في الحماية من المواد المطفرة والمسرطنة وأن هذه المركبات والعناصر تتوزع في عدد كبير من الفواكه والخضر (Kada *et al.*, 1986)، ويعد الثوم أهم تلك المواد والذي عرف منذ القدم لاحتوائه على العديد من المركبات التي أكسبته الخصائص الطبية (Wills, 1956 وWeisberger and Penisky, 1957 وFujiwara and Natata, 1967 وBlock, 1985). ووجد Lau وجماعته (1990) بأن هنالك دوراً للثوم في منع حدوث السرطان البشري Human cancer إذ لاحظوا أن الثوم يثبط نمو الخلايا السرطانية الانتقالية Transplantable tumor ومنع حدوث الأورام السرطانية التلقائية Spontaneous tumor ووجدوا أن بعض مركبات الثوم تثبط فعالية العديد من المركبات الكيميائية المسرطنةChemical carcinogen خلال أطوار التحفيز والنشوء.وبالنظر لفوائد مكونات الثوم الكثيرة وللحد من مخاطر العوامل الكيمائية جاءت هذه الدراسة لبيان دور الثوم في الوقاية من المواد المطفرة والمسرطنة (الميثوتركسيت) وباعتماد نظام داخل الجسم الحي للثدييات.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المختبرية

استعملت في هذه الدراسة فئران سويسرية بيضاء *Mus musculus* بعمر يتراوح بين (8 و12)أسبوعاً، وقد بلغ معدل أوزانها ما بين (23 و27) غراماً، وتضمنت الدراسة ثلاثة جوانب، ففي الجانب الأول جرعت 9 مجموعات ضمت كل مجموعة 3 فئران مستخلصات الثوم لمدة 7 أيام وشرحت في اليوم الثامن لإجراء التحليلات الوراثية الخلوية للكشف عن التأثيرات السمية (أن وجدت) للمستخلصات ولم تجرع حيوانات المقارنة. أما في الجانب الثاني فقد جرعت 9 مجموعات ضمت كل مجموعة 3 فئران مستخلصات الثوم ولمدة 7 أيام ولم تجرع مجموعة حيوانات السيطرة السالبة ومجموعة حيوانات السيطرة الموجبة وفي اليوم الثامن جرعت الحيوانات عدا مجموعة السيطرة السالبة عقار الميثوتركسيت MTX وفي اليوم التالي شرحت الحيوانات لإجراء التحليلات الوراثية الخلوية، وشمل الجانب الثالث تجريع حيوانات 10 مجموعات ضمت كل مجموعة 3 فئران عقار الميثوتركسيت MTX عدا مجموعة السيطرة السالبة وفي اليوم التالي جرعت الحيوانات مستخلصات الثوم ولمدة 7 أيام ولم تجرع مجموعة حيوانات السيطرة السالبة ومجموعة حيوانات السيطرة الموجبة وفي اليوم التالي شرحت الحيوانات لإجراء التحليلات الوراثية الخلوية. وتم التجريع عن طريق الفم Orally باستعمال محقنة طبية (1) مل، وقد ثبت في بدايتها أنبوب مطاطي لضمان تناول الفأر للمستخلص، إذ جرع كل فأر بـ (0.5) مل من المستخلص.

عقار الميثوتركسيت

حضر بإذابة 4 ملغم من عقار Methotrexate (Osaka, Japan) في 10 مل من محلول PBS المعقم، وحفظ في الثلاجة بدرجة 4 مْ.

تحضير مستخلص الثوم المائي البارد

أتبعت طريقة Sato وجماعته (1990) في التحضير وكما يأتي:- أخذت كمية من الثوم (فصوص) وأزيلت أغلفتها ثم قطعت إلى قطع صغيرة بواسطة المقص، بعدها تمت مجانسة القطع الصغيرة مع الماء المقطر وبنسبة 1 غم ثوم : 2 مل ماء مقطر باستعمال خلاط كهربائي Blender ولمدة ساعة واحدة بدرجة حرارة الغرفة ثم رشح الخليط الناتج باستعمال الشاش الطبي للحصول على الراشح المائي، ووزع الراشح على أنابيب اختبار وعّرضت إلى الطرد المركزي بسرعة 3500 دورة / دقيقة ولمدة 20 دقيقة. أخذ السائل العلوي وحفظ في الثلاجة لعمل التراكيز وحسب حاجة التجربة.

تحضير مستخلص الثوم المائي المغلي

حضر حسب الطريقة التي استعملها السعدي (1997)، إذ أخذت كمية من الثوم ووضعت مع الماء المقطر بنسبة 1 غم ثوم : 2 مل ماء مقطر على مصدر حراري وتركت حتى الغليان، ثم اتبعت نفس الخطوات المستعملة في تحضير المستخلص المائي البارد.

تحضير مستخلص الثوم الكحولي

اتبعت طريقة Harbone وجماعته (1975) مع بعض التحوير في تحضير المستخلص الكحولي وعلى النحو الآتي:- أخذت كمية من فصوص الثوم وأزيلت أغلفتها ثم قطعت إلى قطع صغيرة بواسطة المقص وباستعمال الخلاط الكهربائي تم مجانستها مع الكحول الأثيلي 70 % وبنسبة 1 غم ثوم : 5 مل كحول أثيلي وبدرجة حرارة الغرفة، رشح الناتج بواسطة قطعة من الشاش الطبي ثم نقل الراشح إلى فرن وبدرجة حرارة 60 م°، ترك لحين تبخر الكحول، وحفظ في الثلاجة لعمل التراكيز وحسب حاجة التجربة.

الاختبارات الخلوية الوراثية

للحصول على كروموسومات خلايا نقي العظم استعملت طريقة Allen وجماعته (1977)، في حين اتبعت طريقة Evans وجماعته (1964) للحصول على كروموسومات الخلايا الجنسية للذكور (الخصى) ومن ثم تحسب النسبة المئوية للانقسام الحاصل في تلك الخلايا وفقا للمعادلة الآتية: (Stich & San, 1981)

$$\text{مؤشر الأنقسام Mitotic Index \%} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{العدد الكلي للخلايا (المنقسمة وغير المنقسمة)}} \times 100$$

أما لحساب التغيرات الكروموسومية (كسر كروماتيدي وكسر كروموسومي وكروموسومات حلقية وكروموسومات ثنائية القطعة المركزية) استعملت الشرائح الزجاجية التي حضرت من خلايا نقي العظم، وحسبت هذه التغيرات في (100) خلية منقسمة واضحة في الطور الاستوائي وبصورة عشوائية.

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً باستخدام تحليل التباين Analysis of Variance وفحص F الإحصائي كما تم حساب أصغر فرق معنوي L.S.D بمستوى (5 %، 1 %) (Sokal & Rohlf, 1985).

النتائج

1. **تأثير مستخلصات الثوم**

يلاحظ في الجدول (1) أن قيم مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم قد ازدادت عند تجريع الفئران مستخلصات الثوم المائية الباردة والمغلية والمستخلص الكحولي إلا أن الزيادة كانت معنوية ($p<0.05$) فقط عند تجريع الفئران التركيز 100 ملغم/ كغم من المستخلص المائي المغلي والمستخلص الكحولي إذ أصبحت قيمة مؤشر الانقسام (17.78 و17.00)% على التوالي مقارنة مع السيطرة 15.00%. ويلاحظ أن قيمة مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم قد انخفضت عند تجريع الفئران المستخلص المائي المغلي تركيز 50 ملغم/ كغم ولكن الانخفاض لم يكن معنوياً ($P>0.05$). في حين يلاحظ أن مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية قد ازداد معنويا ($p<0.05$) عند تجريع الفئران مستخلصات الثوم المائية الباردة والمغلية لجميع التراكيز والمستخلص الكحولي، ويلاحظ من الجدول أن افضل المعاملات كانت عند تجريع الفئران التركيزين (50 و250) ملغم/ كغم من المستخلص المائي البارد، إذ أصبحت قيمة مؤشر الانقسام لكليهما 12.94% مقارنة مع معاملة السيطرة 8.95%.

أما بما يتعلق بتأثير مستخلصات الثوم على التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم يلاحظ في الجدول نفسه أن التغيرات الحاصلة بسبب تجريع الفئران مستخلصات الثوم كافة كانت غير معنوية ($P>0.05$) وقريبة جدا من معاملة السيطرة.

2. **تأثير المعاملة بمستخلصات الثوم قبل عقار الميثوتركسيت**

يلاحظ في الجدول (2) أن قيمة مؤشر الانقسام لمعاملة السيطرة السالبة (بدون معاملة) كانت 15.95% وأنها انخفضت معنويا ($p<0.05$) عند تجريع الفئران عقار MTX إذ أصبحت 5.00%، أما عند تجريع الفئران مستخلصات الثوم ولمدة 7 أيام قبل تجريعها عقار MTX فقد أدى إلى رفع قيم مؤشر الانقسام معنويا ($p<0.05$) عدا عند تجريع الفئران 50 ملغم/ كغم من المستخلص المائي المغلي والمستخلص الكحولي إذ كانت الزيادة غير معنوية ($P>0.05$).

أما ما يخص مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية فيلاحظ من الجدول نفسه أن قيمة مؤشر الانقسام قد انخفضت بسبب تجريع الفئران عقار MTX معنويا ($p<0.05$) إذ أصبحت 3.40% وكانت لمعاملة السيطرة السالبة 8.79% وعند تجريع الفئران مستخلصات الثوم لمدة 7 أيام قبل تجريعها عقار MTX فقد أدى إلى رفع قيمة مؤشر الانقسام معنويا ($p<0.05$) عدا التركيز 50 ملغم/ كغم من المستخلص المائي المغلي والمستخلص الكحولي إذ كانت الزيادة غير معنوية ($P>0.05$)، كما فشل التركيز 250 ملغم/ كغم من المستخلص الكحولي في رفع قيمة مؤشر الانقسام. أما افضل المعاملات فكانت عند تجريع الفئران التركيز 100 ملغم/ كغم من المستخلص الكحولي إذ رفع قيمة مؤشر الانقسام إلى 7.60%. أما ما يتعلق بالتغيرات الكروموسومية فيلاحظ أن تجريع الفئران عقار MTX قد زاد من نسبة ظهور التغيرات الكروموسومية معنوياً ($p<0.05$) في خلايا نقي العظم. أما عند تجريع الفئران ولمدة 7 أيام مستخلصات الثوم قبل تجريعها العقار فقد أدى إلى خفض نسبة هذه التغيرات معنوياً ($p<0.05$) بالمقارنة مع نسبة ظهورها عند تجريعها العقار لوحده، وان افضل المعاملات هي التركيز 100 ملغم/ كغم من المستخلص الكحولي إذ انخفضت التغيرات الكروموسومية إلى 1.8%.

3. تأثير المعاملة بمستخلصات الثوم بعد عقار الميثوتركسيت

يلاحظ في الجدول (3) أن تجريع الفئران مستخلصات الثوم لمدة 7 أيام بعد تجريعا عقار MTX ولمدة 24 ساعة فقد أدى إلى رفع قيم مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم معنوياً ($p<0.05$) عدا المعاملة بالتركيز 50 ملغم/ كغم من المستخلص المائي المغلي والمستخلص الكحولي إذ كانت الزيادة غير معنوية ($P>0.05$). أما افضل المعاملات فيلاحظ أن تجريع الفئران المستخلص المائي البارد بالتركيز 100 ملغم/ كغم كانت الأفضل إذ رفع قيمة مؤشر الانقسام إلى 8.00%.

أما ما يخص مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية فيلاحظ في الجدول نفسه أن تجريع الفئران مستخلصات الثوم بعد تجريعها العقار فقد أدى إلى رفع قيمة مؤشر الانقسام معنوياً ($p<0.05$) عدا عند تجريع الفئران المستخلص المائي المغلي بالجرعة 50 ملغم/ كغم إذ فشلت هذه المعاملة في رفع مؤشر الانقسام معنوياً. أما افضل المعاملات كانت عند تجريع الفئران 250 ملغم/ كغم من المستخلص الكحولي إذ رفع قيمة مؤشر الانقسام إلى 6.44%، كما يلاحظ في الجدول نفسه أن تجريع الفئران مستخلصات الثوم المائية الباردة والمغلية والمستخلص الكحولي بعد تجريعها عقار MTX قد أدى إلى ظهور التغيرات الكروموسومية إلا أنها اقل معنوياً ($p<0.05$) بالمقارنة مع نسبة ظهورها عند تجريع الفئران العقار لوحده.

الجدول (1) تأثير مستخلصات الثوم على مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم والخلايا الجنسية والتغيرات الكروموسومية في الفئران البيض

المعاملة ملغم/ كغم \ الاختبار		مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم %	مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية %	التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم %
بدون معاملة (السيطرة)		15.00 ±0.278	8.95 ±0.200	0.11 ±0.090
المستخلص المائي البارد	50	17.85 ±0.690	12.94* ±0.520	0.23 ±0.028
	100	15.60 ±0.660	11.35* ±0.530	0.22 ±0.122
	250	17.80 ±0.362	12.94* ±0.665	0.20 ±0.053
المستخلص المائي المغلي	50	13.95 ±0.325	10.69* ±0.555	0.25 ±0.150
	100	17.78* ±0.845	11.80* ±0.333	0.26 ±0.051
	250	16.10 ±0.550	11.67* ±0.321	0.23 ±0.123
المستخلص الكحولي	50	16.60 ±0.950	11.50* ±0.400	0.31 ±0.235
	100	17.00* ±0.733	12.28* ±0.396	0.33 ±0.300
	250	15.00 ±0.625	12.00* ±0.435	0.20 ±0.090
L.S.D. %5		1.69	1.63	0.44

*** تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 5%.**

الجدول (2) تأثير المعاملة بمستخلصات الثوم قبل عقار الميثوتركسيت على مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم والخلايا الجنسية والتغيرات الكروموسومية في الفئران البيض

الاختبار / المعاملة ملغم/ كغم		مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم %	مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية %	التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم %
بدون معاملة (سيطرة سالبة)		15.95 ±0.145	8.79 ±0.266	0.11 ±0.042
MTX 4 ملغم/ كغم		5.00* ±0.133	3.40* ±0.250	9.22* ±0.349
المستخلص المائي البارد + MTX	50	6.63* ±0.117	5.79* ±0.345	4.52* ±0.201
	100	8.82* ±0.273	5.88* ±0.121	3.01* ±0.197
	250	8.89* ±0.265	5.87* ±0.200	4.31* ±0.258
المستخلص المائي المغلي + MTX	50	5.31 ±0.352	4.03 ±0.119	3.29* ±0.200
	100	8.81* ±0.127	5.93* ±0.117	3.01* ±0.115
	250	8.87* ±0.132	3.97* ±0.182	3.84* ±0.249
المستخلص الكحولي + MTX	50	5.11 ±0.241	4.22 ±0.120	3.92* ±0.250
	100	7.77* ±0.350	7.60* ±0.265	1.80* ±0.203
	250	7.86* ±0.117	7.00 ±0.300	2.25* ±0.231
L.S.D. %5		1.05	1.32	1.63

*** تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 5%.**

الجدول (3) تأثير المعاملة بمستخلصات الثوم بعد عقار الميثوتركسيت على مؤشر الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم والخلايا الجنسية والتغيرات الكروموسومية في الفئران البيض

المعاملة ملغم/ كغم		الاختبار: مؤشر الانقسام لخلايا نقي العظم %	مؤشر الانقسام للخلايا الجنسية %	التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم %
بدون معاملة (سيطرة سالبة)		15.54 ±0.243	8.77 ±0.211	0.12 ±0.023
MTX 4 ملغم/ كغم		4.33* ±0.107	3.40* ±0.200	8.89* ±0.202
MTX + المستخلص المائي البارد	50	6.69* ±0.232	4.89* ±0.121	3.79* ±0.221
	100	8.00* ±0.322	6.02* ±0.312	4.24* ±0.301
	250	7.87* ±0.300	6.14* ±0.210	3.82* ±0.025
MTX + المستخلص المائي المغلي	50	6.00 ±0.270	4.20 ±0.250	3.82* ±0.053
	100	6.37* ±0.100	5.02* ±0.311	4.10* ±0.105
	250	6.33* ±0.132	5.89* ±0.105	3.96* ±0.157
MTX + المستخلص الكحولي	50	6.02 ±0.212	5.32* ±0.063	5.01* ±0.177
	100	6.77* ±0.111	5.97* ±0.187	4.07* ±0.210
	250	6.69* ±0.170	6.44* ±0.180	4.12* ±0.257
L.S.D. %5		2.00	1.25	1.54

*** تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 5%.**

المناقشة

يلاحظ من النتائج عدم وجود تأثيرات سمية أو تطفيرية لمستخلصات الثوم إذ لم يثبط عملية انقسام الخلايا الجسمية والجنسية كما لم يعمل على استحثاث التغيرات الكروموسومية وهذا يتفق مع الدراسات السابقة (Fujiwara and Natata, 1967 وAbraham and Kesavan, 1984)، إذ أشارت أن مركبات الثوم ليست من المواد التي لها فعل مسرطن (Yoshida *et al.*, 1984)، ويلاحظ أن تجريع الفئران مستخلصات الثوم زاد في بعض المعاملات من قيم مؤشر الانقسام والسبب قد يعود إلى احتواء مركبات الثوم على الكبريت الذي يؤثر على العديد من العمليات الكيميائية الحياتية والوظيفية كالانقسام وتخليق الأحماض النووية (Bacq, 1975) أو قد يعود إلى تأثير الثوم في تقليل زمن تضاعف الخلية وبالتالي زيادة قيمة مؤشر الانقسام (Zelikoff *et al.*, 1986).أما عقار الميثوتركسيت فيلاحظ أنه احدث انخفاضاً في قيم مؤشر الانقسام للخلايا الجسمية والجنسية وزاد من معدل ظهور التغيرات الكروموسومية وهذه النتائج تتفق مع ما أشار أليه العديد من الباحثين (Murcia and Nombela, 1972 وKasahara *et al.*, 1992 و Maskaleris *et al.*, 1998)، ويعزى سبب التأثيرات السمية والتطفيرية للعقار إلى مقدرته على التداخل مع المادة الوراثية DNA، كما أنه يؤدي إلى نضب في القواعد النتروجينية منقوصة الأوكسجين ثلاثية الفوسفات dNTP الداخلة في بناء الـ DNA مما ينتج عنه اعتراض عملية إصلاح التلف التلقائي في جزيئة الـ DNA، زيادة على ذلك يؤدي إلى حدوث تلف في هذه الجزيئة (Borchers *et al.*, 1990) وبالتالي يؤدي إلى حدوث تغيرات كروموسومية ونوى صغيرة (Kasahara *et al.*, 1992). أن الهدف من أجراء التجربة على نوعين، في النوع الأول إعطاء المستخلصات قبل المطفر وفي النوع الثاني إعطاء المستخلصات بعد المطفر فهو لغرض الوصول إلى تفسير الآلية التي يعمل من خلالها مستخلصات الثوم وتحديد المرحلة التي يتم بها تثبيط المطفر إذ أن وقت إعطاء المثبط بالنسبة للمطفر يكون بالاعتماد على المرحلة التي تعمل خلالها

المثبطات (Alkeperov, 1984)، ويلاحظ في الجدولين (2 و3) مقدار ما تقوم به مستخلصات الثوم في تثبيط القابلية السمية والتطفيرية للميثوتركسيت ويمكن أن يعود التأثير إلى أن بعض مركبات الثوم مثل Allyl methyl disulfide التي تحث تكوين إنزيم Glutathione-s-transferase (GST) المعني بإزالة سمية بعض المواد أو أن مستخلصات الثوم تزيد من مستوى الكلوتاثيون [GSH] وهذا الببتيد الثلاثي يعد من المكونات الخلوية التي تؤدي دوراً مهماً في آلية الدفاع عن الخلية ضد المواد السامة من خلال تكوين اتحادات مع المركبات الغريبة (Hayatsu *et al*., 1988)، ويمكن أن يعمل GSH وGST والمركبات التي تحوي الكبريت عمل المواد المحبة للنواة Nucleophils تتنافس مع الـ DNA في التفاعل الكيميائي مع المطفرات المحبة للإلكترونات Electrophils (Deflora and Ramel, 1988).

ويلاحظ أن الفعالية التثبيطية لمستخلصات الثوم عند استخدامها قبل المطفر افضل من فعاليتها عند استخدامها بعد المطفر، لذا يمكن أن يصنف الثوم كعامل مضاد للتطفير خارج الخلية Desmutagen بالمرتبة الأولى ثم كعامل مضاد للتطفير داخل الخلية Bioantimutagen بالمرتبة الثانية وهذا يتفق مع Ramel وجماعته (1986).

المصادر

– الجنابي، عباس عبد الله محمد.(1997). تأثير مبيدي القوارض فوسفيد الخارصين وبروديفاكوم على الهيئة الكروموسومية ومؤشر الانقسام والنطف في الفئران الحقلية والمختبرية *Mus musculus*. أطروحة دكتوراه، جامعة بغداد.
– السعدي، محمد حمود.(1997). تثبيط الأثر التطفيري لبعض المسرطنات الكيميائية باستعمال مستخلصات تمر الزهدي. رسالة ماجستير– جامعة بغداد.
- Abraham, S.K. and Kesavan, P.C. (1984). Genotoxicity of garlic, turmeric and asafetida in mice. Mutat. Res., 136: 85-88.
- Alkeperov, V. (1984). Antimutagens: theoretical and practical aspect. Nauka, Moscow. 128pp.
- Al-Hakkak, Z.S., Hamamy, H.A. and Hussein, A.F. (1986). Chromosome aberration in workers at storage battery plant in Iraq. Mutat. Res., 171: 53-60.
- Allen, J.W., Shuler, C.F., Mendes, R.W. and Latt, S.A. (1977). A simplified technique for *in vivo* analysis of sister chromatid exchanges using 5-bromo–deoxy uridine tablets. Cytogenet. Cell Genet. 18: 231–237.
- Bacq, Z.M. (1975). Sulfar-containing radio protective agent. Pergamon, Oxford.
- Block, E. (1985). The chemistry of garlic and onion. Sci. Amer. 252: 114-119.
- Borchers, A. H., Kennedy, K. A. and Straw, J. A. (1990). Inhibition of DNA excision repair by methotrexate in Chinese hamster ovary cells following exposure to ultraviolet irradiation or ethyl methane sulfonate. Cancer Res. 50: 1786-1789.
- Deflora, S., and Ramel, C. (1988). Mechanisms of mutagenesis and carcinogensis, classification and overview. Mutat. Res., 202: 285-306.
- Evans, E.P.,Breckon, G. Ford, C.E. (1964). An air drying method for meiotic proparations from mammalian testes. Cytogenetics, 3: 284 – 294.
- Fujiwara, M. and Natata, F. (1967). Induction of tumor immunity with tumor cells treated with extract of garlic (*Allium sativum*). Nature. 216: 83-84.
- Harbone, J.B., Mabary, T.J. and Mabary, H. (1975). Physiology and function of flavonoids. Academic. Press. New York. pp 340.
- Haris, C.C. (1976). The carcinogenicity of anticancer drug. A hazard in man. Cancer. 37: 1014-1023.
- Hayatsu, H., Arimoto, S. and Negishi, T. (1988). Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Mutat. Res. 202: 429-226.
- Huennekens, F. M. (1994). The methotrexate story: a paradigm for development of cancer chemotherapeutic agents. Adv. Enzyme. Regul. 34: 397-419.
- Jensen, M. K. and Nyfors, A. (1979). Cytogenetic effect of methotrexate on human cells *in vivo*. Mutat. Res. 64: 339-343.
- Kada, T., Inoue, T., Morita, K. and Namiki, M. (1986). Dietary desmutagens. Genet. Toxicol. Diet. 19 (22): 245-253.

- Kada, T., Sdaie, Y. and Hava, M. (1978). Analysis of mutagen- antimutagen reactions in food and food additives by the recaasay and reversion assay procedures. Mutat. Res., 53: 206-207.
- Kasahara, Y, Wakata, A., Nakai, Y., Yuno, K., Miura, D., Yagi, K., Hirabayashi, K. and Makita, T. (1992). The micronucleus test using peripheral blood reticulocytes from methotrexate-treated mice. Mutat. Res. 278: 145-151.
- Lau, B. H. S., Tadi, P. P. and Tosk, J. M. (1990). *Allium sativum* (garlic) and cancer prevention. Nutr. Res. 10: 937-948.
- Maskaleris, T., Lialiaris, T. and Triantaphyllidis, C. (1998). Induction of cytogenetic damage in human lymphocytes *in vitro* and of anti neoplastic effects in ehrlich ascites tumor cells *in vivo* treated by methotrexate, hyperthermia and\or caffeine. Mutat. Res. 422: 229-236.
- Meier, J., Bull, R., Stober, J. and Cimino, M. (1975). Evaluation of chemicals used for drinking water dis-infection for production of chromosomal damage and sperm-head abnormalities in mice. Hum. Gent. 63: 19-23.
- Moutschen, J. (1985). Introduction to genetic toxicology. John Wiley and Sons Chichester.
- Murcia, C. R. and Nombela, J. J. A. (1972). Cytological aberrations produced by methotrexate in mouse ascites tumours. Mutat. Res. 14: 405-412.
- Ramel, C., Alekperov, V. K., Ames, B. N., Kada, T. and Wattenbery, L.W. (1986). Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis. Reportloy antimulagens and desmutagens ICPEMC expert group on antimutagens and desmutagens. ICPEMC Publ. No. 12. Mutat. Res., 168: 47-65.
- Sato, T., Ones, Y., Nagase, H. and Keto, H. (1990). Mechanism of antimutagenicity of aquatic plant extracts against benzo (a) pyrene in the salmonella assay. Mutat. Res., 241: 283-290.
- Shubber, E.K., and Salih, M. (1987). Cytogenetic studies on blood lymphocytes from patients with . Japan J. Med. Science. Biol., 40: 137-145.
- Sieber, S. M. and Adamson, R. H. (1975). The clastogenic, mutagenic and carcinogenic effects various antineoplastic agents in pharmacologic basis of cancer chemotherapy. (M.D. Anderson Hospital and Tumor institute at Houston). Williams and Wilkins Baltimor. 401-498.
- Sokal, R.R and Rohlf, F. (1981). Multiple and curve-linear regression In “Biometry” By R.R. Sokal and F.Rohlf. Freeman press Francisco, USA pp.617-690.
- Stich, H. and San, C. (1981). Topics in environmental physiology and medicine. In short-term tests for chemical carcinogenesis. Springer Verlag, New york: 187-199.
- Weisberger, A. S. and Penisky, J. (1957). Tumor-inhibiting effects derived from an active principle of garlic (*Allium sativum*). Science. 126: 1112-1119.
- Wills, E. D. (1956). Enzyme inhibition by allicin, the active principle of garlic. J. Biochem. 63: 514-519.
- Yoshida, S., Hiro, Y. and Nagawa, S. (1984). Mutagenicity and cytotoxicity test of garlic. J. Toxicol. Sci. 9: 77-86.
- Zelikoff, J. T., Atkins, N. and Belman, S. (1986). Stimulation of cell growth and proliferation in NIH-3T3 cells by onion and garlic oil. Cell Biol. Toxicol. Vol. 2(3): 369-378.