وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جـامـعــــة القــادسيــــة
كـليــة التربية/قسم علوم الحياة
المرحلة الرابعة/ الدراسات المسائية

دراسة التأثير الوراثي الخلوي للمطفر الميثوتركسات في الخلايا الجسمية للفئران البيض

بحث تقدمة به

الطالبة **زهراء سلمان محمد**

الى مجلس كلية التربية / قسم علوم الحياة
كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في قسم علوم الحياة

بإشراف

م.د. **أسيل رحيم**

1440هـ 2019م

الخلاصة

اجري البحث على 12 فأر ذات اوزان متقاربه باستعمال الميثوتركسات بتراكيز مختلفة لملاحظة التغيرات الحاصلة في خلايا نخاع العظم. وقد قسمت الحيوانات الى ثلاثة مجاميع بواقع اربعة فأران للمجموعة الواحدة . جرعت المجموعة الاولى بعقار الميثوتركسات بتركيز 5 ملغم/كغم والمجموعة الثانية جرعت بنفس العقار بتركيز 10ملغم/كغم .اما المجموعة الثالثة فكانت مجموعة سيطرة والتي جرعت بالمحلول الفسيولوجي فقط وجرعت الفأران بالعقار مرة واحدة يومياً لمدة سبعة ايام .

اظهرت الحيوانات علامات سريرية منها الاسهال واحمرار العيون والخمول والتهاب الذيل . دلت نتائج البحث على ان العلاج بالميثوتركسات لا يخلو من التأثيرات الجانبية في خلايا نخاع العظم .

المقدمة

عقار الميثوتركسات (Methotrexate) MTX هو عقار يستخدم لعلاج الكثير من الامراض التي تصيب الانسان ، ومنها الاورام السرطانية المبكرة وبشكل واسع، فتعتبر من ضمن العقاقير المضادة للاستقلاب metabolism-Anti، كما انه يستخدم لعلاج التهاب المفاصل الرثياني arthritis Rheumatoïd والصدفية psoriasis وبعض الامراض الجلدية، وكذلك يؤثر في أجهزة الجسم المختلفة كالجهاز الهضمي فتحدث فيه اضطرابات هضميه [1] و[2].

وتعتبر اغلبية الادوية المضادة للتسرطن Anticarcinogens هي مواد ذات تأثرات سمية وان العديد منها هي مواد مطفرة ومسرطنه [3]و [4] و[5] ومنها الميثوتركست. حيث ينتج تأثيره من خلال التأثير في عملية انقسام الخلية وبتأثيره في تثبيط فعالية الانزيم Dihydrofolate الذي يعد مفتاح التضاعف في الخلية [6]. وهذا التأثير يؤدي الى منع تحول الفوليت الى ثنائي هيدروفوليت وكذلك يمنع تحول ثنائي هيدروفوليت الى رباعي هيدروفوليت وهذا التوقف في تحويل هذه المواد ينعكس على الكميات المتوفرة من حامض الثايميديليك acid Thymidylic وحامض الانوسنيك Inosinic وهذا الحامضان ضروريان لبناء الاحماض النووية [7].

هذا من جانب ومن جانب اخر من فان عقار الميثوتركسات (MTX) يسبب في استحثاث ظهور التغيرات الكروموسومية عندما استعملت خلايا نقي العظم وخلايا الدم المحيطي [8]. فضلاً عن ذلك يؤثر في نظام اصلاح الـ(Repair-DNA،) حيث اشار Borchersh [9] ان استخدام هذا العقار يثبط عمل انظمة اصلاح ال DNA مما ينتج عنه احداث تلف في جزيئة الـ DNA كما اشار الى ان تأثير هذا العقار يكون من خلال احداث الكسور في اشرطة الـ DNA المفردة داخل الخلية وتراكمها وقد يعود السبب في ذلك الى تأثير العقار في تثبيط عمل انزيم بلمرة الـ DNA-Polymerase (DNA) الخاص بنظام الاصلاح من خلال القص (Repair Excision) وقد تأكد الباحث Borchers وجماعته من هذا التاثير للعقار وذلك من خلال ملاحظة ان اضافة Thymidine و Hypoxanthine الى الخلايا المعاملة بالعقار ادى الى توقف عملية تراكم كسور الـ DNA في الخلية وقد ادت هذه الملاحظات الى

الافتراض ان تأثير هذا العقار ربما يكون عن طريق نفاذ النيوكليوتيدات المتوفرة وبالتالي توقف عملية اصلاح التلف.

ومن خلال دراسة اجريت من قبل الباحث Maskaleris واخرون (1998) داخل الجسم الى vivo in وفي الزجاج Vitro in لمعرفة التأثيرات السمية الوراثية للعقار حيث توصلت الدراسة الى انه يثبط مؤشر الانقسام ويثبط مؤشر التضاعف ويزيد من استحثاث تكوين النوى الصغيرة، كما يزيد من التبادل الكروماتيدي الشقيق SCE .وقد وجد أيضاً ان تأثير العقار يزداد اذا ما استخدم مع الـ Caffein [10] .كما اشار حسن (2002) ان تجريع الفئران القار يؤدي الى احداث تأثيرات تطفيريه وسمية عن طريق خفض معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم والخلايا الجنسية ورفع نسبة الزيغ الكروموسومي واستحثاث تكوين النوى الصغيرة وزيادة ظهور التشوهات في رؤوس الحيامن .

المواد وطريقة العمل :

1- تهيئة الحيوانات

تم اجراء البحث على الفئران البيضاء (white nice) التي تم الحصول عليها من البيت الحيواني في جامعة القادسية وتم اجراء التجارب على 12 فأر تتراوح اوزانها ما بين (25_30)غم التي تم وضعها في اقفاص بلاستيكية مغطاة بغطاء معدني مشبك . وتم فرش هذه الأقفاص بنشارة خشب وتمت العناية بها ووضعت الفئران بجميع مراجل التجربة بنفس الظروف المختبرية من حيث درجة الحرارة والرطوبة والإضاءة واعطيت الماء والعليقة بشكل مستمر خلال مدة التجربة .

2- تحضير تركيز الدواء:

استخدم عقار الميثوتركسات Methotrexate المسوق في عبوات تحتوي على اقراص (2.5غم) EBEWE pharma Ges.m.b.H-Austria :شركة في والمصنع(50ملغم) الأسترالية.

تم اذابة العقار بكميات معينه من الماء المقطر (وحضر من المحلول الناتج محاليل ميتوتركسات بتركيز (5 ملغم/كغم) لجرعات التجربة الأولى ومن ثم بتركيز (10 ملغم/كغم) لجرعات التجربة الثانية بهدف دراسة التأثير التراكمي لهذا العقار في الاستخدامات التي تتم خلال اسبوع . استندنا في اختيارنا لهاتين الجرعتين السابقتي الذكر على دراسة سابقة حقنت فيها مادة الميثوتركسات مرة واحدة فقط وبجرعات كانت تراوح بين (25 _300) ملغ لكل

كيلوغرام من وزن الجسم [11] . ولما كنا سنقوم في هذا البحث بتجريع تراكمي متكرر خلال مدد زمنية حوالي اسبوع، فقد لجأنا إلى جرعة أقل من الجرعات المستخدمة في البحث السابق [11] ، وبدأنا بالجرعة (5ملغم/كغم) والجرعة الثانية (10ملغم/كغم) التي لم تسبب أية وفيات طيلة ايام التجربة (7 ايام) مع المراقبة المستمرة لملاحظة ظهور بعض العلامات السمية كاحمرار العين اسهال مائي كثرة تحريك الفكوك ،سرعة استدارة الرأس والرقبة.

تصميم التجربة

1. جرعت الحيوانات بالمحلول المنظم (puffer saline) وكان عددها (4) فأر.
2. جرعت الحيوانات بعقار الميثوتركسات بتركيز (5 ملغم/كغم) وكان عددها (4) فأر.
3. جرعت الحيوانات بعقار الميثوتركسات بتركيز (10 ملغم/كغم) وكان عددها (4) فأر.

اختبار معامل الانقسام الخيطي : Mitotic Index Assay

اعتمدت الطريقة [12] بعض التغييرات في هذا الاختبار، اذ تم حقن الحيوان (0.25 مل) من محلول الكولجيسين المحضر أنياً في منطقة الغشاء البريتوني (Intraperitoneal) وبعد مرور ساعتين تم تشريح الحيوان كما في الصور(A,B,CMD) واستأصل عظم الفخذ (Femur) وتم وضعه في محلول داري الفوسفات الفسيولوجي قطعت نهايتي عظم الفخذ المرتبطة بمفصلي الحوض و الركبة ومن بعدها تم استخراج المحتوى الخلوي له في أنبوبة اختبار باستخدام محقنة طبية (5 مل) من محلول داري الفوسفات الفسيولوجي حتى يصبح اللون أبيض، ومن بعدها نُقل معلق الخلايا إلى أنبوبة اختبار . ادخلت الخلايا جهاز الطرد المركزي بسرعة (2000 دورة/دقيقة) لمدة 10 دقائق. اهمل الرائق واضيفت للراسب (5 مل) من محلول واطئ التوتر محلول كلوريد البوتاسيوم M0.075 الدافئ 37م" و غلقت الخلايا جيداً ثم وضع الأنبوبان في حمام مائي بحرارة 37م" لمدة 30 دقيقة مع المزج كل خمس دقائق. ثم ادخلت الخلايا الى جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة دقيقة لمدة 5 دقائق، وأهمل الرائق وأضيفت إلى الراسب (5 مل) من محلول التثبيت البارد ووضع الأنبوبان في الثلاجة بحرارة لهم لمدة 30 دقيقة أعيدت خطوة التثبيت مرتين وبعدها علقت الخلايا في (1-2 مل) من المحلول المثبت البارد. أسقطت بضع قطرات من محتويات الأنبوبة على شريحة زجاجية نظيفة وباردة لونت الشرائح بصبغة كمزا لمدة 15 دقيقة وبعدها غسلت بالماء المقطر وتركت لتجف فحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية (100) إذ فحصت 1000 خلية منقسمة وغير منقسمة واستخرج معامل الانقسام بحسب المعادلة الآتية

معامل الانقسام(%)=(عدد الخلايا المنقسمة ÷ العدد الكلي للخلايا)× 100

التحليل الاحصائي:

تم تحليل النتائج احصائياً من خلال استخدام (ANOVA Table) لتحليل التباين وبعدها اختبرت معنوية الفروق بين المعدلات بأستخدام اختبار (Duncan Multiplerange) واختبار اقل فرق معنوي (Less significant Diffrential) وذلك بأستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز (SPSS)

جدول رقم (1) تأثير المعاملات على تشوهات خلايا نقي العظم

المعاملات	عدد الفئران	مؤشر معامل الانقسام لخلايا نقي العظم
CONTROL	4	15± 0.13
METHOTREXATE بتركيز (5 ملغم/كغم)	4	6±0.32
METHOTREXATE بتركيز (10 ملغم/ كغم)	4	1± 0.51

Control : مجموعة السيطرة جرعت بالمحلول الفسيلوجي خلال مدة التجريع.

Methotrexate: المعاملة الاولى جرعت بالعقار بتركيز 5ملغم/كغم من وزن الجسم.

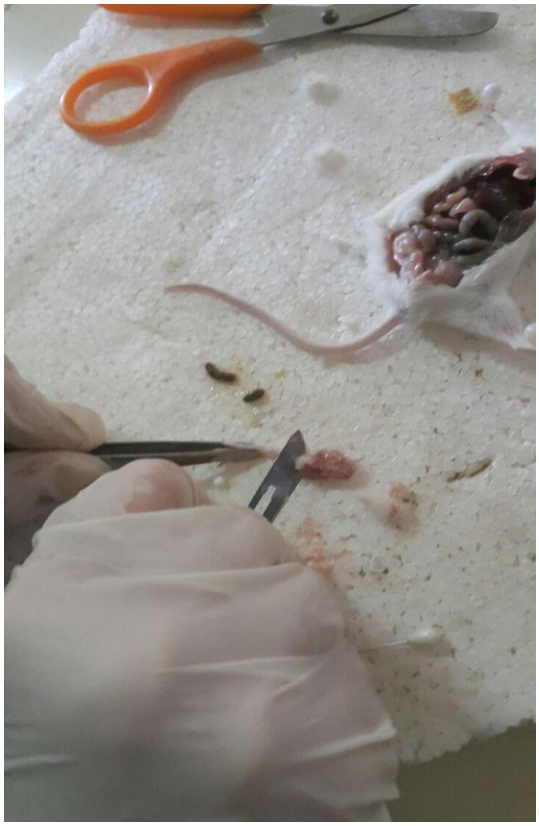
Methotrexate: المعاملة الثانية جرعت بالعقار بتركيز 10ملغم/كغم من وزن الجسم

النتائج

اوضحت النتائج في الجدول رقم (1) ان معاملة ذكور الفأر الابيض بعقار الميتوتركسات ادت الى انخفاض معنوي في معدل الانقسام الخلوي لنقي العظم مقارنة بالسيطرة حيث ان تركيز العقار (10ملغم/ كغم) كان اكثر معنوياً في خفض معامل الانقسام (0.51 ±1) مقارنة مع السيطرة (0.13 ±15) ومقارنة مع المجموعة الثانية التي جرعت بالعقار بتركيز (5 ملغم/ كغم) حيث كانت قيمة معامل الانقسام (0.32±6).

(A)

(B)



(C)

(D)

المناقشة:

أن تكرار التجريع بالميثوتركسات يعتبر دليلاً معبراً عن خطرِ هذهِ المادةْ على حياةِ الكائن الحي . عندما تم أستخدام جرعات عالية من مادة الميثوتركسات لم تشاهد أي علامات قد ظهرت على الفئران في بداية التجريع الأول بالعقار بتركيز 10 ملغ على المجموعة الاولى المكونة من أربع فئران . ولكن عند تكرار عملية التجريع بدأت تظهر علامات على الفئران منها أحمرار العيون و الخمول و الأسهال بحيث كلما تكررت عمليات التجربة المتتالية مع الزمن أزدادت أعداد الحيوانات الميتة . أشارت الدراسات على أن التأثير التراكمي لعقار الميثوتركسات التي تم تجربتها على الفئران البيض ظهور هذا التأثير خلال اسبوع من عملية التجريع حيث بدأ أنخفاض وزن الفئران بتأثير عقار الميثوتركسات بالمقارنة مع حيوانات السيطرة و ظهور تأثيرات سمية على الأجهزة الجسمية الأخرى . تطال خلايا الرئة و الكبد [13] .

حيث يتولد ضغطاً تأكسدياً بفعل عقار الميثوتركسات يولد السمية (genotoxicity) في أمعاء الفار بحيث تكون على شكل ألتهابات نسيجية تصل الى مرحلة الموت الخلوي (poptosisA) و يمكن تحسين أثار السمية بتناول [14] (Lipoic acid) .

و كذلك وجد الباحثين أن لمادة الميثوتركسات تأثيرات سمية للخلايا الظهارية في في الأمعاء الدقيقة للفئران (خلايا الزغابات المعوية ، الخلايا الغدية) متمثلاً في قلة عدد الجسيمات الكوندرية بالأظافة لقياساتها ، و كل هذا قد تسبب به الميثوتركسات للجسيمات كما لوحظ وجود أنخفاض في نشاط أنزيم سيكسونيك ديهيدروجيناز (succinic dehydrogenase) وهذا قد تسبب بحدوث أضطرابات استقلابية في خلايا [15] .

و في بحث أخر لنفس المجموعة من الباحثين وجدوا ان تأثيرات سمية للميثوتركسات في الأمعاء الدقيقة للفئران متمثلة في تضخم حاصل في الحجم الطبيعي لجهاز كولجي للخلايا .

و حدوث اضطرابات استقلابية فيها ناتجةً من الزيادة في نشاط أنزيم الفوسفاتاز الحامضية . و التي تتسبب في أرتفاع الأيض الهدمي (Catabolic) ناتجاً عن عدم وجود توازن لعمل الأجسام الحالة . و هذا يعيق ظاهرة الأنقسام الخلوي . بالأظافة لذلك يرى باحثون ان الزيادة في تركيز أنزيم الإستيراز غير النوعية(nonspecific esterases) في الخلايا التي تمت معالجتها بمادة الميتوتركسات (سيؤدي لزيادة في استقلاب الحموضة الدسمة) ، أو قد يكون ذلك عاملاً في أزالة السمية (Detoxicant). [16].

كما اشار بعض الباحثين أن المعالجة بالميثوتركسات (المعالجة الكيميائية chemotherapy) يمكن أن تسبب خللاً في تشكل النطف spermatogenesis يليه نقصان في وزن الخصية ووزن الجسم، ويلاحظ نقص في قطر الأنبوب المنوي مع تثخن في الظهارة المنشئة لجدار الأنبوب، و يؤثر ذلك في تركيز هرمون التستستيرون لدى الفأر. وقد وجدوا هؤلاء الباحثون أن معالجة الفأران بهرمون النمو GH بعد استعمال الميثوتركسات يمكن أن يكسب الحيوانات الشفاء بعد 14 إلى 28 يوماً من بدء العلاج [17] .

كما يحدث الميثوتركسات عقماً مؤقتاً لدى الإنسان، ثم يتماثل للشفاء بعد مدة قد تطول أو تقصر، او قد يحتاج الأمر إلى اتباع معالجة هرمونية تلي الاستعمال المديد للعلاج وفقاً لما يتطلبه الوضع الصحي للشخص [18] .إن المعالجة الكيميائية والإشعاعية Therapy Radiation للرجال المصابين بسرطان الخصية cancer testicular تؤدي إلى انخفاض كبير في عدد النطف، وكذلك قد يؤدي الأمر إلى فقدان كلي للنطف aspemia بمرور الوقت (عقم كامل)، كما وتختلف مدة الشفاء (بين حالة عقم آني أم دائم)، ان في حالة العقم الآني يحتاج الشفاء إلى عدة أشهر حتى سنة. أما في حالة العقم الدائم فيحتاج الشفاء إلى عدة سنوات (5 سنة) [19] [20].

ويرى الباحثون أن معالجة الرجال المصابين بسرطان الخصية المعتمدة كلياً على المعالجة الكيميائية أو الكيميائية – الإشعاعية (وبالتحديدً المعالجة عن بعد) من الممكن أن يحدث لديهم شفاء وتتشكل لديهم النطف، أما في حالة المعالجة الإشعاعية (القريبة) فإن الرجال يفقدون النطف بشكل دائم [21]. و تؤثر المعالجة الكيميائية بعمل الغدد الخلالية الخصيوية (خلايا ليديك) فضلاً عن خلايا سيرتولي (الخلايا المغذية والمساعدة على تشكل النطف) مؤدياً الى احداث عقماً بنسبة 30- 50 %من عدد الرجال المعالجين [22].

ويوضح بعض الباحثين أن المعالجة بالميثوتركسات لها تأثير في وظائف الخصية (وظيفة تشكل النطاف) بشكل غير مباشر عن طريق إحداث خلل في الهرمونات الجنسية المؤثرة في تشكل النطف مثل FSH وLH والتستستيرون، ويحدث الشفاء بعد العقم الآني بعد سنة من بدء المعالجة [23]. توصل باحث آخر [18] إلى أن الشفاء من تأثير المعالجة بالميثوتركسات يحدث بعد 6-12 شهراً ، ويرى أيضاً أن المعالجات الكيميائية بـ 20 عقاراً كيميائياً تؤثر بالفعل في خصوبة الرجال، ويختلف زمن الشفاء من العقم من عقار إلى آخر، فبعضها يحتاج إلى سنة وبعضها الآخر يحتاج إلى عدة سنوات، كما يرى الباحث ضرورة استخدام بعض الهرمونات مثل الإستروجين والأندروجين وغيرها، إذ إن استخدام مثل هذه الهرمونات يمكن أن يحقق نجاحاً وأن يعيد الأمل بالشفاء والخصوبة.

يرى بعض الباحثين إمكانية تخفيف السمية عن الخلايا المنشئة (المشكلة للنطف) بإعطاء المريض جرعات من حمض الفوليك acid Folic لمنع تشوه النطف وتجنب تأثير الميثوتركسات في العقم [24].

ولا بد من الإشارة إلى ما يخص التراكيز المرتفعة من عقار الميثوتركسات المستعملة في هذا البحث والتي تحملتها الفئران كانت أضعاف ما يوصف عند استخدامه في البروتوكولات العلاجية الكيميائية في حالات الأورام البشرية Chemotherapy ،ويعود ذلك بشكل رئيسي للمعدلات الاستقلابية المرتفعة

rates metabolic High عند القوارض بشكل عام والفئران بشكل خاص، وربما يعود لانخفاض الإتاحة البيولوجية الحيوية Bioavailability لهذا الدواء عند الفئران.

المصادر العربية والانكليزية:-

1. French, A. E., and Koren, G. (2003). Effect of Methotrexate on male Fertility Canadian Family physician, vol.49,issue 5, 577-578.
2. Balk, R. A. (2011). Methotrexate-induced lung injury. Uptodate Marketing profesionel. 19.1(ecappo6 vtd.com-84/137 200.56 FFCi D9C76-14.
3. Harris, C.C (1976). The Carcinogenicty of anticancer drugs, Ahazan in mam. Cancer1032-1014 :37
4. حسن، مفيد قائد احمد (2002 (تثبيط الأثر السمي الوراثي لبعض المسرطنات الكيميائية باستعمال مستخلصات نباتية، اطروحة دكتوراه، جامعة بابل.
5. الربيعي عباس حسين مغير (2006) تأثير العسل الطبيعي في تثبيط الأثر التطفيري لعقار المايتومايسين –سي- في الفئران البيض مجلة جامعة بابل، المجلد (13 (العدد (3 :(500-510 .
6. Huennekens, F.M. (1994). The methotrexate Story: a Paradigm For development of cancer chemotherapeutic agents . Adv. Enzyme. Regul. 34: 397-419
7. Carter, S.K. and Livingston, R.B. (1982). Drugs available to treat cancer. In : Carter S.; Glatstein, R.B. (Eds). Principles of cancer treatment, McGraw-Hill, New York PP 111-145.
8. Jensen, M.K. and Nyfors, A. (1979). Sytogenetic effect of methotrexate on human cells in vivo. Mutal. Res. 64: 339-343
9. Borcher, A.H.; Kennedy, K.A. and Straw, J.A. (1990). Inhibition of DNA excision repair by methotrexate in Chinese hamster ovary Cell following exposure to ultra violet irradiation or ethyl methane sulfonate. Cancer Res. 50 : 1786-1789

10. Maskaleris, T.; Lialiars, T. and Triantaphyllidis, C. (1998). Induction of Cytogenetic damage in human lymphocytes in vitro and anti neoplastic effects in ehrlich aseites tumor Cells in vivo treated by methotrexate, hyperthermia and/or Caffeine. Matat. Res, 422: 229-236

11.بصل مصطفى. (2006 .(تأثير جرعات متزايدة من الميتوتركسات (معاكس حمض الفوليك) في إنتاج النطاف عند ذكور الفأر. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية-مجلد (22 -(العدد الأول.

12. **Allen, J. W., Shuler, C. F., Mendes, R. W. and Latt, S. A. (1977). A simplified technique for Invivo analysis of sister chromatid exchanges using 5-bromo-deoxuridine. Cytogenet . Cell. Genet.18:231-237**

13.Jene, G. B. (2010) Intervention of a-lipoic acid ameliorates methotrexate induced oxidative ,stress and genotoxicity: A study in rate intestine Chemico-Biological interaction, vol. issue 1,5:85-97,

Choudhury, R.C, Ghosh, S. K, Palo, A. K. (2001). Potential

14.transmission of the cytogenetic toxic effects of Methotrexate in male germline cells of swiss mice .Environmental Toxicology and pharmacology Vol.10,issue, 3: 81-88.

15.Ramadn, A. A., Yousif, W. B. and Ali, A. M. (1992a). The effect of methotrexate (MTX) on the small intestine of the and succinic dehydrogenase (SDH) mouse.III.Mitochondria . Funct. Dev. Morphol.2 (1):3-9.

16.Ramadan, A. A., Yousif, W. B. and Ali, A. M. (1992b). The effect of Methotrexate (MTX) on the small intestine of the mouse. IV. The Golgi apparatus, phosphatases and estrerases. Funct. Dev. Morphol. (2):111-9.

17. Nouri, H. S., Azami, Y., Moyathedin, M. (2009). Effect of grow hormone on

testicular dysfunction induced by methotrexate in rate. Islamic Azad .Univ, Tabriz Iran. 4(2):105-110.

18.Turek, P. (2011). Male Fertility preservation. Optimized website Design by fertility. Marketing the Turek Cilnic. com.

19. Howell, S. J. and Shalet, S. M. (2005). Spermatogenesis after cancer Treatment Damage and Recovery. J. of National cancer institute Monographs Nº34 .

20.Kanthrow, M. (2009). Cancer treatment and infertility. American Fertility Association (AFA) WW.cancerpoint.com .

21.Shamberger, R. C., Sherins, R. J., Rosenberg, S. A. (1981). The effect of postoperative adjuvant chemotherapy and radiotherapy on testicular function in men undergoing treatment for soft tissue, Sarcoma cancer . Medline 47: 2368-2374 .

22.Efsthiou, E., and Logothetis, C. J. (2006). Review of late complication of treatment and relapse in testicular cancer. Publmed. gov. J. Natl. comp . canc. Netw 4(10): 1059-1076. Unv. Of texas ,U.S.A .

23.Pectasides, D., Pectasides, E., Papaxoinis,G., Kondra, M., Gerostathou, M ,. Karageorgpoulow, S. Kamposioras, C., Tountas, N., Koumarianow,A ,. Psyrria, A., Macheras, A. and Economopoulos, G. (2009). Testicular Function in poor-Risk nonseminomatus Methotrexate, paclitaxed , ifosfamind, and Cisplatin combination chemotherapy. Journal of Andrology Vol. 30 Nº3.American Societry Andrology.

24.Fitzakerley, J. (2011). Antineoplastic. A-Folic acid analogues: Methotrexate ,

Pemertexed. Prevent DNA/ Antimetabolites Folic acid analogues / Mechanism. Univ. of Minuesota Medical school.. Duluth/Las modified 3 - mar 11 4:28 PM.