ارزیابی جهش‌زایی و سرطان‌زایی آلاینده‌های هوای تهران به روش آزمون ایمز

دکتر محمدحسن شاه‌حسینی[۱*]، محمدجواد باقری‌پور[۲]، دکتر محمدمهدی سلطان‌دلال[۳]، دکتر حمیدرضا خرم‌خورشید[۴]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار، شهر قدس ۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه امام حسین ۳- گروه باکتریولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۴- مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی

دریافت: ۸۶/۲/۱۵ پذیرش: ۸۶/۹/۲۲

Title: *Assessment of mutagenicity and carcinogenicity of Tehran's air pollutants with Ames test*

Authors: *Shahhosseiny MH, (PhD); Bagheri MJ, (MS); SoltanDallal MM, (PhD); KhoramKhorshid MR, (PhD).*

Introduction: *With increasing development of technology and use of different types of fuels, environmental pollutants are increasing more and more in volume. Air pollution is an important issue with regard to its role in affecting human population health and especially the children. Studies in other countries have shown that the exhaust particles resulting from gasoline and diesel motors contain large amounts of mutagens and carcinogens including Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs).*

Methods: *There are different methods for mutagenesis assessment of PAHs and other organic substances available in air pollutants among which the "AMES" method is the easiest, fastest, and the most cost-effective one. This method has been introduced by Dr. Bruce N. Ames in 1967. The Ames method uses different strains of Salmonella typhimurium bacteria, which are genetically manipulated so that they can not grow in media without histidin. These bacterial strains are cultivated in histidin-free media and the substance, whose mutagenicity is under investigation, is also added to the medium. If the substance is mutagen, the bacteria will transform to mutant strains and will be able to synthesize histidin and therefore will begin to grow. Investigations with the Ames method have shown that 83% of substances which are identified as mutagen with this method are carcinogen. We applied this method in the current study. Seventy six ambient air samples were collected on fiberglass filters using a "High Volume Sampler Set" during the spring, summer, and fall. The organic substances of the samples were extracted by dichloromethane and Soxhlet. The bacterial Strains (TA98 & TA100) were provided by the courtesy of Dr. Ames from the United States upon our contact with him and genotypes of the bacteria were confirmed using the pertinent assay methods. The extracted samples were assessed with the Ames method at three different concentrations of 0.8, 1.6, and 3.2 mg of dry material per 100 µl solvent. One-way analysis of variance and Post Hoc tests were used for statistical analysis.*

Results: *The results indicated the presence of mutagenic substances in Tehran's air pollutants. Findings from TA98 and TA100 strains demonstrated that the mutagenicity ratios of the organic substances had significant differences with the critical value of two, for concentrations of 1.6 and 3.2 mg/100 µl. The mutagenicity ratios calculated for samples collected in spring, summer, and autumn did not have any significant difference with each other at the three tested concentrations. Also the mean colony counts did not demonstrate any significant difference in the mentioned seasons and at the three concentrations, but the colony counts were lower than the colony counts of the negative control group at the three concentrations (P value = 0.001).*

Conclusion: *Comparison of our results with those form studies in other countries shows that the mutagenesis rates of Tehran's air pollutants are more than the similar rates in other countries in some cases. This is alarming for the authorities in order to do more efforts for decreasing the air pollution, especially in Tehran.*

Keywords: *Ames, Mutagenicity, Air, Pollutants, Tehran.*

Hakim Research Journal 2008; 11(1): 29- 39.

* نویسنده مسؤول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهریار، شهر قدس، گروه میکروب‌شناسی. تلفن: ۰۹۱۲۳۳۰۴۰۶۹ نمابر: ۲۲۳۶۹۰۶۵
پست الکترونیک: shahhosseiny@yahoo.com

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

چکیده

مقدمه: *با توجه به توسعه روز افزون تکنولوژی و استفاده بشر از سوخت‌های مختلف، مرتباً بر مقدار آلاینده‌های محیط زیست افزوده می‌شود. بحث آلودگی هوا، به جهت نقشی که در سلامتی افراد جامعه به خصوص کودکان دارد، اهمیت پیدا کرده است. مطالعات انجام شده در سایر کشورها مشخص کرده است که ذرات حاصل از سوخت موتورهای بنزینی و دیزلی دارای مقادیر زیادی از عوامل جهش‌زا و سرطان‌زا، از جمله هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک (PAH) هستند.*

روش کار: *جهت بررسی جهش‌زایی این مواد و سایر مواد آلی موجود در آلاینده‌های هوا، روش‌های مختلفی وجود دارد که یکی از آسان‌ترین، سریع‌ترین و کم‌خرج‌ترین آنها، آزمون ایمز (AMES) می‌باشد. این آزمون در سال ۱۹۶۷ توسط دکتر Bruce N. Ames ارایه شد. در این آزمون از سوش‌های مختلف باکتری سالمونلا تیفی موریوم استفاده می‌شود که هر کدام از اینها به نوعی دستکاری ژنتیکی شده‌اند. به طوری که در محیط فاقد هیستیدین قادر به رشد نیستند. در صورتی که ماده مورد آزمون،به همراه این باکتری در محیط فاقد هیستیدین کشت داده شود، اگر ماده جهش‌زا باشد باکتری جهش می‌یابد و در نتیجه قادر خواهد بود که هیستیدین مورد نیاز خود را ساخته و شروع به رشد نماید. نتایج به دست آمده با این روش نشان داده است که حدود ۸۳٪ از موادی‌که توسط این روش جهش‌زا شناخته می‌شوند، سرطان‌زا هستند. در تحقیق حاضر نیز از این روش استفاده گردید. ابتدا در طی سه فصل بهار، تابستان و پاییز،تعداد ۷۶ نمونه هوا توسط دستگاه High Volume Sampler بر روی فیلترهای فایبرگلاس جمع‌آوری گردید. سپس مواد آلی موجود در نمونه‌ها توسط ماده دی کلرومتان و به وسیله دستگاه سوکسله استخراج گردید. باکتری‌های مورد استفاده (TA98 & TA100) نیز طی مکاتبه‌ای با دکتر Ames از آمریکا تهیه شد و توسط آزمون‌های مربوطه ژنوتیپ سوش‌ها تایید گردید. سپس نمونه‌های استخراج شده، در سه غلظت (۸/.، ۱/۶ و ۳/۲ میلی‌گرم ماده خشک بر ۱۰۰ میکرولیتر حلال) به روش آزمون ایمز، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از آزمایش‌ها به کمک روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و استفاده از روش Post Hoc مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *نتایج حاصل از آزمون، نشانگر وجود مواد جهش‌زا در آلاینده‌های هوای تهران بود. نتایج به دست آمده از سوش TA98 و TA100 نشانگر این بود که در هر سه غلظت مورد آزمون، نسبت جهش‌زایی مواد آلی در فصل‌های بهار، تابستان و پاییز تفاوت معناداری با یکدیگر نداشته است اما نسبت جهش‌زایی در غلظت‌های ۱/۶ و ۳/۲ تفاوت معنادار آماری با عدد بحرانی ۲ دارد. همچنین میانگین تعداد کلنی‌ها بر حسب غلظت‌های مختلف در طی فصل‌های بهار، تابستان و پاییز تفاوت معنادار آماری را نشان نمی‌دهند. اما تفاوت تعداد کلنی‌ها در غلظت‌های مختلف با گروه کنترل منفی دارای تفاوت آماری معنادار می‌باشد ($p = 0.001$).*

نتیجه‌گیری: *مقایسه نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات در کشورهای دیگر، نشان می‌داد که در برخی موارد میزان جهش‌زایی آلاینده‌های هوای تهران بیشتر از این کشورها بود و این می‌تواند برای مسؤولین زنگ خطری باشد تا جهت کاهش میزان آلودگی هوا به خصوص در شهر تهران، تلاش بیشتری نمایند.*

گل‌واژگان: *ایمز، جهش‌زایی، هوا، آلاینده، تهران.*

مقدمه

با پیشرفت جوامع بشری و بالطبع تکنولوژی، بسیاری از شهرهای بزرگ از جمله تهران گرفتار مسایل و مشکلات بسیار پیچیده‌ای شده است. یکی از عمده‌ترین این مشکلات، آلودگی هوا می‌باشد. به طوری که هم اکنون شهر تهران از لحاظ آلودگی هوا در بین شهرهای بزرگ جهان در مقام نخستین قرار دارد. توسعه تکنولوژی و استفاده بشر از سوخت‌های مختلف، مرتباً بر مقدار آلوده کننده‌های محیط زیست افزوده است و خطرات ناشی از استنشاق آلاینده‌های هوا، نگرانی‌هایی را در

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

بین دانشمندان، دولت‌ها و جمعیت‌های انسانی ایجاد کرده است. تحقیقات اخیر نشان داده است که بین در معرض قرارگیری در برابر آلاینده‌های هوا و افزایش مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های تنفسی و قلبی- عروقی، در میان جوامع بشری، رابطه مستقیمی وجود دارد (۷ -۱). از آلاینده‌های مهمی که توسط محققین و دانشمندان مورد توجه قرار گرفته است، ترکیبات سرطان‌زایی می‌باشد که مهم‌ترین آنها هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک[1] هستند (۱۰ -۸). هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک حاصل احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی بوده (۱۱) و مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که این ترکیبات و نیز مشتقات نیتروی آنها دارای اثرات ژنوتوکسیک، موتاژنیک و سرطان‌زایی هستند (۱، ۲، ۸ و ۲۴ -۱۲).

مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که برخی از ترکیبات هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک باعث بروز تورموهای سرطانی در حیوانات آزمایشگاهی شده و نیز برای باکتری‌ها و سلول‌های پستانداران، جهش‌زا هستند (۱۹). این ترکیبات را می‌توان علاوه بر هوا، در خاک، آب، پارافین‌های تجارتی، روغن‌های معدنی، حلال‌های صنعتی، دود سیگار، قیر و گازوییل مشاهده نمود (۲۵ -۱۷). ذرات معلق در هوا که قطری کمتر از ۰/۵ میکرون دارند معمولاً جاذب PAH بوده و این ذرات به خاطر حالت آئرودینامیک خود، به آسانی استنشاق، و حدود ۱۰٪ آنها در نواحی آلوئولار ریه ته‌نشین می‌شوند (۱۲ و ۱۳). این ذرات در ضمن حاوی مشتقات نیتروی ترکیبات PAH نیز بوده که این‌ها دارای اثر موتاژنیک مستقیم نیز هستند. در نمونه‌های جمع‌آوری شده از ریه مبتلایان به سرطان، نه تنها PAH بلکه مشتقات نیتروی PAH نیز نشان داده شده است (۹).

جهت بررسی توان سرطان‌زایی این ترکیبات راه‌های مختلفی وجود دارد که از جمله آنها، تزریق این مواد به داخل بدن حیوانات آزمایشگاهی و بررسی بروز تومور در آنها می‌باشد. ولی این روش علاوه بر این که دارای هزینه بالایی می‌باشد و مقرون به صرفه نیست، مدت زمان زیادی را نیز احتیاج دارد (۲۸). یکی ار راه‌های مؤثر ، معتبر و کم‌هزینه و سریع برای تشخیص توان موتاژنیک و بالطبع توان سرطان‌زایی مواد، استفاده از آزمون ایمز[2] است. در این آزمون از باکتری سالمونلاتیفی موریوم استفاده می‌شود. ۸۳٪ از موادی که در این آزمون جهش‌زا تشخیص داده شوند دارای اثر سرطان‌زایی نیز هستند (۲۸). با توجه به این مسأله، این آزمون جهت بررسی اثر موتاژنیک آلاینده‌های هوای تهران مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که طبق بررسی‌های انجام شده در ایران و به خصوص در تهران هیچ‌گونه تحقیق مشابهی در این زمینه صورت نگرفته است ولی طی جستجوهایی که در مقالات و اینترنت انجام شد مشخص گردید که در بسیاری از کشورها از این آزمون جهت بررسی میزان جهش‌زایی مواد آلاینده هوا استفاده شده است.

روش کار

مواد و محلول‌های مورد نیاز: جهت انجام آزمون ایمز، احتیاج به محیط‌های کشت و محلول‌هایی است که طبق دستورالعمل ایمز، تهیه گردید (۲۹).

محلول‌های کنترل: در این آزمون جهت کنترل منفی از دی متیل سولفوکساید[3] استفاده می‌شود. این ماده به طور طبیعی به‌صورت مایع است که به همان صورت مورد استفاده قرار می‌گیرد. جهت کنترل مثبت نیز از سدیم آزید استفاده می‌شود که یک سرطان‌زای شناخته شده می‌باشد و به‌صورت پودر می‌باشد. این ماده را طوری در آب مقطر حل می‌کنیم که هر ۱۰۰ میکرولیتر محلول به دست آمده حاوی ۱/۵ میکروگرم سدیم آزید باشد. سپس محلول فوق را در دمای $^{\circ}C$ ۱۲۱ به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو می‌کنیم.

آزمون‌های بررسی ژنوتیپ سوش‌ها::باید در ابتدا و در طول مدت آزمایش، سوش‌ها از نظر وجود جهش‌های مربوطه مورد آزمون قرار گیرند. سوش‌های مورد استفاده در این تحقیق TA 98 و TA100 بودند که طی مکاتبه‌ای با دکتر ایمز، از طریق همکار ایشان دکتر اریک شیگنو[4] از دانشگاه برکلی ایالت کالیفرنیای آمریکا دریافت شدند. با توجه به مشخصات این سوش‌ها، آزمون‌های زیر در ابتدای دریافت سوش‌ها و بعداً در فواصل مناسب بر روی آنها انجام گرفت.

الف: آزمون نشان دادن وابستگی به هیستیدین: ابتدا سوش‌ها در محیط نوترینت براث کشت داده شد و مدت ۱۶ – ۱۲ ساعت در انکوباتور در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ انکوبه گردید. سپس حدود ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه کشت داده شده، روی محیط بیوتین هیستیدین (محیط حداقل که واحد مقادیر کمی هیستیدین و بیوتین است) در شرایط استریل و زیر هود انتقال داده شد. برای کنترل نیز ۰/۱ میلی‌لیتر از کشت مربوطه در شرایط استریل به محیط بیوتین کنترل (محیط حداقل که واجد بیوتین و فاقد هیستیدین است) برده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در

[1] Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH)
[2] Ames Test
[3] DMSO
[4] Eric Shigeno

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

انکوباتور در دمای $37^{\circ}C$ نکوبه شدند. رشد کلنی در محیط بیوتین هیستیدین و عدم رشد آن در محیط بیوتین کنترل، نشانگر وابستگی سوش به هیستیدین است.

ب- آزمون نشان دادن جهش rfa: سوش‌ها در محیط نوترینت برات کشت داده شد. پس از ۱۶ –۱۲ ساعت انکوباسیون در دمای $37^{\circ}C$، ۰/۱ میلی‌لیتر از آن به ۲ میلی‌لیتر از محلول تاپ آگار استریل افزوده شد. محلول تاپ آگار از قبل استریل گردیده بود، پس از ۳ ثانیه حرکت چرخشی، محلول فوق بر روی پلیت حاوی نوترینت آگار خالی می‌شود و سپس اجازه داده می‌شود تا بر روی پلیت سفت شود. حال دیسک آماده شده کریستال ویوله را بر روی پلیت فوق گذاشته و کمی فشار می‌دهیم تا به سطح آگار بچسبد سپس آن را به مدت ۱۲ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه می‌کنیم. وجود هاله عدم رشد به قطر ۱۴ میلی‌متر در اطراف دیسک‌های کریستال ویوله نشانگر حساس بودن سوش‌ها به کریستال ویوله و در نتیجه وجود جهش rfa در آنها است.

ج- آزمون نشان دادن جهش UVrβ: برای انجام این آزمون، ابتدا سوش‌ها در محیط نوترینت کشت داده شد و سپس به مدت ۱۶ –۱۲ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه گردید. پس از آن توسط یک سواب استریل، چندین کشت موازی روی نوترینت آگار داده شد و بعد نیمی از پلیت توسط ورقه آلومینیومی پوشیده و نیم دیگر آن از فاصله ۳۳ سانتی‌متری و به مدت ۸ ثانیه تحت شرایط استریل، توسط پرتو ماوراء بنفش پرتودهی شد. پلیت مذکور به مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه گردید. بعد از این مدت، عدم رشد در ناحیه پرتودهی شده و رشد در ناحیه‌ای که پرتودهی نشده بود، نشانگر وجود جهش UVrβ است.

د- آزمون نشان دادن وجود پلاسمید PKM101: برای این آزمون نیز ابتدا سوش‌ها در محیط نوترینت براث به مدت ۱۶–۱۲ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ رشد داده شدند. سپس توسط یک سواب استریل، از این محیط بر روی پلیت‌های حاوی بیوتین، هیستیدین، آمپی‌سیلین، چندین کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه گردید. رشد باکتری در محیط فوق، نشانه مقاومت سوش‌ها در برابر آمپی‌سیلین و در نتیجه وجود عامل مقاومت R بود.

نحوه جمع‌آوری نمونه‌ها (ذرات معلق): برای جمع‌آوری نمونه که در واقع ذرات معلق در هوا می‌باشد، از دستگاه نمونه‌بردار[1] استفاده شد. فیلترهای مورد استفاده از نوع S&S در ابعاد ۲۵ × ۲۰ سانتی‌متر از جنس فایبر گلاس بودند. دستگاه مزبور به پشت‌بام ساختمان دانشکده بهداشت منتقل گردید. برای شروع نمونه‌برداری ابتد دستگاه یک بار کالیبره شد و سپس هر ۲۴ ساعت یک فیلتر بر روی دستگاه نصب و فیلتر قبلی برداشته و در تاریکی نگهداری می‌شد. لازم به ذکر است که قبل از نصب فیلتر بر روی دستگاه، فیلتر توسط ترازو وزن می‌گردید و بعد از نمونه‌برداری نیز این عمل تکرار می‌شد تا ضمن محاسبه وزن ذرات معلق جمع‌آوری شده، با توجه به حجم هوای عبوری، غلظت ذرات معلق نیز به دست آید. حجم هوای عبوری از حاصلضرب زمان نمونه‌برداری و متوسط هوای عبوری در دقیقه به دست می‌آید. بدین‌ترتیب در مدت حدود ۲ ماه تعداد ۷۶ نمونه جمع‌آوری گردید.

آماده سازی نمونه‌ها: ذرات جمع‌آوری شده بر روی فیلتر، حاوی بسیاری از مواد و عناصر موجود در هوا می‌باشد. با توجه به این که طبق توضیحات قبل ترکیبات آلی موجود در آلاینده‌های هوا، از جمله هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک بیشترین نقش را در این میان دارند لذا باید این‌گونه ترکیبات را جداسازی نمود. برای جداسازی از دستگاه سوکسله و تبخیرکننده استفاده شد. حلال مورد استفاده در سوکسله، دی‌کلرومتان بود. هر فیلتر به مدت ۱۲ ساعت تحت استخراج قرار می‌گرفت. در مجموع حدود ۴۰ بار عمل استخراج ترکیبات آلی تکرار می‌گردید. بعد از اتمام کار، مواد استخراج شده داخل ظروف در بسته‌ای ریخته شده و جهت انجام مراحل بعدی خالص‌سازی در تاریکی نگهداری می‌شد. جهت جدا کردن حلال از دستگاه تبخیر کننده استفاده شد. اجازه داده شد تا باقیمانده دی کلرومتان، خود به خود تبخیر شود و فقط توده حاوی ترکیبات آلی به دست آمده، باقی بماند. سپس مجدداً لوله‌ها وزن گردید و بدین‌ترتیب وزن ترکیبات آلی به دست آمده، محاسبه شد. جهت انجام آزمون ایمز، از نمونه‌های به دست آمده ۳ رقت، ۳/۲، ۱/۶ و ۰/۸ (هر کدام در ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید) میلی‌گرم تهیه گردید.

افزودن نمونه: در این مرحله، از هر یک از رقت‌های ۳/۲ ، ۱/۶ و ۰/۸ تهیه شده در مراحل قبل، توسط سمپلر استریل مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به لوله‌های حاوی تاپ آگار و بیوتین هیستیدین اضافه می‌کنیم. (هر رقت به یک لوله) و آنها را کاملاً مخلوط می‌کنیم.

افزودن کنترل‌ها: به یکی از لوله‌های حاوی تاپ آگار، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از حلال دی متیل سولفوکساید به عنوان کنترل منفی و به لوله دیگر نیز مقدار ۱۰۰ میکرولیتر سدیم آزید به عنوان کنترل مثبت اضافه کرده و آنها را کاملا مخلوط می‌کنیم.

[1] High Volume Sampler

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

افزودن سوش مورد نظر: در شرایط کاملاً استریل به کلیه لوله‌ها (به جز لوله ششم که فقط حاوی تاپ آگار و بیوتین هیستیدین است)، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوش مورد آزمایش را که از شب قبل تهیه شده بود می‌افزاییم. به لوله ششم که فقط حاوی تاپ آگار و بیوتین هیستدین است و جهت کنترل آلودگی تاپ آگار به کار می‌رود، سوش مورد نظر اضافه نمی‌شود.

انتقال به محیط گلوکز حداقل: این مرحله، در واقع مرحله اصلی آزمون می‌باشد و از حساسیت خاصی برخوردار است. به طوری که در این مرحله نیز باید شرایط استریل کاملاً رعایت شود تا میزان آلودگی احتمالی بسیار کم شود و در ضمن چون لوله‌ها در حرارت $^{\circ}C$ ۴۵ نگهداری شده‌اند لذا باید مراحل افزودن سوش به لوله‌ها و انتقال آنها به محیط گلوکز حداقل سریع انجام شود تا سوش‌های مورد نظر حفظ شوند و بر روی پلیت‌ها به طور یکنواخت پراکنده شوند. محتویات هر لوله، پس از مخلوط شدن کامل، در شرایط کاملاً استریل و در کنار شعله سریعاً به پلیت‌های مربوطه که از قبل علامت‌گذاری شده بودند، منتقل گردیده و با حرکت آرام، در سطح پلیت پخش گردیدند. مرحله مخلوط کردن و انتقال مواد بر روی پلیت‌های گلوکز حداقل، به دلیل دوام کم سوش‌ها، باید سریع انجام شود.

نگهداری در انکوباتور $^{\circ}C$ ۳۷: پس از سفت شدن تاپ آگار، پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در $^{\circ}C$ ۳۷ انکوبه شدند. کارهایی که در مراحل قبل انجام شد. برای یک رقت و یک سوش انجام شد حال مراحل فوق را برای هر سوش مورد نظر یعنی TA 98 و TA 100 و با هر سه رقت، سه بار تکرار می‌کنیم. بدین ترتیب هر یک از نمونه‌ها توسط دو سوش TA 98 و TA 100 و هر کدام در سه رقت ۳/۲، ۱/۶ ، ۰/۸ میلی‌گرم و هر رقت سه بار مورد آزمایش قرار گرفت.

شمارش کلنی‌های برگشتی: پلیت‌ها را پس از ۴۸ ساعت از انکوباتور $^{\circ}C$ ۳۷ خارج کرده و تعداد کلنی‌های برگشتی شمارش گردید. کلنی‌های پلیت‌های کنترل مثبت و منفی و کنترل آلودگی تاپ آگار، نیز مانند دیگر پلیت‌ها شمارش می‌گردیدند. تعداد کلنی‌های مربوط به هر غلظت از ماده مورد آزمایش و نیز کنترل‌های مثبت و منفی یادداشت شدند و پس از پایان تمامی آزمایش‌ها، با هم جمع و میانگین و انحراف معیار محاسبه گردید.

آنالیز آماری: اطلاعات به دست آمده به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ابتدا آنالیزهای توصیفی برای میانگین و انحراف معیار کلنی‌ها انجام و برای تحلیل روابط و مقایسه گروه‌ها از روش Post Hoc (Bonferoni) استفاده گردید.

نتایج

نتایج به دست آمده از نمونه‌برداری به تفکیک فصول: همان‌طور که در جدول ۱ آمده است، در فصل پاییز تعداد ۲۲ عدد فیلتر به دست آمد و با توجه به این که هر فیلتر به مدت ۲۴ ساعت مورد استفاده قرار گرفت، لذا در مجموع ۵۲۸ ساعت نمونه‌برداری انجام گردید. در مجموع در طی این مدت مقدار ۳۴۵۵۴ متر مکعب هوا، توسط دو دستگاه سمپلر بر روی فیلترها مکش شد. که میانگین آن ۱۵۷۰ متر مکعب در هر روز می‌باشد. به طور متوسط در هر روز ۰/۴۴ گرم ذرات معلق به دست آمد و در مجموع ۹/۸ گرم ذرات معلق در این مدت جمع‌آوری گردید. وزن مواد آلی به دست آمده از نمونه‌های فوق نیز به طور میانگین ۱۶۹ میلی‌گرم در هر روز و در کل ۳۷۱۶ میلی‌گرم بود.

در فصل بهار تعداد ۲۵ عدد فیلتر به‌دست آمد در مجموع ۵۴۲ ساعت نمونه‌برداری انجام گرفت. در این مدت به طور متوسط در هر روز ۱۶۵۱ متر مکعب و در مجموع ۴۱۲۸۵/۵ متر مکعب هوا جمع‌آوری شد. وزن ذرات معلق به دست آمده به طور میانگین در هر روز ۰/۴۳ گرم و در کل ۱۰/۷۸ گرم بود. در این فصل از هر نمونه به طور متوسط ۱۳۲ میلی‌گرم مواد آلی به دست آمد و در مجموع این مقدار به ۳۳۰۳ میلی‌گرم رسید.

در فصل تابستان ۲۹ عدد فیلتر به دست آمد و در مجموع ۶۶۴ ساعت نمونه‌برداری انجام گرفت. در طی این فصل به طور متوسط در هر روز ۱۷۱۹ متر مکعب و در کل ۴۹۸۴۲/۷ متر مکعب هوا جمع‌آوری گردید. میانگین وزن ذرات معلق به دست آمده در هر روز ۰/۴۵ گرم و در مجموع ۱۵/۶۵ گرم بود. وزن مواد آلی به دست آمده نیز به طور متوسط در هر روز ۱۵۹ میلی‌گرم بود که این مقدار در مجموع به ۴۶۲۴ میلی‌گرم رسید.

نتایج کلی به دست آمده نیز به طور متوسط در هر روز ۱۵۹ میلی‌گرم بود که این مقدار در مجموع به ۴۶۳۴ میلی‌گرم رسید. نتایج کلی به دست آمده در هر فصل در جدول ۱ خلاصه شده است. با توجه به وزن ذرات معلق به دست آمده در هر فصل و وزن مواد آلی به دست آمده از آنها، درصد مواد آلی به دست آمده در هر فصل محاسبه و در جدول ۱ درج گردید. همان طور که مشاهده می‌شود درصد مواد آلی به دست آمده در فصل پاییز، بیشتر از فصل بهار و در فصل بهار نیز بیشتر از فصل تابستان می‌باشد. در مجموع هر سه فصل، مقدار ۱۲۵۶۸۲ متر مکعب هوا در طی ۱۷۳۴ ساعت نمونه‌بردای، بر روی ۷۶ عدد فیلتر مکش شد و از این مقدار هوا، ۲۶/۲۳ گرم ذرات معلق و ۱۱/۶۴ گرم مواد آلی به دست آمد.

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

جدول ۱- نتایج حاصل از کل نمونه‌برداری

زمان	تعداد نمونه	مدت نمونه برداری (ساعت)	حجم هوای جمع آوری شده (m^3)	وزن ذرات معلق (g)	وزن مواد آلی (g)	درصد مواد آلی (٪)
پاییز	۲۲	۵۲۸	۳۴۵۵۴	۹/۸۰	۳/۷	۳۷/۸
بهار	۲۵	۵۴۲	۴۱۲۸۵	۱۰/۷۸	۳/۳۰	۳۰/۶
تابستان	۲۹	۶۶۴	۴۹۸۴۳	۱۵/۶۵	۴/۶۲	۲۹/۵

نتایج آزمون‌های انجام شده جهت غلظت‌های مناسب: با توجه به مقادیر مواد آلی به دست آمده و با هدف یافتن غلظت‌هایی که با آن مقادیر سمیت سلولی ظاهر می‌شود، از برخی از نمونه‌های به دست آمده غلظت‌هایی از ۰/۴ تا ۱۲/۸ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میکرولیتر حلال دی متیل سولفوکساید تهیه شد و با دو سوش TA 98 و TA 100 آزمون ایمز انجام گرفت. بعد از انجام آزمون، غلظت‌های ۰/۸، ۱/۶ و ۳/۲ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میکرولیتر حلال، انتخاب گردید. البته تعداد کلنی‌های برگشتی با دو گونه TA98 و TA100 یکسان نبودند ولی از لحاظ نمودار دز- پاسخ هماهنگی داشتند. بدین معنی که با افزایش میزان غلظت مواد آلی، تعداد کلنی‌های برگشتی نیز تقریبا به صورت خطی افزایش می‌یافت. تعداد کلنی‌های برگشتی در غلظت‌های مختلف و متناسب با میزان غلظت مواد آلی مورد آزمون، متغیر است. به طوری که با افزایش میزان غلظت مواد آلی، تعداد کلنی‌های برگشتی نیز افزایش می‌یابد. در ضمن در تکرار آزمون برای یک نمونه و در یک غلظت، تعداد کلنی‌های برگشتی با همدیگر کمی اختلاف دارند. در ضمن میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در هر فصل، همزمان با افزایش میزان غلظت مواد آلی مورد آزمون، افزایش یافته است که این امر همانطور که انتظار می‌رفت منجر به ایجاد منحنی دز- پاسخ مثبت (خط تقریبا مستقیم) شد.

نتایج آزمون ایمز با استفاده از سوش TA 100: در این آزمون تعداد کلنی‌های برگشتی نسبت به سوش TA 98 بیشتر است. در ضمن همانند سوش TA 98 در این سوش نیز تعداد کلنی‌های برگشتی متناسب با میزان غلظت مواد آلی مورد آزمایش متغیر است و برای هر بار آزمون در یک غلظت نیز تعداد کلنی‌های برگشتی یکسان نمی‌باشد.

نتایج میانگین کلنی‌های برگشتی سوش TA 100 به تفکیک فصول: میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در هر فصل، همزمان با افزایش میزان غلظت مواد آلی مورد آزمون، افزایش یافته است که این امر همان‌طور که انتظار می‌رفت منجر به ایجاد منحنی دز- پاسخ مثبت (خط تقریباً مستقیم) شد. اگر در آزمون ایمز، سوش‌های TA 98 و TA 100 مورد استفاد قرار گیرند و حلال‌های کنترل به کار رفته به میزان معمول باشد و ماده مورد آزمایش در سه غلظت، ایجاد منحنی دز- پاسخ مثبت کند و جواب‌ها، ۲ برابر کنترل منفی باشد، جهش‌زایی وجود دارد. با توجه به این مسأله، میانگین کلنی‌های برگشتی در غلظت‌های مختلف و کنترل‌ها به تفکیک فصول، محاسبه و نتایج در جداول ۲ و ۳ درج گردید. جهت محاسبه میزان جهش‌زایی مواد آلی در هر فصل، میانگین تعداد کلنی برگشتی به دست آمده در هر غلظت بر میانگین تعداد کلنی‌های به دست آمده از کنترل منفی تقسیم گردید و تحت عنوان «نسبت موتاژنیسیتی[1]» در جدول ۴ درج گردید. با توجه به این که تعداد کلنی‌های برگشتی در دو سوش TA98 و TA100 بر حسب فصول تفاوت آماری قابل ملاحظه با هم ندارند لذا برای مقایسه MR بر حسب غلظت‌های مختلف از مجموعه داده‌ها در هر سوش استفاده گردید.

جدول ۲- میانگین و «انحراف معیار» تعداد کلنی‌های برگشتی در سوش TA 98

	غلظت‌های مورد آزمون (µl 100 /mg)				
فصل	کنترل منفی	۰/۸	۱/۶	۳/۲	کنترل مثبت
پاییز	۴۳ ±۹	۷۰ ± ۱۰	۸۹ ± ۱۲	۱۲۱ ± ۱۵	۲۱۵ ± ۲۷
بهار	۴۶ ± ۱۱	۷۷ ± ۱۰	۹۲ ± ۱۰	۱۱۶ ± ۱۳	۲۱۳ ± ۲۱
تابستان	۴۸ ± ۱۰	۷۳ ± ۱۲	۹۱ ± ۱۳	۱۱۵ ± ۱۳	۲۲۴ ± ۱۶

جدول ۳- میانگین و«انحراف معیار» تعداد کلنی‌های برگشتی در سوش TA 100

	غلظت‌های مورد آزمون (µl 100 / mg)				
فصل	کنترل منفی	۰/۸	۱/۶	۳/۲	کنترل مثبت
پاییز	۶۵ ± ۱۳	۱۱۲ ± ۲۲	۱۴۷ ± ۱۸	۱۸۹ ± ۲۳	۸۱۲ ± ۱۰۵
بهار	۶۵ ± ۱۲	۱۰۶ ± ۱۲	۱۳۵ ± ۱۴	۱۸۳ ± ۱۵	۸۱۷ ± ۱۱۰
تابستان	۷۱ ± ۱۰	۱۱۰ ± ۱۳	۱۴۵ ± ۱۶	۱۹۳ ± ۱۹	۸۲۸ ± ۹۲

[1] Mutagenicity Ratio (MR)

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

جدول ۴- نسبت موتاژنیسیتی (MR) بر حسب غلظت مورد آزمون در سوش TA98 و TA100

سویه	کنترل منفی	۰/۸	۱/٦	۳/۲
TA98	۱	۱/۶۷(۱/۵۸۳-۱/۷۵۷) p =0.001	۲/۱(۱/۹۷۶-۲/۲۳۲) p=0.001	۲/۸(۲/۵۸-۳/۰۲) p=0.001
TA100	۱	۱/۶۵(۱/۵۴۹-۱/۷۴۲) p =0.001	۲/۱۴(۲/۰۱۵-۲/۲۶۸) p=0.001	۲/۸۳(۲/۶۴-۳/۰۳) p=0.001

MR (Mutagenicity Ratio): حاصل تقسیم میانگین کلنی‌های بازگشتی در غلظت‌های مورد آزمون بر کنترل منفی می‌باشد

همان‌گونه که مشخص است، میزان جهش‌زایی مواد آلی بر روی سوش TA 98 با افزایش غلظت‌های مواد مورد آزمون، افزایش یافته است. این افزایش در فصول مختلف نیز مشاهده می‌شود. به طوری که در غلظت ۰/۸ ، میزان جهش‌زایی در فصل بهار بیشتر است ولی در غلظت‌های ۱/۶ و ۳/۲ این میزان در فصل پاییز بیشتر می‌باشد. در تمام فصول با افزایش غلظت مواد آلی، میزان جهش‌زایی افزایش یافته است. علاوه بر این در تمامی غلظت‌های مورد آزمون، میزان جهش‌زایی در فصل پاییز بیشتر از سایر فصول است به طور کلی با افزایش غلظت مواد آلی، میزان موتاژنیسیتی افزایش یافته است.

بحث

آلودگی هوا، بیشتر از نظر نقشی که در سلامت افراد جامعه به خصوص کودکان و افراد مسن دارد، اهمیت پیدا می‌کند. در جوامع کنونی با وجود پیشرفت تکنولوژی، همچنان مشکل آلودگی هوا، به عنوان یکی از مسایل مهم، مورد توجه قرار گرفته است. همه روزه انسان‌ها با بسیاری از مواد آلاینده خطرناک در تماسند و این مواد از بسیاری جهات برای انسان مضر است. از جمله آلاینده‌های مهمی که توسط محققین مورد توجه قرار گرفته ترکیبات سرطان‌زای محیط می‌باشد، که از جمله مهم‌ترین این ترکیبات، هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک هستند (۲۵).

به لحاظ ارتباط تنگاتنگی که بین جهش‌زایی و سرطان‌زایی وجود دارد، پی بردن به خاصیت جهش‌زایی یک ماده، در پیشگویی سرطان‌زایی آن حایز اهمیت است. روش‌های مختلفی جهت تشخیص آثار جهش‌زایی مواد شیمیایی به کار گرفته شده است که هر کدام دارای معایب و محاسن خاص خود هستند. به طور کلی روشی که قادر باشد تمامی مواد جهش‌زا را نشان دهد، معرفی نشده است. از طرفی نتایج حاصله از آزمون‌های مختلف تشخیص جهش‌زایی را نمی‌توان به طور کلی و صد در صد به انسان‌ها تعمیم داد چرا که انسان دارای سیستم‌های دفاعی و ترمیمی خاص خود می‌باشد (۳۰).

از بین روش‌های معمول در تشخیص جهش‌زایی مواد شیمیایی و به خصوص ترکیبات PAHs، روش جهش برگشتی گونه‌های سالمونلا تیفی موریوم مورد استفاده در آزمون ایمز، یکی از متداول‌ترین و رایج‌ترین این روش‌ها می‌باشد که اکثر محققین از آن استفاده گرده‌اند (۱۲، ۱۵، ۱۹ و ۲۷ -۲۰ و ۳۴ -۳۰). ایمز در سال ۱۹۷۵ تطابق بین سرطان‌زایی در جوندگان و نتایج آزمون‌های جهش‌زایی را به روش جهش برگشتی گونه‌های سالمونلا تیفی موریوم، تا ۹۰٪ گزارش کرد. ولی تحقیقات بعدی، این درصد بالای تطابق آثار جهش‌زایی و سرطان‌زایی مواد را تا این حد نشان نداده است. ایمز در سال ۱۹۸۳ این میزان را تا ۸۳٪ بیان کرده است (۲۹).

مقایسه آزمون‌های مختلف جهش‌زایی نشان داده است که آزمون ایمز نسبت به دیگر آزمون‌ها دارای ویژگی‌های خاصی است که از جمله آنها، حساسیت و اختصاصیت خوب آن می‌باشد. بنابراین با وجود جواب‌های منفی کاذب، آزمون ایمز به عنوان یک روش سرندی که دارای حساسیت و اختصاصیت خوبی است در جستجوی مواد شیمیایی به کار برده شده است. آزمون ایمز یکی روش نیمه کمی است و ملاک‌های ارزیابی نتایج بر پایه اطلاعات قبلی که در مورد این آزمون وجود دارد، استوار است (۲۹).

نتایج آزمایش ژنوتیپ سوش‌ها نشان‌دهنده پایداری جهش‌های انجام گرفته در دو سوش TA 98 و TA 100 است و این بدین معنی است که سوش‌ها قابلیت نشان دادن جهش‌زایی مواد را دارند. میانگین تعداد کلنی‌ها برگشتی سوش TA 98 و TA100 در حد کلنی‌های برگشتی خودبه‌خودی بوده و بنابراین سوش‌ها وابسته به هیستیدین می‌باشند. در طی کلیه مراحل انجام آزمون، آزمایش‌ها تکرار گردیده و نتایج نسبتاً مشابهی به‌دست آمده است بنابراین جواب‌هایی که در نتیجه عملکرد و آزمایش با دو سوش TA 98 و TA 100 به دست آمده، با اطمینان قابل بحث و بررسی است. کنترل‌هایی که با آگار رویی و حلال‌ها از نظر آلودگی میکروبی، همراه آزمون‌ها در هر مرحله انجام گرفت، نشان‌دهنده عدم آلودگی نمونه‌ها در کلیه مراحل بوده و بنابراین هیچ‌گونه اثر منفی در نتایج حاصله از آزمون ایمز نداشتند و بدین‌ترتیب، عوامل احتمالی دخیل در تعداد کلنی‌ها، حذف و تعداد کلنی‌های شمارش شده، ناشی از عملکرد جهش برگشتی مواد آلی مورد آزمون هستند.

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

تحقیقات مختلف نشان داده است که هوای شهری به خصوص در مناطق پر ترافیک، حاوی مواد جهش‌زا و سرطان‌زا از جمله ترکیبات آلی مثل بنزو آلفاپیرن است و علاوه بر این حدود یک دهه است که عصاره بنزنی ذرات هوای شهری، برای پستانداران به عنوان سرطان‌زا شناخته شده‌اند (۱۵ -۱۲، ۱۷، ۱۸، ۲۱، ۲۳، ۳۱، ۳۵). اثرات جهش‌زایی این ترکیبات با روش‌های مختلف بررسی شده و نشان‌دهنده جهش‌زا بودن آنها می‌باشد. در مطالعه حاضر، اثر جهش‌زایی این ترکیبات به طور مستقیم بررسی شده است و نمونه‌برداری‌ها در طی سه فصل پاییز، بهار، تابستان انجام شد، که نتایج به دست آمده شامل: مدت زمان نمونه‌برداری، حجم هوای جمع‌آوری شده، وزن ذرات معلق به دست آمده و وزن مواد آلی به دست آمده می‌باشد.

چون در هر فصل تعداد نمونه‌های به دست آمده متغیر بود و به لحاظ این که مدت زمان نمونه‌برداری و حجم هوای جمع‌آوری شده در هر فصل متفاوت بود لذا جهت بررسی بهتر، از مواد آلی به دست آمده درصدگیری انجام شد و مشخص گردید که درصد مواد آلی به دست آمده از هوا در فصل پاییز با ۳۷/۸٪، بیشترین مقدار و در فصل تابستان با ۲۹/۵٪، کمترین مقدار را دارا می‌باشد.

آدامیاک[6] و همکارانش نیز نشان دادند که میزان مواد آلی موجود در هوا در ماه دسامبر (اواخر پاییز و اوایل زمستان) ۲۶/۳٪ و در ماه آگوست (فصل تابستان) ۱۰/۵٪ است (۲۶). جات‌سزیک[7] در مطالعه‌اش نیز بیان داشت که کاهش مواد آلی در هوا در فصل تابستان احتمالاً به دلیل کاهش مصرف سوخت‌های فسیلی در این فصل می‌باشد. در فصل سرما، مصرف سوخت توسط ماشین ها تا ۱۲٪ افزایش می‌یابد (۳۰). این مسأله یعنی کاهش آلودگی در تابستان و افزایش آن در زمستان در سایر کشورها مثل تایوان، هلند و ایتالیا نیز گزارش شده است (۸، ۲۷، ۳۲).

پُلی[8] و همکارانش در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که در فصل سرما علاوه بر این که مواد آلی موجود در هوا افزایش می‌یابند مقدار مونوکسیدکربن، سرب و اکسیدهای نیتروژن نیز در این فصول افزایش می‌یابد (۱۲). سرنا[9] و همکارانش نیز میزان هیدروکرین‌های حلقوی آروماتیک را در فصل زمستان ۵ برابر بیشتر از تابستان گزارش کرده است ولی در عین حال عنوان نموده است که میزان مشتقات نیتروی این ترکیبات در تابستان بیشتر بوده است و علت آن را نیز به خاطر واکنش‌های فوتوشیمیایی احتمالی هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک و تشکیل مشتقات نیتروی آنها می‌داند (۳۶). بیشتر موتاژن‌ها در برخی غلظت‌ها برای سوش‌های مورد آزمون، توکسیک هستند، بدین معنی که در طیف توکسیک، در تعداد کلنی‌های برگشتی، کاهش مشاهده می‌شود (۲۹). لذا باید جهت اندازه‌گیری جهش زایی یک ماده ابتدا غلظت‌های مختلف آن را به کار برد و غلظتی که در آن به طور ناگهانی، کاهش در کلنی‌های برگشتی به وجود آمد را به عنوان غلظت توکسیک در نظر گرفت. در این غلظت منحنی دز- پاسخ سیر نزولی ناگهانی پیدا می‌کند. برای مطالعه حاضر، با توجه به مطالعات انجام شده قبلی در سایر کشورها، به طور اتفاقی تعدادی از نمونه‌ها جدا شده و غلظت‌های ۱۲/۸ تا ۴/. میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر حلال تهیه شد و آزمون ایمز با آنها انجام گرفت برخی نمونه‌ها با غلظت ۶/۴ اثر توکسیک نشان دادند و برخی نیز با غلظت ۱۲/۸ این اثر را بروز دادند. نمونه‌های اخیر در غلظت ۰/۴، اثر موتاژنیک ضعیفی داشتند. با توجه به موارد فوق و با در نظر گرفتن این که جهت بررسی نتایج جهش‌زایی در این آزمون وجود منحنی دز- پاسخ مثبت برای سه غلظت کافی است لذا غلظت‌های ۰/۸، ۱/۶ و ۳/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر حلال انتخاب شدند. همان‌طور که دیده شد، در هر بار تکرار آزمایش در یک غلظت و در یک نمونه، تعداد کلنی‌های برگشتی متغیر است که این می‌تواند به علل مختلفی باشد. برخی از این علل عبارتند از: مقدار هیستیدینی که به تاپ آگار اضافه می‌شود در مراحل مختلف، ممکن است کمی تغییر کند و کوچک‌ترین تغییر در حد میکرولیتر در این مقدار ممکن است بر روی آزمون و در نتیجه تعداد کلنی‌های برگشتی تأثیر بگذارد؛ هنگام افزودن مواد آلی به محیط تاپ آگار (۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت)، کوچک‌ترین تغییر در این میزان منجر به تغییر در تعداد کلنی‌های برگشتی می‌شود؛ تعداد باکتری‌هایی که به هر پلیت اضافه می‌شوند، نقش مهمی در تعداد کلنی‌های برگشتی دارند. به طوری که افزایش یا کاهش جزیی در مقدار آنها ممکن است منجر به افزایش یا کاهش جهش شود. البته در شرایطی که کشت انجام می‌شود، تعداد باکتری موجود در هر ۱۰۰ میکرولیتر از محیط، حدود ۱۰۶ باکتری خواهد بود ولی به هر حال نمی‌توان با اطمینان گفت که هر ۱۰۰ میکرولیتر از محیط حتما واجد این تعداد باکتری زنده است و ممکن است در هر بار تکرار آزمون، این مقدار کمی تغییر کند و لذا در نتیجه آزمون نیز اثرگذار باشد (البته در کنترل منفی، تعداد باکتری تلقیح شده، اثری در بازگشت‌های خودبه‌خودی ندارد بلکه عامل مؤثر، غلظت هیستیدین موجود درتاپ آگار می‌باشد) (۲۹)؛ چون در این مطالعه مواد آلی به دست آمده را

[6] Adamiak
[7] Jadczyk
[8] Poli
[9] Cerna

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

بدون آن که تجزیه کنیم به طور کلی مورد آزمایش قرار می‌دهیم و با توجه به این که مواد مورد آزمون شامل صدها ترکیب آلی به خصوص هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک مختلف هستند که هر کدام اثر جهش‌زایی متفاوتی دارند، لذا نمی‌توان با اطمینان ذکر کرد که در هر بار تکرار آزمون، دقیقاً همان موادجهش‌زای قبلی وجود داشته‌اند و در نتیجه در تعداد کلنی‌های برگشتی اختلاف جزیی به وجود می‌آید؛ در غلظت‌های مورد آزمون، علاوه بر جهش‌های القاء شده توسط هیدروکربن های حلقوی آروماتیک، جهش‌های خودبه‌خودی نیز رخ داده‌اند و چون میزان این جهش‌ها قابل پیش‌بینی نیستند و به عوامل مختلفی بستگی دارند، لذا در هر بار تکرار آزمون، ممکن است تعداد این جهش‌ها کمتر یا بیشتر شده باشد و لذا نتایج به دست آمده با هم کمی تفاوت دارند. با توجه به دلایل ذکر شده در بالا و با هدف کاهش خطا در نتایج، آزمون برای هر نمونه در هر غلظت سه بار تکرار گشت و نهایتاً میانگین و انحراف معیار نتایج به دست آمده محاسبه و به تفکیک فصول مشخص گردید.

تمام مراحل آزمون ایمز که برای سوش TA98 انجام شد، به طور همزمان توسط سوش TA 100 نیز انجام گرفت. سوش TA 100 به لحاظ برخی تفاوت‌ها با سوش TA 98، قادر به تشخیص جهش‌های جابه‌جایی قالب است (۳۶). به هر حال سوش‌های TA 98 و TA 100 دارای حساسیت بسیار زیادی نسبت به جهش‌زاها بوده و تعداد بیشتری از جهش‌زاها را نشان می‌دهند لذا علاه بر سوش TA 98، آزمون ها با سوش TA 100 نیز انجام شد. با مقایسه نتایج به دست آمده از سوش TA 100 با سوش TA 98 متوجه می‌شویم که تعداد کلنی‌های برگشتی در سوش TA 100 به مراتب بیشتر از TA 98 است.

فلورا[10] و همکارانش نیز در طی مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که سوش TA 100 نسبت به TA 98 در برابر هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک، حساس‌تر است (۳۰). ولی فوکینو[11] و همکارانش و نیز آدامیاک و همکارانش در طی مطالعات جداگانه‌ای نشان دادند که میزان جهش‌زایی TA 98 بیشتر از TA 100 است (۱۶ و ۲۶). از طرف دیگر تعداد کلنی‌های برگشتی کنترل مثبت در سوش TA 100 به مراتب بیشتر از مقدار آن در TA 98 است. این به علت آن است که سوش TA 100 به سدیم آزاید بسیار حساس‌تر است (۲۹). در غلظت‌های ۰/۸ و ۱/۶، میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در فصل پاییز بیشتر است ولی در غلظت ۳/۲ این میزان در فصل تابستان بیشتر است. همان‌طور که قبلا نیز اشاره شد، تنها مقایسه بین میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی نمی‌تواند دلیلی بر جهش‌زایی باشد بلکه باید MR≥ 2 باشد. لذا در این سوش نیز مقدار MR در هر غلظت و در هر فصل به طور جداگانه محاسبه گردید. نتایج نشان می‌دهد که در هر فصل در غلظت‌های ۱/۶ و ۳/۲ جهش‌زایی وجود دارد. علاوه بر این رابطه دز- پاسخ که بر اساس MR رسم شد نیز نشانگر ارتباط مستقیم بین غلظت مواد آلی مورد آزمون و نسبت جهش‌زایی می‌باشد.

در کلیه فصول و تمام نمونه‌ها، سوش TA 100 حجم هوای بیشتری لازم دارد تا جهش پیدا کند. علاوه بر این، مشخص شد که در فصل پاییز با حجم هوای کمتر، جهش‌زایی در هر دو سوش مورد آزمون رخ داده است. به عبارت دیگر هوایی که جهت جهش‌زایی لازم است در پاییز حدود ۱/۵ برابر کمتر از تابستان است و این به معنی آلودگی بیشتر هوا در فصل پاییز است. آدامیاک هم در مطالعه‌اش به این نتیجه رسید که میزان هوای لازم جهت موتاسیون در زمستان ۵ برابر کمتر است (۲۶).

نتیجه‌گیری

با وجود یکسان بودن تقریبی میانگین وزن ذرات جمع‌آوری شده در فصل بهار و پاییز، میزان مواد آلی به دست‌آمده در پاییز بیشتر بود. افزایش مواد آلی در فصل سرما، احتمالاً به خاطر مصرف سوخت‌های فسیلی است. در اکثر نمونه‌ها با افزایش غلظت مواد آلی مورد آزمون، تعداد کلنی‌های برگشتی نیز به طور متوسط افزایش می‌یافت. تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل مثبت نیز از تعداد کلنی‌های برگشتی در آخرین غلظت مورد آزمون، بیشتر بود. سوش TA 100 نسبت به سوش TA 98 نسبت به سدیم آزاید (کنترل مثبت) حساس‌تر بود. میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در TA 100 بیشتر بود. حجم هوای لازم جهت ایجاد جهش در فصل پاییز کمتر است یعنی آلودگی در این فصل بیشتر است(حدود ۱/۵ برابر). مقایسه نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات در کشورهای دیگر، نشان می‌دهد که در برخی موارد میزان جهش‌زایی آلاینده‌های هوای تهران بیشتر از این کشورها بوده و این می‌تواند برای مسؤولین زنگ خطری باشد تا جهت کاهش میزان آلودگی هوا به خصوص در شهر تهران، تلاش بیشتری نمایند.

پیشنهادات

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و به منظور تکمیل آزمایشات و به دست آوردن نتایج کامل‌تر، موارد زیر پیشنهاد می‌گردد. در مطالعات بعدی عمل فیلتراسیون در نقاط مختلف

[10] Flora
[11] Fukino

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

شهر انجام گیرد تا امکان مقایسه بین مناطق مختلف فراهم شود. مواد آلی به دست آمده از فیلترها آنالیز شوند و هر یک به طور جداگانه از لحاظ جهش‌زایی مورد بررسی قرار گیرند. در بررسی جهش‌زایی، از روش‌های مختلف جهش‌زایی استفاده گردد تا امکان مقایسه بین نتایج به دست آمده وجود داشته باشد. بعد از این که مواد مورد آزمایش با این روش (و یا سایر روش‌ها) جهش زا نشان داده شدند جهت بررسی اثر سرطان‌زایی نیز مورد آزمون قرار گیرند. در خصوص راه کارهای از بین بردن یا کم کردن این ترکیبات از محیط زیست و هوا، تحقیق و بررسی بیشتری انجام گیرد.در شهرهای دیگر نیز این بررسی انجام گیرد و رابطه آن با بروز برخی بیماری‌ها از جمله سرطان ریه در این شهرها نسبت به تهران و یا سایر شهرهای آلوده بررسی شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از راهنمایی‌ها و کمک‌های ارزنده جناب آقای دکتر محمود شریعت، دکتر محمد حسن شیرازی ،دکتر کیومرث قاضی سعید و دکتر ناصر بادامی (اعضای هیأت علمی گروه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت) و همین‌طور دکتر کورش کمالی که زحمات کارهای تکمیلی آماری را متقبل شدند سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

References

1- Binkova B, Besely D, Vesela D, et al. Genotoxicity and embryotoxicity of urban air particulate matter collected during winter and summer period in two different districts of the Czech republic. Mut. Res. 1999; 440: 45- 58.
2- Cheng YW, Lee WW, Li CH, et al. Genotoxicity of Motorcycle Exhaust Particles *in vivo* and *in vitro*. Toxicol Sciences. 2004; 81: 103- 111.
3- Seagrave JC, McDonald JD, Gigliotti AP, et al. Mutagenicity and in vivo toxicity of cobmbined particulate and semivolatile organic Fractions of Gasoline and Diesel Engine Emissions. Toxicol Sciences. 2002; 70: 212- 226.
4- Seagrave JC, Gigliotti A, McDonald JD, et al. Composition, toxicity, and mutagenicity of particulate and semivolatile cmissions From Heavy- Duty compressed natural Gas-fowered vehicles. Toxicol Sciences. 2005;87 (1): 232- 241.
5- Vineis P, furiainen KH. Air pollution and cancer. Carcinogenesis. 2005; 26 (11): 1846- 1855.
6- Demarini DM, Brooks LR, Warren SH, et al. Bioassay-Directed Fractionation and *Salmonella* mutagenicity of automobile and Forklift Diesel exhaust particles. Environ Health perspect 2004; 112 (8): 814- 819.
7- Pleil JD, Vette AF, Johnson BA, et al. Air levels of carcinogenic foycyclic aromatic hydrocarbons after the world Erade center disaster. PNAS 2004; 101 (32): 11685-11688.
8- Barale R, Giromini L, Ghelardini G, et al. Correlation between 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and the mutagenicity of the total PAH fraction in ambient air particles in La Spezia (Italy). Mut. Res. 1991; 249: 227-241.
9- Hayakawa K, Kawaguchi Y, Murahashi T, et al. Distributions of nitropyrenes and mutagenicity in airborne particulates collected with an Andersen sampler. Mut. Res.1995;348: 57-61.
10- Upton M, Jaeda MI, Upton C. Novel 5, 8 Diazabenzo [c] phenanthrenes: synthesis and mutagenicity. J Pharm Pharmacol. 1998; 50: 475-482.
11- Zhou W, Ye S. Activation of cellular oncogenes in human diploid cell starin (KMB– 13) cells by scooter exhaust particulate matter emissions. J Toxicol. Environ. Health. 1998; 55: 307- 316.
12- Buger J, Krahl J, Baum K, et al. Cytotoxic and mutagenic effects, particle size and concentration analysis of diesel engine using biodiesel and petrol diesel as fuel. Arch Toxicol. 2000; 74: 490- 498.
13- Bunger J, Krahl J, Frank HU, et al. Mutagenicity and cytotoxic effects of exhaust particulate matter of biodiesel compared to fossil diesel fuel. Mut. Res. 1998; 415: 13-23.
14- Cerna M, Pastorkova A, Vrbikova V, et al. Mutagenicity monitoring of airborne particulate matter (PM10) in the Czech Republic. Mut. Res. 1999; 444: 373-386.
15- Grebelli R, Fuselli S, Meneguz A, et al. *In vitro* and *in vivo* mutagenicity studies with airborne particulate extracts. Mut. Res. 1988; 204: 565-575.
16- Fukino H, Mimura S, Inoue K, et al . Mutagenicity of airborne particles. Mut. Res. 1982; 102: 237-247.
17- Hemminki K, Veidebaum T. Environmental pollution and human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in the east Baltic region. Scand. J. Work Environ. Health. 1999; 25(30): 33- 39.
18- Martinis BS, Kado NK, Carvalho LR F, et al. Genotoxicity of fractionated organic material in airborne particles from sao paoulo. Brazil. Mut. Res. 1999; 446: 83-94.
19- Monarca S, Feretti D, Zanardini A, et al. Monitoring of mutagens in urban air samples. Mut. Res. 1999; 426: 189-192.
20- Monarca S, Zanardini A, Feretti D, et al. Mutagenicity and clastogenicity of gas stove emissions in bacterial and plant tests. Environ. Mol. Mut. 1998; 31: 402- 408.
21- Morozzi G, Conti R, Pampanella L, et al. Chemical analysis and biological activity of airborne particulate matter. J Environ. Path Toxicol. Oncology. 1997; 16 (2&3): 133- 146
22- Ohsawa M, Ochi T, Hayashi H, et al. Mutagenicity on *Salmonella typhimurium* mutants of serum extracts from airborne particulates. Mut. Res. 1983; 116: 83- 90.
23- Poli P, Buschini A, Campanini N, et al. Urban air pollution: use of different mutagenicity assay to evaluate environmental genetic hazard. Mut. Res. 1992; 298: 113-123.
24- Rosenkranz HS. Direct- acting mutagens in diesel echaust: magnitude of the problem Mut. Res. 1982; 101: 1- 10.
25- Perkins H. Air contamination. Translated by Ghiaseddin M. 1st edition.University of Tehran Press. 1997: 1-50.
26- Adamiak WJ. Application of *Salmonella* strains with altered nitroreductase and o-acetyltransferase activities to

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]

the evaluation of the mutagenicity of airborne particles. Acta Microbiol polonica. 1999; 48 (2): 131- 140 .
27- Al- Khodairy F, Hannan MA. Exposure of organic extracts of air particulates to sunlight leads to metabolic activation independence for mutagenicity . Mut. Res. 1997; 391: 71- 77.
28- Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mut. Res. 1983; 113: 173- 212 .
29- Asad MT. Basic genetics. Second edition. Donya Press. 1993: 200-250.
30- Shahin MA. Evaluation of mutagenicity effects of food additives: sodium nitrate,uric acid and derivatives. Toxicology Ms. Dissertation Degree. By guidance of Javadi I. Hojjati Z. 1996, Esfahan University of Medical Sciences, Faculty of Pharmacology.
31- Ames B, Lee F, and durston M. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. Proc. Natl. Sci. USA. 1973; 70: 782- 86.
32- Baranski b, Palus J, Rogaezewska T, et al. Correlation between polycyclic aromatic hydrocarbons concentration and airborne particle mutagenicity in the rubber factory Polish. J Occupational Med. Environ. Health. 1992; 5 (4): 357- 362.
33- Jadczyk P, Kucharczyk J. Seasonal variability of the mutagenicity of airborne particles for Salmonella typhimurium TA 98 and Saccharomyces cervisiae XV185-14C. Environ Protection Engineering 2000; 26 (1-2): 89-102.
34- Kok TM, Maanen M. Evaluation of fecal mutagenicity and colorectal cancer risk. Mut Res 1999; 463: 53- 101.
35- Cocco P. Multifactrorial etiology of lung cancer among silica- exposed workers. Ann Acad Med. Singapore 2001; 468 474.
36- Chrisp CE, Fisher GL. Mutagenicity of airborne paricles. Mut. Res 1980; 79: 143- 164.

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-01-22]