

● مقاله تحقیقی کد مقاله: ۰۲۱

بررسی تست سرطان‌زایی (Ames assay) در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی تهران و مقایسه آن با آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه: سرطان یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در دنیا بوده و یکی از اصلی‌ترین عوامل ایجاد سرطان مواد جهش‌زا می‌باشند (حدود ۹۰٪ موتاژن‌ها سرطان‌زا هستند). بنابراین تکنسین‌های آزمایشگاهی که در طولانی مدت در تماس با آلاینده‌های جهش‌زا مانند بنزن، فرمالدئید و گزایلازین می‌باشند ممکن است در خطر ابتلاء به سرطان قرار داشته باشند. نتایج مطالعات قبلی آزمون جهش‌زایی بر روی نمونه تکنسین‌های آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی حضور عوامل موتاژنیک را مسجل ساخت. و به این ترتیب ارزیابی میزان جهش‌زایی بر روی نمونه‌های ادرار تکنسین‌های آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی مد نظر قرار گرفت.

روش کار: جهت دسترسی به حداکثر میزان آلاینده، نمونه ادرار کلیه پرسنل آزمایشگاه در پایان هفته کاری جمع‌آوری گردید. بعد از جمع‌آوری نمونه‌ها، توسط ستون‌های C18 عمل استخراج انجام گرفته و سپس با استفاده از دو مدل همراه و بدون سیستم فعال‌ساز متابولیسم و به وسیله سوش‌های TA100 و TA98 که جزء سوش‌های استاندارد در آزمون Ames می‌باشند مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: در مطالعه فوق در مجموع نتایج مثبت سرطان‌زایی با استفاده از سوش‌های TA98 همراه با اکتیویاتور در دو مورد با ضریب سمیت و سرطان‌زایی نسبتاً بالا، متعلق به آزمایشگاه پاتولوژی بدست آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از آزمون سرطان‌زایی با استفاده از سوش TA98 همراه با فعال‌کننده متابولیسم مثبت بوده و به این ترتیب احتمال ریسک ابتلاء به سرطان در بخش پاتولوژی آزمایشگاه پزشکی قانونی همانند آزمایشگاه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران وجود دارد. نتیجه مثبت کاذب با توجه به عدم استعمال دخانیات و نبودن عوامل مداخله‌گر در کیس‌های مطرحه به احتمال بسیار زیاد منتفی می‌باشد.

واژگان کلیدی: آزمون سرطان‌زایی، تست Ames، پزشکی قانون، آزمایشگاه پاتولوژی

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۱۲

تاریخ اصلاح نهایی: ۸۷/۹/۱۱

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۵/۶



علیرضا پرتوآذر ۱*

دکتر محمد حسن عابدی ۲

دکتر محمود قاضی خوانساری ۳

مجیدرضا بصیری ۴

مهدی کاویانی ۵

۱. هیأت علمی گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. متخصص پزشکی قانونی
۳. استاد گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. کارشناسی ارشد سم‌شناسی گروه فارماکولوژی
۵. کارشناس زیست‌شناسی سازمان پزشکی قانونی

* نشانی نویسنده مسؤول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان پورسینا، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (گروه فارماکولوژی)

تلفن تماس:

۰۹۱۲۶۰۶۶۳۵۶ و ۶۶۴۰۲۵۶۹

نشانی الکترونیکی:

partoazar@yahoo.com

مقدمه

سپس در مرحله بعد از متد فعال‌سازی متابولیسم (سیستم اکتیویاتور) بهره گرفته شد. در این آزمایشات از کنترل مثبت و منفی برای مقایسه و بررسی هر چه دقیق‌تر آزمایشات استفاده گردید. سدیم آزاید و آمینو انتراسن به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به همراه نمونه‌های پرسنل غیر مرتبط با کار آزمایشگاه به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

از آنجایی که در طراحی آزمون Ames در ناحیه ژنوم تولید هیستیدین باکتریهای سالمونلا تغییراتی ایجاد نموده‌اند این سوش‌ها در محیط بدون هیستیدین قادر به رشد نمی‌باشند و در صورتی که ماده‌ای جهش‌زا باشد باعث ترمیم نقص به وجود آمده در آن ژن خاص شده و در نتیجه به علت به دست آوردن توانایی تولید مجدد هیستیدین، سوش‌ها قادر به رشد و تکثیر می‌شوند. در این آزمون افزایش تعداد کلنی‌ها در محیط کشت نسبت به نمونه کنترل منفی نشانه مثبت بودن تست خواهد بود [۱].

برای انجام آزمایش ابتدا سوش‌ها را در محیط کشت نوترینت برات اکساید غنی‌سازی نموده، سپس همراه نمونه در تاپ آگارو محیط کشت حداقل گلوکز یا GM آگار در انکوباتور 37°C به مدت ۲۲-۴۸ ساعت قرار داده و پس از زمان یاد شده پلیت‌ها را برای شمارش کلنی‌های برگشتی بررسی می‌کنیم.

همچنین تمامی مراحل فوق برای انجام آزمایش سیستم اکتیویاتور با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر بافر S9 به مخلوط قبلی انجام می‌پذیرد. در این روش با استفاده از فنوباربتال سیستم آنزیمی میکروزومال موش را القا کرده و پس از یک هفته از طریق جراحی کبد حیوان را هموژنایز نموده و طی روند خاصی آنزیم‌های آن جدا سازی می‌گردد. در آزمون AMES نتایج از کسر تعداد کلنی‌های برگشتی نمونه به تعداد کلنی‌های برگشتی نمونه کنترل منفی به دست می‌آید (Ratio). در این تست نمونه‌ای مثبت تلقی می‌گردد که Ratio آن بیشتر از ۲ fold باشد [۱ و ۳].

در اتمام کار نتایج حاصله با توجه به معیار و فرمول رایج آن به شرح زیر آنالیز شدند.

$$\text{Ratio} = \frac{\text{تعداد کلنی‌های نمونه تست}}{\text{تعداد کلنی‌های نمونه کنترل منفی}}$$

تست مثبت: Ratio < ۲

تست منفی: Ratio > ۲

ترکیبات فراوانی وجود دارند که می‌توانند روی DNA اثر کرده و منجر به تغییراتی در مولکول DNA شده و نهایتاً ایجاد جهش‌زایی و کار سبوتونیسته بنمایند (حدود ۹۰٪ مواد جهش‌زا سرطان‌زا نیز هستند). این ترکیبات روزه‌روز در حال افزایش بوده و در محیط زندگی و محل کار به شکل آلاینده‌های مختلفی مشاهده و ثبت می‌گردند برخی از این ترکیبات پس از جذب در بدن تا حدودی قابل دفع بوده و برخی به متابولیت‌هایی در بدن تبدیل شده که می‌توانند به بازهای آلی ساختمان مولکول DNA سلول‌ها متصل و به اشکال مختلف ایجاد موتاسیون بنمایند [۲ و ۱].

آزمایش Ames اولین بار توسط پروفیسور Ames B بر روی ژنوم باکتری سالمونلاتیفی موریوم در اواخر دهه شصت میلادی پایه‌گذاری شد و توسط آن ترکیبات شیمیایی جهش‌زا مورد تشخیص و غربالگری قرار گرفتند و از اوایل دهه هفتاد میلادی مورد قبول رسمی آژانس‌ها و سازمان‌های نظارتی امریکا جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی جهش‌زا واقع گردید [۱]. امروزه از تست Ames به عنوان یک تست حساس (حساسیت حدود ۹۰٪) و قابل قبول برای تعیین سرطان‌زایی مواد شیمیایی، دارویی، صنعتی و غیره استفاده می‌گردد. طی مطالعه‌ای از آزمون Ames در بررسی تست سرطان‌زایی نمونه‌های ادرار تکنسین‌های آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد استفاده قرار گرفت که در آن مطالعه حدود ۸٪ جهش‌زایی مثبت گزارش گردید [۳].

مواد و روش‌ها

مطالعه به صورت case series در بررسی تست سرطان‌زایی بر روی ۵۷ نمونه ادرار پرسنل (آزمایشگاهی و غیرآزمایشگاهی) آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی تهران ارسالی به گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، در طی سال ۱۳۸۶ صورت پذیرفت. نمونه‌گیری در آخر هفته کاری جهت دسترسی به حداکثر غلظت آلاینده در بدن انجام گردید. سپس با استفاده از ستون C18 شرکت واترز ساخت کشور آمریکا از نمونه‌ها عصاره‌گیری به عمل آمد در مرحله اول بدون به کارگیری سیستم اکتیویاتور از دوسوش سالمونلا تایفی موریوم TA100 و TA98 که از سوش‌های روتین و مطرح در آزمون ایمز می‌باشد استفاده گردید.

گزیلازین، فرم آلدیید، بنزن و دیگر ترکیبات سرطان‌زا به میزان قابل توجه مصرف می‌گردد.

در این بین با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون تست سرطان‌زایی و میزان تماس افراد با ترکیبات سرطان‌زا، کارکنان بخش پاتولوژی آسیب‌پذیرتر و ریسک‌پذیرتر از بقیه گروه‌ها به نظر می‌رسند مخصوصاً که به علت فرار بودن بعضی از این ترکیبات و نتیجه استنشاق آنها ورود این مواد به بدن سهل‌تر خواهد بود.

در مطالعه‌ای که توسط بصیری و همکاران در سال ۱۳۸۴ در بررسی آزمون جهش‌زایی بر روی نمونه ادرار تکنسین‌های آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید نتایج مثبت جهش‌زایی ثبت گردید [۳].

در هر دو مطالعه در مقایسه دو مدل همراه و بدون اکتیویاتور از لحاظ نشان دادن میزان جهش‌زایی می‌توان گفت که استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسم برای شناسایی مواد جهش‌زا مفید مؤثر بوده و به این ترتیب این مواد در زمره مواد پیش جهش‌زا قرار می‌گیرند. پیش جهش‌زاهای هاستند که فی‌نفسه موتاژن نیستند ولی توسط سیستم متابولیسم انسانی جهش‌زا می‌گردند. از جمله این مواد می‌توان به گزیلول اشاره کرد که متابولیت آن 2,6-xylylidine به عنوان ماده کارسینوژن شناخته شده است [۸ و ۷]. طولانی بودن مدت زمان کار در این بخش‌ها و عدم استفاده از هود از عوامل مؤثر در بالا بودن ایندکس سرطان‌زایی محسوب می‌گردد.

لازم به ذکر است که استعمال دخانیات و یا حضور دیگر عوامل مداخله‌گر در تست‌های جهش‌زایی جهت جلوگیری از تست مثبت کاذب مد نظر قرار داده شد [۹].

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از آزمون سرطان‌زایی و مشاهده جهش‌زایی، می‌توان گفت که ریسک ابتلاء به سرطان در بخش پاتولوژی پزشکی قانونی و بعضی از آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران در طی مطالعات انجام گرفته وجود داشته است.

عدم استفاده از هود با توجه به فرار بودن سموم موجود در این آزمایشگاه ممکن است یکی از عوامل اصلی حضور عوامل سرطان‌زا در این افراد باشد. همچنین با توجه به یک مورد نمونه مشکوک در بخش تشریح، استفاده از طریق متدهای تکمیلی در بررسی هر چه بیشتر این آزمون ممکن است مفید واقع گردد.

پیشنهادات:

۱- تمهیداتی از قبیل کم کردن ساعات کار در بخش‌های پر ریسک و دوره‌ای کردن بخش کاری پرسنل باید مد نظر قرار گیرد. همچنین

یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه در این سری از آزمایشات کارکنان بخش‌های مختلف آزمایشگاه پزشکی قانونی تهران بودند که طی هماهنگی قبلی نمونه ادرار آخر هفته آنها جمع‌آوری و همراه پرسش‌نامه مربوطه به مرکز تحقیقات دانشکده پزشکی تهران (گروه فارماکولوژی) ارسال گردید.

بحث

موتاسیون از ۲ جنبه در انسان مورد توجه می‌باشد. موتاسیون در جرم سل‌ها شامل Precursors, Eggs و Sperms (سلول‌های پیش‌ساز وزایا) می‌باشند که هر نوع تغییر در ساختار کروموزومی آنها می‌تواند باعث افزایش شیوع بیماری ژنتیکی در نسل‌های بعدی شود همچنین موتاسیون در سلول‌های سوماتیک باعث بروز ناهنجاری‌هایی مثل سرطان می‌شود [۲].

بسیاری از جهش‌های ایجاد شده توسط مکانیسم‌های مختلف سلولی بر طرف می‌شوند از طرفی بسیاری از موتاسیون‌ها ممکن است در نقاطی از ژن رخ دهد که از لحاظ آسیب‌شناسی در بیان ژن جزو مناطق خنثی شناخته شده‌اند (اینترون‌ها) و تأثیری در سلامت افراد نداشته باشند و یا اینکه ممکن است در ژن‌هایی موتاسیون رخ دهد که در آینده منجر به بروز ژن‌های سودمند شوند (پسودوژن‌ها) [۴]. بنابراین با داشتن ایندکس ضریب موتاژن‌زایی زمان و میزان وقوع سرطان را نمی‌توان مشخص کرد. ولی در شرایطی ممکن است که میزان جهش‌زایی آنقدر باشد که سیستم ترمیمی از لحاظ عملکرد به اصطلاح اشباع شده باشد و یا اینکه ژن سیستم ترمیمی خود دچار موتاسیون شده باشد در نتیجه در عملکرد آن اختلال ایجاد گردیده و در آنصورت ریسک ابتلاء به سرطان بالا خواهد رفت [۴ و ۲].

استفاده از آزمون سرطان‌زایی به عنوان یک سیستم بیومانی‌تورینگ در مناطق پرریسک در شناسایی و پیشگیری از سرطان در جمعیت‌ها مفید می‌باشد. این امر در استفاده از نمونه ادرار در ارزیابی و پیشگیری سلامت محیط‌های کاری در تماس با مواد مضر قویاً توصیه شده است [۵]. این مواد عمدتاً شامل هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای، PHA (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon) می‌باشند که به عنوان مواد آلوده‌کننده محیط زیست مطرح هستند گاه‌ها این مواد و یا متابولیت‌هایشان می‌توانند سرطان‌زا باشند. از جمله این مواد می‌توان به گزیلول، بنزن و پارافین (بخارات آن) اشاره داشت [۶ و ۵]. در بررسی‌های به عمل آمده در این مطالعه مشخص گردید بعضاً در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی موادی از جمله

۳- با توجه به حضور عوامل سرطان‌زا در این محیط‌ها و اهمیت در پیشگیری بیماری سرطان، استفاده از یک سیستم بیو مانی‌تورینگ برای غربالگری به شکل دوره‌ایی ضروری به نظر می‌رسد.

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها، شیر و مایعات به میزان زیاد در طول روز در جهت کم کردن میزان سمیت ترکیبات شیمیایی مفید خواهد بود. ۲- استفاده از سیستم‌های تهویه مناسب و وسایل حفاظتی مانند ماسک و دستکش در محیط‌های پر ریسک در به حداقل رسانیدن نفوذ این مواد به افراد مؤثر خواهد بود.

مراجع

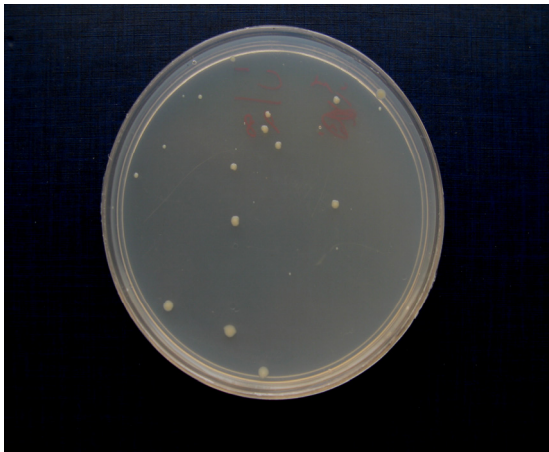
- 1- Mortelman K, Erol Z. The Ames Salmonella / microsome mutagenicity assay. USA mutation research 2000; 45:29-60.
- 2- Curtis D, Casarett and Doulls Toxicology, Toxicogenetic 2001; chapter 9, pp321.
- 3- M. Rezai-Basiri, M. Samini *, M. Ghazi- Khansari, M. Rezayat, M. Sahebgharani, A. Partoazar, Monitoring Ames assay on urine of clinical pathology laboratories technicians. J Pharmacology and Toxicology 2008;3:230-235.
- 4- A .Majd, M. Shariat zadeh. zistshenasi cellular and molecular. 8th edited. aij, Tehran, Iran. 1386;588-592. (Persian)
- 5- TON-Sleigh and R.Forster Sukumar, S., Notario, V., Martin Zanca, D. Drugs, poisons & controlled substances (INCL. CARCINOGENS and Barbacid Bacterial Mutation assays using Reverse mutation (Chapter 3) Nature 1983; 306, 658.
- 6- Erol Z, Beth Anderson, Steve H.Salmonella Mutagenicity test: IV. Results from the testing of 300 chemicals. envviromental and molecular mutagenesis 1988;vol11.12:1-158.
- 7- TON-Sleigh and R.Forster Sukumar, S., Notario, V., Martin Zanca, D. Drugs, poisons & controlled substances (INCL. CARCINOGENS and Barbacid Bacterial Mutation assays using Reverse mutation (Chapter 3) Nature 1983; 306, 658.
- 8- Bernard C. K. Choia, , John G. Connollyb and Rosa H. Zhoua, Application of urinary mutagen testing to detect workplace hazardous exposure and bladder cancer, Mutation Research/ Genetic Toxicology 1995 ; Volume 341, Issue 3, Pages 207-216, January.
- 9- Chamberlain .Brynes. The regulatory status of xylazine for use in food-producing animals in the United States .Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 1998; 21 (4), 322-329.
- 10- J. Doolittlec, C. A. Rahnc, G. T. Burgerc, R. Davisc, J. D. deBethizyc, G. Howarda, C. K. Leec, S. C. McKarnsc, E. Ricciob, J. Robinsonc, J. Reynoldsc and A. W. Hayes Human urine mutagenicity study comparing cigarettes which burn or only heat tobacco, Mutation Research/Genetic Toxicolog 1989; Volume 223, Issue 2, June, Pages 221-232.

جدول شماره ۱: تابلوی مشاهدات مربوط به نمونه‌های مثبت						
نمونه	جنس	شغل	آزمایشگاه مورد مطالعه	مواد جهش‌زای مصرفی در آزمایشگاه	میزان فعالیت و حضور در آزمایشگاه	عوامل تأثیرگذار در آزمایش
۱	مرد	خدمتکار	پاتولوژی	بنزن، فرمالدئید، گزایلازین	طول ساعت کار در تمام هفته	مشاهده نگردید
۲	زن	کارشناس	پاتولوژی	بنزن، فرمالدئید، گزایلازین	طول ساعت کار در تمام هفته	مشاهده نگردید
۳	مرد	تکنسین	تشریح	فرمالدئید	طول ساعت کار در ۲ روز هفته	مشاهده نگردید

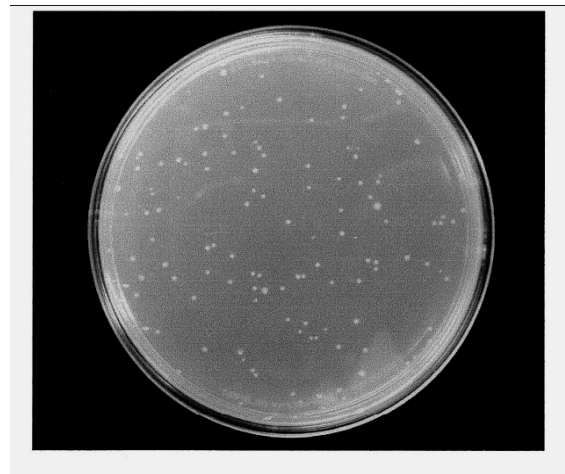
جدول شماره ۲: نتایج آزمون تست سرطانزایی نمونه‌های مثبت و مشکوک کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی همراه و بدون استفاده از اکتیوینور (With and Without S9)				
نمونه	شمارش کلنیسوش TA98		Ratio Of TA98	
	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز
۱	۵۵	~ ۵۵۰	۲/۲ **	~ ۲۰ **
۲	۳۰	۳۴۰	۱/۲	۱۵ **
۳	۳۱	۴۱	۱/۲۴	۸/۱ *
میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (بدون سیستم فعال‌ساز): ۲۵				
میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (همراه با سیستم فعال‌ساز): ۲۲				
*: نتیجه مشکوک				
**: نتیجه مثبت				

جدول شماره ۳: نتایج آزمون تست جهش‌زایی نمونه‌های مثبت و مشکوک کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی با سوش‌های TA100 همراه و بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسم رده سلولی S9 کبد موش (With and Without S9)				
نمونه	شمارش کلنیسوش TA100		Ratio Of TA100	
	همراه با سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز
۱ *	۹۵	۱ *	۱/۲۶	۱
۲ *	۷۸	۲ *	۱/۰۴	۱
۳ *	۷۴	۳ *	۰/۸۹	۰/۸۹
میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (بدون سیستم فعال‌ساز): ۷۵				
میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (همراه با سیستم فعال‌ساز): ۹۵				
۱ و ۲: نمونه‌های مربوط به پرسنل بخش پاتولوژی				
۳: نمونه مربوط به یکی از پرسنل بخش تشریح				

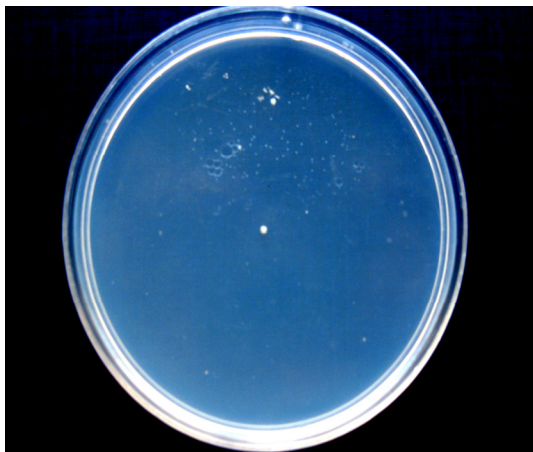
در مرحله اول آزمایشات موتازنیستی بدون استفاده از سیستم متابولیک اکتیویاتور صورت گرفت. در این مرحله از آزمون تست AMES نمونه شماره ۱ در رقت‌های ۱/۱ و ۱/۱۰ توکسیک بوده و مانع از رشد سوش‌های میکروبی نمود. همین نمونه با سوش TA100 و در رقت ۱/۱۰۰ و Ratio:1.26 و با سوش TA98 با همین رقت Ratio:2.5 را نشان داد که با توجه به رقیق‌سازی نمونه، سمیت و جهش‌زایی نسبی نمونه فوق مشهود می‌باشد. همین نمونه در مرحله بعد با استفاده از سیستم اکتیویاتور در رقت ۱/۱۰۰ با Ratio:>20 نشان‌دهنده جهش‌زایی و سمیت آن می‌باشد (جدول شماره ۲).



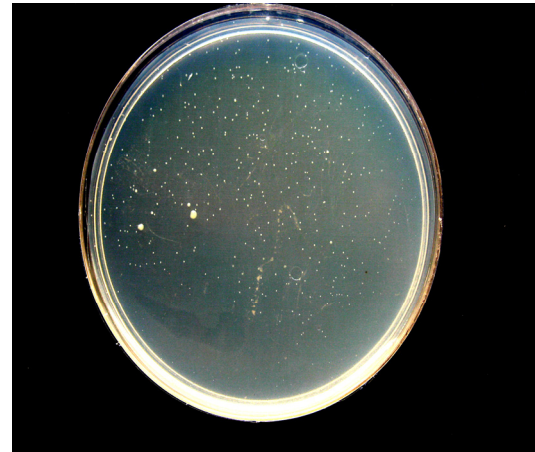
نمونه منفی تست با سوش TA100



نمونه منفی تست با سوش TA98



تست مثبت مربوط به نمونه شماره ۱ با شمارش سلولی بالای ۵۰۰ کلنی در پلیت (رقت ۱/۱۰۰)



تست مثبت مربوط به نمونه شماره ۲ با شمارش سلولی حدود ۴۰۰ کلنی در پلیت (رقت ۱/۵۰)

شکل شماره ۱: پلیت‌های نمونه‌های مثبت و کنترل‌های انکوبه شده در ۳۷ درجه سانتیگراد طی ۴۸ ساعت

در نمونه شماره ۲ نیز با استفاده از سوش TA98 و همراه با سیستم اکتیویاتور در رقت ۱/۵۰ با Ratio ~15 سمیت و جهش‌زایی مشاهده می‌گردد. این نمونه نیز متعلق به خدمتکار آن بخش می‌باشد که در طول هفته و به مدت طولانی در معرض مواد سرطان‌زا بوده است (جدول شماره ۱).

همچنین نمونه شماره ۳ متعلق به پرسنل بخش تشریح بوده که با توجه به میزان Ratio:1/85 با استفاده از سیستم اکتیویتور می‌توان به مشکوک بودن جهش‌زایی نمونه اشاره داشت (جدول شماره ۲). استفاده از فرمالدئید به میزان بالا در این بخش از لحاظ سرطان‌زایی حائز اهمیت می‌باشد. ضمن اینکه جهت جلوگیری از نتایج مثبت کاذب در این آزمون‌ها بیوگرافی افراد از نظر استعمال دخانیات و دیگر عوامل مداخله‌گر مشخص گردید (جدول شماره ۱).

* : نمونه‌های موتاژن

نمودار شماره ۱: نتایج کلنی‌های برگشتی یکی از آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران همراه با کنترل مثبت (NaN₃ = سدیم آزاید و AA=2۲- آمینوآنتراسن) و کنترل منفی (D.W = آب مقطر) مطالعات انجام شده در ۴ آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران که بر روی نمونه‌های تک‌نسب‌ها انجام گردید از لحاظ آماری نتایج معنی‌داری ارائه داد. در این سری از مطالعات حدود ۲۰ درصد از جمعیت ۴۰ نفری این آزمایشگاه‌ها در ریسک ابتلا به سرطان قرار داشتند. این نتایج با استفاده از روش ANOVA یک‌طرفه با $P < 0.001$ حاصل گردید نمودار شماره ۱ مربوط به نتایج حاصل از آزمون Ames در یکی از آزمایشگاه‌های فوق می‌باشد.

