

С. Н. Храмцова, Г. И. Потапова, Т. И. Сухова,
Н. М. Миронов, Г. И. Губина, О. Н. Горбунов,
А. А. Клименков, В. Н. Горбунов, Д. Г. Заридзе

ИНДУЦИРОВАННЫЕ КАНЦЕРОГЕНАМИ АДДУКТЫ ДНК И *HELICOBACTER PYLORI*-ИНФЕКЦИЯ КАК ФАКТОРЫ РИСКА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДКА У БОЛЬНЫХ МОСКОВСКОГО РЕГИОНА

НИИ канцерогенеза, НИИ клинической онкологии,
ММА им. И. М. Сеченова, Международное агентство
исследования рака, Лион, Франция

Карцинома желудка — одна из широко распространенных локализаций опухолей, занимающая 2-е место в общей структуре онкологических заболеваний в мире [5]. Появлению опухоли, как правило, предшествует ряд морфологических изменений слизистой оболочки включающих: воспаление (хронический гастрит), атрофию, потерю клеточной дифференцировки [3]. В этиологии хронического атрофического гастрита антрального отдела ведущая роль отводится *Helicobacter pylori*-инфекции [7], расцениваемой в последние годы как фактор риска в развитии аденокарциномы желудка [4, 9]. Предполагается, что после стадии атрофии необходимо присутствие генотоксических агентов, модифицирующих структуру и функцию ДНК.

В качестве таких агентов большой интерес представляют нитрозосоединения (НС) — вещества, потенциально канцерогенные для человека. Эндогенный синтез НС из предшественников в желудке человека значительно возрастает при хроническом атрофическом гастрите [1]. Генотоксический эффект НС во многом определяется алкилированием ДНК. Чаще всего мишенью служит гуанин в положении N⁷ и O⁶. Образование O⁶-метилдезоксигуанозин-3'-фосфата (O⁶-medG) приводит к транзициям типа GC → AT [20]. В эксперименте показана активация H-ras-протоонкогена вследствие образования O⁶-medG под действием N-нитрозо-N-метил-мочевина и замены гуанина на аденин в 12 кодоне [14]. Образование N⁷-метилдезоксигуанозин-3'-фосфата (N⁷-medG) не коррелирует с частотой возникновения мутаций, но зато может служить чувствительным маркером синтеза и генотоксического эффекта НС [1].

Хорошо известно, что многие полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) также специфически связываются с гуанином ДНК, но в позициях C⁸ и N² [21, 22]. Экспериментальными исследованиями установлено, что ароматические углеводороды, как и НС, способны вызывать транзиции типа GC → AT в 12 кодоне ras-протоонкогена [12].

Приведенные данные свидетельствуют о возможности появления модификаций в ДНК желудка после экспозиции как с НС, так и ПАУ. Благодаря разработке высокочувствительных методов появилась возможность измерить уровень аддуктов в ДНК человека, отражающий в совокупности экспозицию с канцерогеном, его метаболическую активацию и репарацию ДНК. Целью

S. N. Khramtsova, G. I. Potapova, T. I. Sukhova,
N. M. Mironov, G. I. Gubina, O. N. Gorbunov,
A. A. Klimenkov, V. N. Gorbunov, D. G. Zaridze

CARCINOGEN-INDUCED DNA ADDUCTS AND *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION AS RISK FACTORS FOR GASTRIC TUMORS IN PATIENTS OF MOSCOW REGION

Research Institute of Carcinogenesis, Research Institute of Clinical
Oncology, I.M. Sechenov Moscow Medical Academy, International
Agency for Research of Cancer, Lyon, France

Gastric carcinoma is the world's second most common cancer disease [5]. There are several morphological changes of mucosa that as a rule precede development of the tumors, i.e. inflammation (chronic gastritis), atrophy, loss of cellular differentiation [3]. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection plays a significant role in etiology of chronic atrophic gastritis and is believed to be a risk factor for gastric adenocarcinoma [4,9]. It is supposed that genotoxic agents modifying DNA structure and function should be present following the atrophy stage.

These agents include nitroso-compounds (NC) which are potentially carcinogenic for man. NC endogenous synthesis from its precursors increases considerably in stomachs of patients with atrophic gastritis [1]. The NC genotoxic effect is mainly determined by DNA alkylation with guanine in positions N⁷ and O⁶ as a target. Generation of O⁶-methyldeoxyguanosine-3'-phosphate (O⁶-medG) leads to GC → AT transitions [20]. As shown experimentally the O⁶-medG production induces activation of *H-ras* protooncogene under the action of N-nitroso-N-methylurea and substitution of adenine for guanine in codon 12 [14]. Generation of N⁷-methyldeoxyguanosine-3'-phosphate (N⁷-medG) does not correlate with mutation incidence but is a sensitive marker of NC synthesis and genotoxic effect [1].

Many polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are known to bind specifically to DNA guanine but in positions C⁸ and N² [21, 22]. It is discovered experimentally that aromatic hydrocarbons can induce GC → AT transitions in codon 12 of *ras* protooncogene similarly to NC [12].

These findings suggest the possibility of gastric DNA modifications as a result of exposure to both NC and PAH. Due to development of high sensitivity techniques we can measure levels of human DNA adducts reflecting exposure to carcinogens, their metabolic activation and DNA reparation. The purpose of this investigation was to study the role of environmental factors such as NC, PAH and *H. pylori* infection in development of gastric tumors.

The investigation was performed in patients with gastric tumors and a control group with ulcer of the gastric antral segment. The main portion of the investigation was carried out in the Carcinogenesis Laboratory of Paterson Institute for Research of Cancer (Manchester) and in the Laboratory of Carcinogenic Mechanisms of IARC (Lyon). DNA was studied for presence

настоящей работы было изучение роли факторов внешней среды, таких как НС, ПАУ и *H. pylori*-инфекция, в развитии опухолей желудка.

В исследование были включены больные с опухолями желудка, а также контрольная группа пациентов с язвой антрального отдела желудка. Основная часть работы была проведена на базе лаборатории канцерогенеза Института Патерсона по исследованию рака (Манчестер), а также лаборатории механизмов канцерогенеза МАИР (Лион). ДНК исследовалась на наличие N⁷-medG, O⁶-medG, ароматических аддуктов и *H. pylori*-инфекции.

Материалы и методы. Инфицированность *H. pylori* оценивали двумя вариантами PCR с различными праймерами [11, 13].

Метод определения N⁷-medG включал ферментативный гидролиз ДНК, разделение метилированных нуклеозидов методом HPLC на колонке Aminex A7, очистку метилированного нуклеозида и дезокситимидина (dT) на боратной колонке с последующим разделением методом HPLC на колонке C18. Количество аддукта определяли иммуноферментным методом [6, 17] и выражали в нмоль/моль dT.

Определение O⁶-medG проводили методом ³²P-постмечения (рис. 1). Метод включал ферментативный гидролиз ДНК, концентрирование аддукта методом двухступенчатой иммуносорбции на колонках с моноклональными антителами, пришитыми к периодатактивированной сефарозе, ³²P-постмечение совместно с IMP в качестве внутреннего стандарта [2] и двухмерную тонкослойную хроматографию (ТСХ) на стеклянных пластинках, покрытых полиэтиленгликолем (PEI). Сканирование и количественный подсчет проводили после 2 ч экспозиции в кассетах Phosphor screen на приборе Molecular Dinamik 4253 Phosphor Imager, используя программу Imqe Qunt.

Содержание ароматических аддуктов измеряли также методом ³²P-постмечения (см. рис. 1), используя метод экстракции бутанолом [10] для концентрации аддуктов. Многомерную ТСХ проводили на пластиковых пластинках, покрытых PEI, после чего хроматограммы экспонировали в течение 48 ч.

Результаты и обсуждение. С целью выяснения возможности алкилирования ДНК желудка НС исследовали содержание N⁷-medG в 14 образцах слизистой оболочки желудка и 4 образцах опухоли. Уровень аддукта в 4 образцах слизистой колебался от 9,2 до 41,6 нмоль/моль dG, а в одном образце опухоли составлял 53,4 нмоль/моль dG. Таким образом, была показана принципиальная возможность генотоксического эффекта НС эндогенного или экзогенного происхождения у больных с опухолями желудка.

У 21 больного было исследовано содержание O⁶-medG, с образованием которого большинство исследователей связывают канцерогенный и мутагенный эффект НС [1]. У одного и того же индивидуума одновременно анализировали ДНК из опухоли, прилежащей слизистой оболочке, а также в 9 случаях из печени (всего 51 образец).

В обследуемой группе O⁶-medG в ДНК желудка был выявлен у половины больных (11 из 21). В табл. 1 представлены данные об уровне аддукта в позитивных образцах. Несмотря на значительные индивидуальные колебания в содержании O⁶-medG от 0,07 до 10,0 нмоль/моль dG, прослеживалась общая тенденция преимущественного накопления метилированного гуанина в незатронутой слизистой оболочке по сравнению с опухолью желудка.

Так, в слизистой оболочке ДНК, объединенной ото всех больных, содержание O⁶-medG было в 2,76 раза больше по сравнению с ДНК, объединенной из опу-

Таблица 1

Table 1

Содержание O⁶-medG (данные трех экспериментов) в ДНК больных с опухолями желудка (M ± m)
DNA O⁶-medG content (three experiments) in patients with gastric tumors (Mean ± S.D.)

Диагноз	Количество O ⁶ -medG, нмоль/моль dG		
	опухоль	слизистая оболочка	печень
Аденокарцинома Adenocarcinoma	0,07 ± 0,03	H	—
» »	7,1 ± 4,4	0,5 ± 0,3	—
» »	0,16 ± 0,03	10,0 ± 0,4	—
» »	H	0,57 ± 0,20	—
» »	H	3,7 ± 0,8	0,31 ± 0,04
» »	4,0*	—	—
» »	3,2 ± 1,7	7,45 ± 0,35	H
Перстневидно-клеточный рак Signet ring cell carcinoma	0,59 ± 0,17	1,50 ± 0,34	—
» »	H	H	0,12*
» »	0,35 ± 0,05	0,22 ± 0,02	0,32 ± 0,18
» »	H	3,0 ± 1,4	0,47 ± 0,34
Суммарная ДНК из 21 образца Total DNA from 21 samples	2,1 (n=2)	5,8 (n=2)	—
Diagnosis	tumor	mucosa	liver
Amount of O ⁶ -medG, nmol/mol dG			

Примечание. Прочерк — ткань отсутствовала, звездочка — ДНК было недостаточно для трех экспериментов. Здесь и в табл. 2 : H — значения ниже порога чувствительности метода.

Note. Dash shows the absence of the tissue specimen, asterisk shows that DNA amount was not sufficient for three experiments. Here and in table 2 H stands for values below method sensitivity threshold.

of N⁷-medG, O⁶-medG, aromatic adducts and *H. pylori* infection.

Materials and Methods. *H. pylori* infection was assessed by two variants of PCR using different primers [11,13].

The method of N⁷-medG determination consisted of DNA enzymatic hydrolysis, separation of methylated nucleosides by HPLC using an Aminex A7 column, purification of methylated nucleosides and deoxythymidine (dT) using a borate column, and separation by HPLC with a C18 column to follow. Amount of the adduct was measured by immunoenzymometric assay [6,17] and expressed in nmol/mol dT.

Determination of O⁶-medG was performed by ³²P postlabeling (fig.1). The method consisted of DNA enzymatic hydrolysis, adduct concentration by two-stage immunosorption using columns with monoclonal antibodies sewed to periodate-activated sepharose, ³²P postlabeling with IMP as an internal standard [2] and two-dimensional thin layer chromatography (TLC) on glass plates coated with polyethylene imine (PEI). Scanning and quantitation were performed using a Molecular Dynamic 4253 Phosphor Imager following 2-h exposure in Phosphor Screen cassettes by the Imqe Qunt program.

Aromatic adducts were also measured by ³²P postlabeling (see fig.1) with adduct concentration by butanol extraction [10]. Multi-dimensional TLC was performed on PEI-coated plastic plates by 48 h chromatogram exposure.

Results and Discussion. We measured content of N⁷-medG in 14 gastric mucosa and 4 tumor samples to evaluate the possibility of alkylation of gastric DNA by NC. The adduct level in the 4 tumor samples

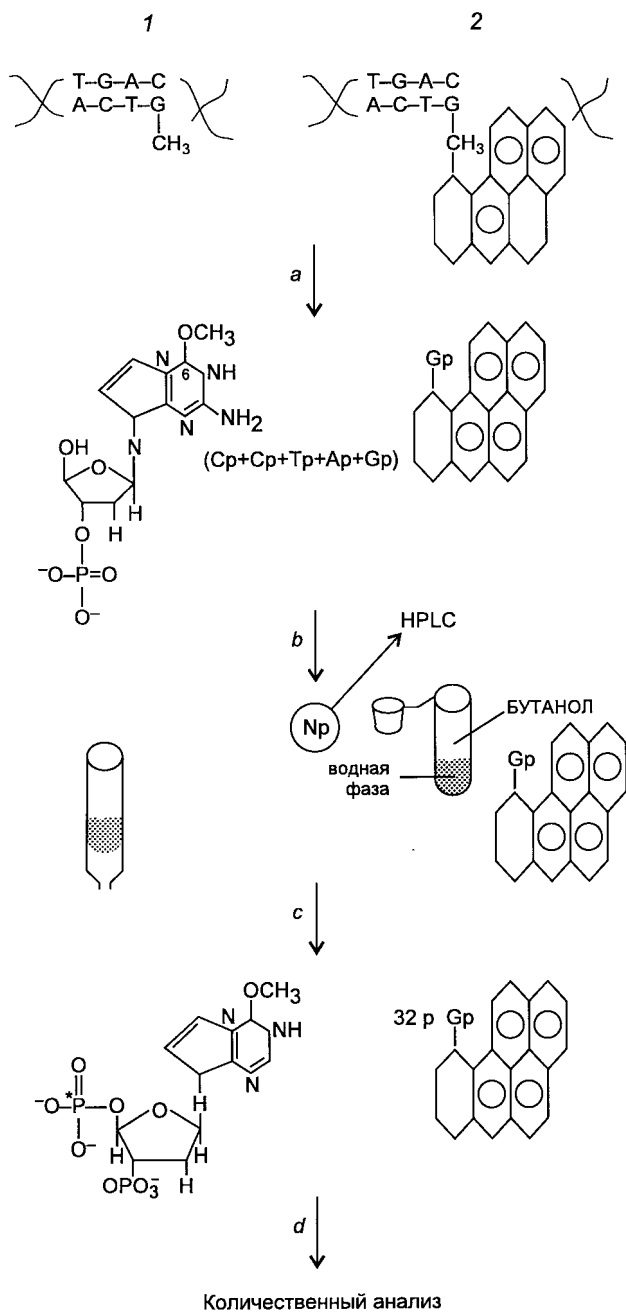


Рис. 1. Схема ^{32}P -постмечения для анализа $\text{O}^6\text{-medG}$ (1) и ароматических аддуктов (2).

а — ферментативный гидролиз ДНК в присутствии микрококковой нуклеазы и фосфодиэстеразы теленка; б — специфическое обогащение аддуктом; в — ^{32}P -постмечение в присутствии Т4-поли-нуклеотидкиназы и Р1-нуклеазы; д — ТСХ на PEI-целлюлозе.

Fig.1. Diagram of ^{32}P postlabeling for analysis of $\text{O}^6\text{-medG}$ (1) and aromatic adducts (2).

а, DNA enzymatic hydrolysis in the presence of calf micrococcal nuclease and phosphodiesterase; б, specific enrichment with the adduct; в, ^{32}P postlabeling in the presence of T4-polynucleotide kinase and P1-nuclease; д, TLC on PEI cellulose.

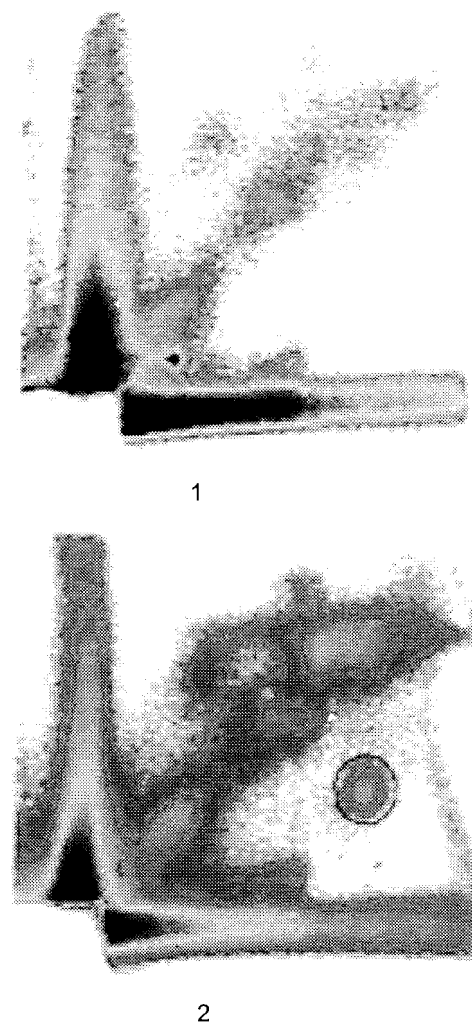


Рис. 2. Хроматографическое разделение ДНК из опухоли (1) и незатронутой слизистой оболочки желудка (2) после экстракции бутанолом.

Fig. 2. Chromatographic separation of DNA from tumors (1) and intact gastric mucosa (2) after extraction with butanol.

was 9.2 to 41.6 nmol/mol dG, in one of the samples it reached 53.4 nmol/mol dG. These findings show that endogenous or exogenous NC may produce genotoxic effect in patients with gastric tumors.

We studied 21 patients for presence of $\text{O}^6\text{-medG}$ as related by many investigators to NC carcinogenic and mutagenic effects [1]. DNA was analyzed in samples of tumors and adjacent mucosa from each individual, liver samples were also studied in 9 cases (a total of 51 specimens).

$\text{O}^6\text{-medG}$ was detected in gastric DNA in half the patients (11/21) of the test group. Table 1 shows adduct level in positive specimens. In spite of the considerable variation in $\text{O}^6\text{-medG}$ content (0.07 to 10.0 nmol/mol dG) there was a common trend of greater accumulation of methylated guanine in intact mucosa as compared with gastric tumors.

The content of DNA $\text{O}^6\text{-medG}$ in mucosa from all the patients was 2.76-fold larger than in a total

холей всех больных. Отсутствие или более низкое содержание аддукта в ДНК из опухоли по сравнению с незатронутой слизистой оболочкой было обнаружено в 66% индивидуальных пар ДНК (см. табл. 1). Это может косвенно указывать на появление точковых мутаций в результате замены O⁶-medG на аденин. Действительно, в опухоли больного Ч. была выявлена транзигия типа GC → AT в 175 кодоне гена p53 [16], обуславливающая замену аргинина на гистидин.

Моноксигеназы — ферменты, осуществляющие метаболическую активацию НС, — наиболее активны в печени [1], поэтому мы исследовали наличие O⁶-medG в ДНК из этого органа. В отличие от ДНК из желудка в печени не было обнаружено значительных индивидуальных колебаний в уровне аддукта (см. табл. 1). В целом его содержание было низким и составляло в среднем 0,3 нмоль/моль dG. Заслуживает внимания тот факт, что O⁶-medG выявлялся во всех образцах печеночной ДНК больных с перстневидноклеточным раком (100%), в то время как число позитивных случаев у больных с аденокарциномой составляло лишь 16%. Эти данные представляют особый интерес, так как это первое сообщение о содержании O⁶-medG в печени больных с опухолями желудка.

Роль ПАУ в возникновении рака желудка изучена мало. Мы впервые исследовали содержание ароматических аддуктов в ДНК, полученной из различных тканей одного и того же больного с карциномой желудка. В исследование были включены 9 больных, от которых была получена ДНК из опухоли желудка, прилежащей слизистой и печени (всего 27 образцов), а также 5 больных с язвой антрального отдела желудка.

На рис. 2 представлены типичные хроматограммы ДНК. Аддукты определялись в виде диагональной зоны радиоактивности (ДЗР), внутри и вне которой можно было различить отдельные пятна. Пятно вне ДЗР выявлялось в 100% ДНК слизистой оболочки желудка, в 88% опухоли и в 44% печени (обведено на рис. 2), но отсутствовало в ДНК из тимуса теленка. Содержание аддукта в нем колебалось от 1,9 до 863,0 нмоль/моль dG (табл. 2). В 77% случаев уровень аддукта в незатронутой слизистой оболочке был выше по сравнению с таковым в опухоли (см. табл. 2, рис. 2), т. е. выявлялась закономерность, обнаруженная ранее при измерении содержания O⁶-medG.

Самое высокое значение пятна вне ДЗР определялось у больных после 60 лет, поэтому нельзя было исключить вклад фактора старения. Было исследовано 5 образцов язвенной ДНК от больных в возрасте от 32 лет до 61 года. Аналогичное пятно, соответствующее 387 нмоль/моль dG, определялось у молодого больного (36 лет) и отсутствовало у более пожилых. Таким образом, можно было предположить канцерогенную природу обнаруженного пятна. На наш взгляд, оно представляет интерес при обследовании больных раком желудка, поскольку выявляется в 100% ДНК из слизистой оболочки. Аналогичное пятно было обнаружено в слизистой оболочке желудка 13% больных с семейным аденоматозным полипозом, но оно отсутствовало в контрольной группе [8, 19].

Таблица 2

Table 2

Содержание ароматических аддуктов ДНК (данные трех экспериментов) вне ДЗР ($M \pm m$)
Content of DNA aromatic adducts outside DRZ (three experiments) (Mean $\pm$ S.D.)

Диагноз	Возраст больных, годы	Содержание аддукта, нмоль/моль dG		
		опухоль	слизистая оболочка	печень
Аденокарцинома Adenocarcinoma	61	1,9 $\pm$ 0,5	430 $\pm$ 247	H
» »	64	79 $\pm$ 9	484 $\pm$ 303	H
» »	45	15,3 $\pm$ 0,7	59,7 $\pm$ 26,6	H
» »	51	31,6 $\pm$ 14,1	125,3 $\pm$ 44,4	68,6 $\pm$ 28
» »	68	H	863 $\pm$ 85	24,2 $\pm$ 3,0
» »	54	28,7 $\pm$ 5,9	27,3 $\pm$ 8,9	27,5 $\pm$ 8,1
Перстневидноклеточный рак Signet ring cell carcinoma	58	H	292 $\pm$ 193	H
» »	63	194 $\pm$ 43	210 $\pm$ 129	H
» »	60	65 $\pm$ 18	210 $\pm$ 71	H
Суммарная ДНК из 21 образца Total DNA from 21 samples	—	12,9 (n=2)	103 (n=2)	—
Diagnosis	Age, years	tumor	mucosa	liver
Amount of adduct, nmol/mol dG				

specimen of tumors from all the patients. The absence or lower concentration of the DNA adduct in tumors as compared to intact mucosa was also found in 66% of individual DNA pairs (see table 1). This may be an indirect sign of point mutations as a result of substitution of adenine for O⁶-medG. Indeed, the tumor sample from patient Ch. had a GC → AT transition in codon 175 of p53 gene [16] that determines the substitution of histidine for arginine.

Monooxygenases, i.e. enzymes responsible for metabolic activation of NC, are the most active in the liver [1], that is why we studied the presence of O⁶-medG in liver DNA. Unlike the stomach the liver did not show any significant variation in DNA adduct content (see table 1). It was as a rule low (mean 0.3 nmol/mol dG). Of note that O⁶-medG was found in all specimens of liver DNA from patients with signet ring cell carcinoma (100%) while the percentage of positive tests in patients with adenocarcinoma was 16. These data are of especial interest as this is the first report of O⁶-medG content in the liver of patients with gastric tumors.

The role of PAH in development of gastric cancer is yet unclear. We were the first to study content of aromatic hydrocarbons in DNA from various tissues of the same patient with gastric carcinoma. The study was performed in 9 patients. DNA samples were taken from their gastric tumors, adjacent mucosa and livers (a total of 21 specimens). There were also 5 patients with ulcer of the gastric antral segment included in the study.

Figure 2 shows typical DNA chromatograms. The adducts were determined by individual spots inside and

При анализе образцов по гистологическому диагнозу обнаружилось, что в печени больных с перстневидноклеточным раком пятно вне ДЗР не выявлялось, тогда как у больных с аденокарциномой число позитивных случаев составляло 50%. Следует отметить, что O⁶-medG, наоборот, преимущественно выявлялся в печени больных с перстневидноклеточным раком. Поскольку различия для двух типов аденокарцином были выявлены при определении как O⁶-medG, так и ароматических аддуктов, есть основания предположить, что обнаруженный феномен, возможно, отражает различия в патогенезе аденокарцином и перстневидноклеточного рака желудка.

Нами была выявлена высокая инфицированность *H. pylori* у больных Московского региона. Электрофоретическое разделение продуктов PCR представлено на рис. 3. ДНК из слизистой оболочки была позитивной в 100% (21 из 21) случаев. Инфицированность *H. pylori* у больных с доброкачественной язвой антрального отдела желудка была ниже и составляла 70% (7 из 10), что совпадает с данными, полученными при обследовании язвенных больных в Китае [15]. Известно, что в популяции со 100% инфицированностью риск развития аденокарциномы увеличивается в 6 раз [9, 18]. Полученные данные указывают, что для Московского региона *H. pylori*-инфекция может быть одним из ведущих факторов. На фоне 100% *H. pylori*-инфекции у 50% обследованных больных определялся O⁶-medG. У аналогичных больных в области Лин Ксян (Китай), где установлено экзогенное действие НС, число позитивных по O⁶-medG случаев составляло 81%, а уровень аддукта в среднем был в 5—10 раз выше, чем у больных из России [20]. Таким образом, для больных Московского региона с большой вероятностью можно исключить воздействие общего экзогенного фактора. Скорее всего имела место эндогенная экспозиция с НС, обусловленная различиями в образе жизни. Новым является обнаружение у всех больных ароматических аддуктов, химическую природу которых планируется исследовать в дальнейшем.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Рубенчик Б. П. Образование канцерогенов из соединений азота. — Киев, 1990.
2. Cooper D. P., Griffin K. A., Povay A. C. // Carcinogenesis. — 1992. — Vol. 13. — P. 469—475.
3. Correa P. // Cancer Res. — 1988. — Vol. 48. — P. 3554—3560.
4. Correa P., Fox J., Fonthan E. et al. // Cancer. (Philad.). — 1990. — Vol. 66. — P. 2569—2574.
5. Correa P., Haenszel W. // Epidemiology of cancer of the digestive tract. — Netherlands, 1982. — P. 58—84.
6. Degan P. et al. // Cancer Res. — 1988. — Vol. 48 — P. 5065—5070.
7. Dixon M.F. // Campylobacter pylori and gastroduodenal diseases. — Oxford, 1989. — P. 106—116.
8. Dyke G. W., Graven J. L., Hall R., Garner R.C. // Carcinogenesis. — 1994. — Vol. 15. — P. 291—295.
9. The Eurogast study group // Lancet. — 1993. — Vol. 341. — P. 1359—1362.
10. Gupta R. C. // JARC publ. — 1993. — P. 11—23.

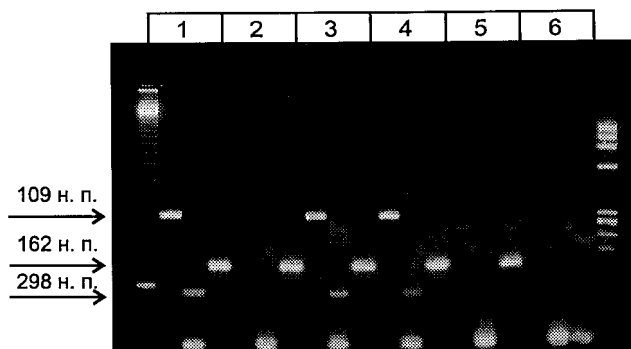


Рис. 3. Электрофоретическое разделение продуктов PCR в 3% агарозном геле

1 — позитивный контроль; 2 — негативный контроль; 3 — слизистая оболочки желудка, позитивная по *H. pylori*; 4 — опухоль желудка, позитивная по *H. pylori*; 5 — опухоль желудка, негативная по *H. pylori*; 6 — проба без ДНК. 109 и 298 нуклеотидных пар — продукты, специфичные для *H. pylori*, 162 нуклеотидные пары — продукт получали с K1a, K1b праймерами к K-ras гену как контроль на наличие ДНК человека в пробе.

Fig. 3. Electrophoretic separation of PCR products in 3% agarose gel.

1, positive control; 2, negative control; 3, *H. pylori*-positive gastric mucosa; 4, *H. pylori*-positive gastric tumor; 5, *H. pylori*-negative gastric tumor; 6, DNA-free sample. 109 and 298 nucleotide pairs - *H. pylori*-specific products, 162 nucleotide pairs - the product was obtained using K1a, K1b primers to K-ras gene as control for the presence of human DNA in samples.

outside the diagonal radioactivity zone (DRZ). The spots outside DRZ were detected in 100% of DNA from gastric mucosa, in 88% of tumor and 44% of liver samples (encircled in fig.2), while absent in DNA from calf thymus. The adduct content was 1.9 to 863.0 nmol/mol dG (table 2). In 77% of the cases the adduct level in intact mucosa was higher than in tumor tissue (see table 2, fig.2), in other words we discovered the same regularity as when measuring O⁶-medG content.

The spot value outside DRZ was the highest in patients over 60 years of age, therefore the ageing factor should not be ignored. We studied 5 specimens of ulcer DNA from patients of age ranging from 32 to 61 years. There was a similar spot at 387 nmol/mol dG in a young patient (36 years) which was absent in older patients. This suggested carcinogenic origin of the spot. We believe this finding to be of much importance for diagnosis of gastric cancer as it is detected in 100% of mucosal DNA. A similar spot was found in gastric mucosa of 13% of patients with familial adenomatous polyps while absent in the controls [19].

Analysis of the specimens with respect to tumor histology showed that there were no spots outside DRZ in liver of the patients with signet ring cell carcinoma, while for adenocarcinoma cases the number of positive tests reached 50%. It is of note that O⁶-medG was mainly detected in liver of the patients with signet ring cell carcinoma. Since the differences in the adenocarcinoma types were detected both when measuring O⁶-medG and aromatic adducts the supposition may be made that this is a reflection of difference in pathogenesis of gastric adenocarcinoma and signet ring cell carcinoma.

11. Hammar M., Tyszkiewicz T., Wadstrom T., O'Toole P. W. // J. clin. Microbiol. — 1992. — Vol. 30. — P. 54—58.
12. Harris C. C. // Cancer Res. Suppl. — 1991. — Vol. 51. — P. 50 235—50 445.
13. Ho S.-A., Hoyle J. A., Lewia F. A. et al. // J. clin Microbiol. — 1991. — Vol. 29. — P. 2543—2549.
14. Laval J., Strauss B. // Biochemic. — 1985. — Vol. 67. — P. 391—392.
15. Li Y. Y., Hu P. J., Du G. G., Hazel S. L. // J. Gastroenter. — 1991. — Vol. 86. — P. 446—449.
16. Mironov N. M., Aguelon M. A., Potapova G. I. et al. // Cancer Res. — 1994. — Vol. 54. — P. 41—44.
17. Montesano R. et al. // Int. Agency for Research on Cancer. — Lyon, 1988. — P. 75—82.
18. Parsonnet J., Friedman G. D., Vandersteen D. P. // New. Engl. J. Med. — 1991. — Vol. 325. — P. 1127—1131.
19. Seates D. K., Spigelman A. D., Phillips R. K. S., Venitt S. // Int. Agency for Research on Cancer. — Lyon, 1993. — P. 357—364.
20. Umbenhauer D., Wild C. P., Montesano R. et al. // Int. J. Cancer. — 1985. — Vol. 36. — P. 661—665.
21. Williams L. D., Shaw B. R. // Proc. nat. Acad. Sci. — 1987. — Vol. 84. — P. 1779—1783.
22. Wogan G. N. // Int. Agency for Research on Cancer. — Lyon, 1988. — P. 32—51.

Поступила 29.11.94 / Submitted 29.11.94

We found high rate of *H. pylori* infection in patients from Moscow region. Fig.3 shows electrophoretic separation of PCR products. Mucosal DNA was positive in 100% (21/21) of the cases. The rate of *H. pylori* infection in patients with benign ulcer of gastric antral segment was 70% (7/10) which corresponded to results of a Chinese study of ulcer patients [15]. The risk of adenocarcinoma is known to increase 6-fold in populations with a 100% infection rate [9,18]. Our findings show that *H. pylori* may be a leading factor for Moscow region. 50% of the patients had O⁶-medG against the background of a 100% *H. pylori* infection rate. In a similar cohort of patients from the Chinese region of Lyn Ksyang where NC exogenous action was established the rate of O⁶-medG positive cases was 81% and the adduct content was on the average 5-10-fold greater than in the Russian patients [20]. This suggests that the effect of the endogenous factor on the patients from Moscow region may be excluded. It was most likely endogenous exposure to NC due to different modes of living. We were the first to discover that all the patients under study had aromatic adducts whose chemical nature will be a matter of further investigations.

SPONSORED BY



Pharmacia

Kabi-Farmitalia Carlo Erba