

Gastroonkogene Wirkung von Methylnitrosoharnstoff beim Miniaturschwein

D. STAVROU, E. DAHME und J. KALICH

Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie (Prof. Dr. E. Dahme)
am Institut für Tierpathologie und Lehrstuhl für Tierhygiene (Prof. Dr. J.
Kalich) der Universität München, Veterinärstraße 13, D-8000 München 22

Induction of Tumors of the Stomach in Mini-Pigs by Methylnitroso-
Administration

Summary: The oncogenic effect of N-methyl-N-nitroso-urea was studied in Hanford miniature-pig. The compound - dissolved in 0,9% NaCl (pH 6,1 - 6,2) and supplemented with 1% NaH₂PO₄ - was administered per os to the animals in intervals of two weeks during 4,5 years. Finally the animals, which had behaved clinically inapparent during the whole run of the experiment, were sacrificed and autopsied. All animals of the experimental group had developed stomach tumours, whereas control animals showed normal conditions of gastric mucosa. Except one, all tumours were grouped macroscopically as multiple, exophytic, papillary, cauliflower-like neoplasms of the mucosa, located predominantly within cardia- and fundus-regions. Histologically they are to be classified generally as benign adenomatous polyps. However, a few of them also possess cytological characteristics of an early malign dedifferentiation. One - above excepted - tumour probably belongs to the class of malign neurinomas. The results of the experiment demonstrate in general that the obvious organotropic properties of certain oncogenic nitrosamides might be in a way also species-depending ones. This perception seems to be important in view of morphogenesis as well as of etiopathogenesis of stomach tumours.

Key words: Methylnitroso-urea - experimental stomach tumours - adenomatous polyp - neurinoma

Zusammenfassung: Die onkogene Wirkung von N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff wurde beim Hanford-Miniaturschwein untersucht. Die Substanz wurde jeweils unter Zusatz von 1% NaH₂PO₄ in physiologischer Kochsalzlösung gelöst (pH 6,1 - 6,2) und den Versuchstieren peroral in 14tägigen Abständen bis zum Versuchsende verabfolgt. Nach einer Versuchsdauer von 4 1/2 Jahren wurden die klinisch unauffälligen Tiere getötet und untersucht. Hierbei zeigte sich, daß alle Tiere Magentumoren entwickelt hatten. Bei den induzierten Tumoren handelt es sich - von einer Ausnahme abgesehen - um multiple, exophytisch wachsende, größtenteils gestielte, blumenkohlartige Schleimhauttumoren, die vorwiegend in der Kardial- bzw. Fundusregion lokalisiert sind. In einem Falle fand sich zusätzlich ein im Bereich der Submucosa der Kardial lokalisierte Tumor. Aufgrund ihrer histologischen Struktur lassen sich die Schleimhauttumoren als adenomatöse Polypen klassifizieren. Einige dieser in der Regel benignen Tumoren tragen cytologische Merkmale einer beginnenden malignen Entartung. Bei dem in der Submucosa lokalisierten Tumor handelt es sich vermutlich um ein malignes Neurinom. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Organotropie

bestimmter onkogener Nitrosamide u.a. auch speciesabhängig sein kann. Diese Erkenntnis dürfte nicht nur hinsichtlich der Morphogenese von Magentumoren sondern darüberhinaus auch der Ätiopathogenese von Bedeutung sein.

Schlüsselwörter: Methylnitrosoharnstoff - experimentelle Magentumoren - adenomatöse Polypen - Neurinom

Durch die selektive Erzeugung von Tumoren in bestimmten Organen - insbesondere auf resorptivem Wege - werden wichtige Voraussetzungen für das Studium verschiedener onkologischer Grundprobleme unter überschaubaren und standardisierten Bedingungen geschaffen.

N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff (MNH) zeigt bei Nagern eine deutliche Neurotropie und findet seit den grundlegenden Untersuchungen von Druckrey *et al.* (1964) als Resorptivonkogen bei der postnatalen Induktion von Tumoren des Nervensystems der Ratte (Jänisch und Schreiber, 1969; Stavrou, 1971), des Kaninchens (Schreiber *et al.*, 1969; Stavrou, 1969; Kleihues *et al.*, 1970; Wriedt-Lübbe, 1974) und des Hundes (Warzok *et al.*, 1970; Stavrou u. Haglid, 1972), in der experimentellen Neuroonkologie zunehmendes Interesse.

Da es sich bei den Nitrosamiden zum einen um potente Cancerogene handelt und zum anderen solche Verbindungen unter bestimmten Voraussetzungen sowohl in der Umwelt als auch im Säuger-Organismus entstehen können, sollte die MNH-Wirkung modellhaft beim Miniaturschwein untersucht werden. Das Miniaturschwein wurde deshalb als Versuchstier gewählt, weil es einerseits eine relativ niedrige Spontanumorrates - von der Leukose abgesehen - aufweist und andererseits in seinem Stoffwechsel mehrere, dem menschlichen Organismus vergleichbare Parameter (Dahme, 1968; Marshall *et al.*, 1972) erkennen läßt.

MATERIAL UND METHODIK

Zur Untersuchung des onkogenen Effektes und der Organotropie von MNH beim Hanford-Miniaturschwein (Tab. 1) wurden 10 Tiere im Alter von 5 Monaten in den Versuch genommen. Weitere 5 Tiere, die unter den gleichen Bedingungen gehalten wurden, dienten als Kontrolle.

Die Substanz wurde jeweils unter Zusatz von 1% NaH_2PO_4 in physiologischer Kochsalzlösung gelöst (pH 6,1 - 6,2), mit 20g Futter vermischt und unmittelbar danach den Tieren, denen 12 Stunden zuvor Futter und Trinkwasser entzogen worden war, zur Aufnahme angeboten. Die Verabreichung des Onkogens erfolgte in 14tägigen Abständen in einer Einzeldosis von 10 mg/kg und wurde bis zum Versuchsende fortgesetzt. Da die Versuchstiere selbst nach einer Versuchsdauer von 4 1/2 Jahren keine klinisch faßbaren Krankheitserscheinungen zeigten, wurden sie getötet und einer pathologisch-anatomischen Untersuchung zugeführt.

Tabelle 1. Induktion von Magentumoren beim Hanford-Miniaturschwein durch wiederholte perorale Verabreichung von MNH (10 mg/kg)

Nr.	Versuchsdauer in Mo.	MNH-Gesamtdosis in g	Befund
1/34	54	65	MT/++
2/40	54	77	MT/+
3/81	53	90	MT/++
4/88	51	76	MT/++
5/90	33	55	Leucose
6/92	54	96	MT/+
7/94	55	83	MT/++
8/98	53	117	MT/++
9/104	50	67	MT/++
10/105	55	117	MT/+

MT/+ = Magentumor/solitär

MT/++ = Magentumor/multipel

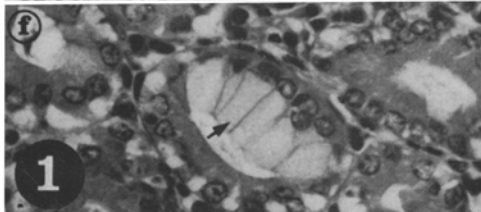
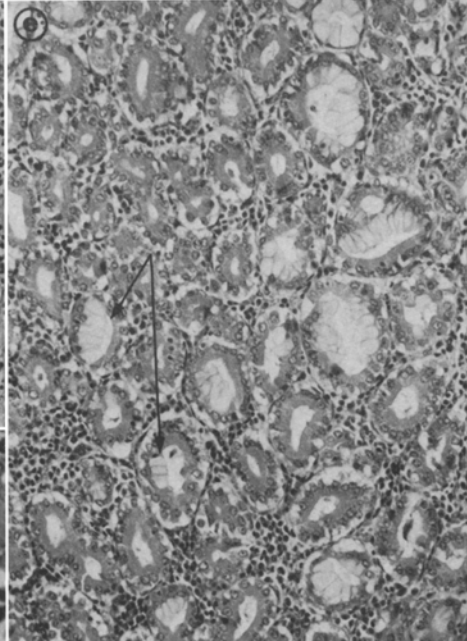
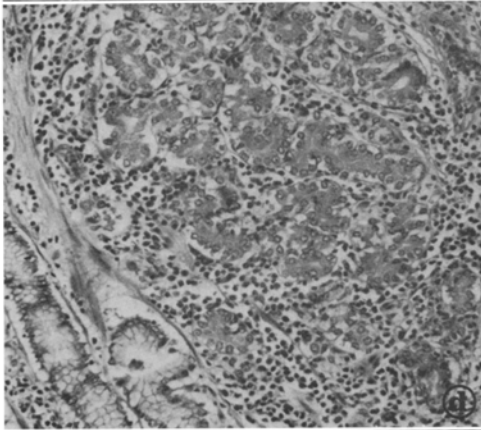
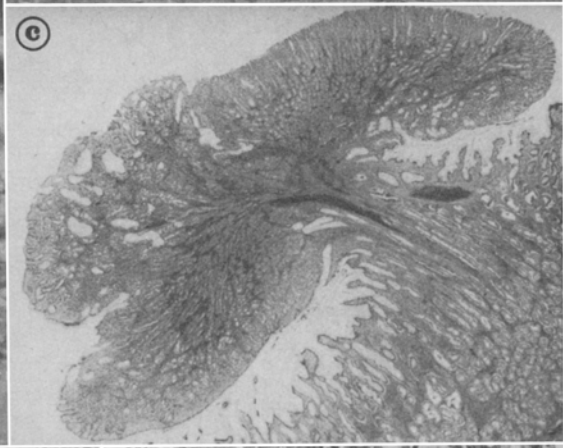
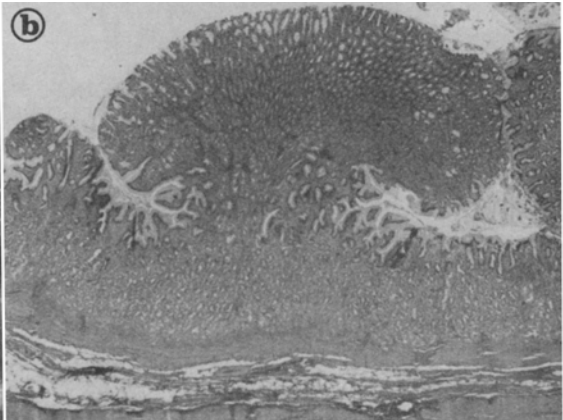
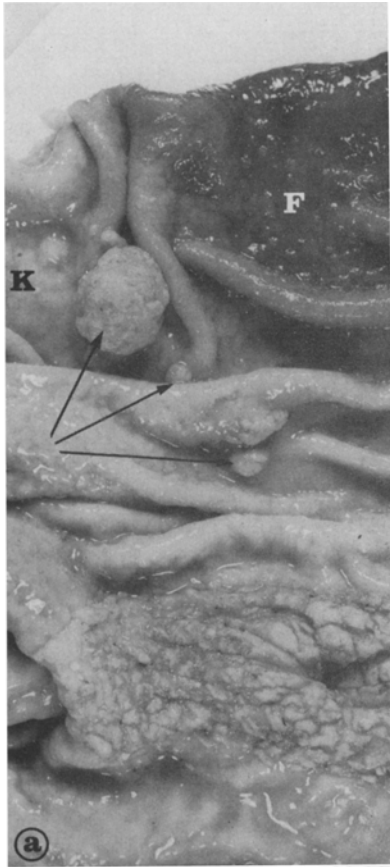
Für die feingewebliche Untersuchung wurden die Gewebeproben nach der Formolfixation in Paraplast eingebettet und die Schnitte folgenden Färbeverfahren unterzogen: Hämatoxilin-Eosin, Versilberung nach Gomori, Trichrom-Masson, PAS-Reaktion und Mucindarstellung mit Alciangrün.

ERGEBNISSE

Ein Tier (5/90) starb nach einer Versuchsdauer von 33 Monaten an Leucose. Bei den übrigen neun Tieren wurden nach Beendigung des Versuches zwischen dem 51. und 55. Versuchsmonat Magentumoren beobachtet. Die Kontrolltiere hingegen wiesen keine pathologischen Magenveränderungen auf.

1. Makroskopische Befunde: Bei den Blastomen handelt es sich um solitär (3) oder multipel (6) - in einem Fall wurden 19 Tumoren gezählt - auftretende, bohnen- bis kastaniengroße Magenschleimhauttumoren. Diese sind in der Regel gestielt und nur vereinzelt breit aufsitzend. Ihre Oberfläche erscheint blumenkohlartig und bröckelig, ihre Konsistenz ist jedoch insgesamt weich. Vorwiegend liegen sie in der Kardia- bzw. Fundusregion und nur vereinzelt im Pylorusbereich (Abb. 1a). Neben diesem Tumortyp befindet sich bei einem Fall (4/88) noch ein kastaniengroßer Tumor in der Fundusregion, der eine derbe Konsistenz aufweist, zwischen Magenschleimhaut und Magenmuskulatur zu liegen scheint und von der Umgebung scharf abgegrenzt ist.

2. Mikroskopische Befunde: Histologisch ist zunächst zwischen einfachen Schleimhauthyperplasien und adenomatösen Polypen zu unterscheiden: Im ersten



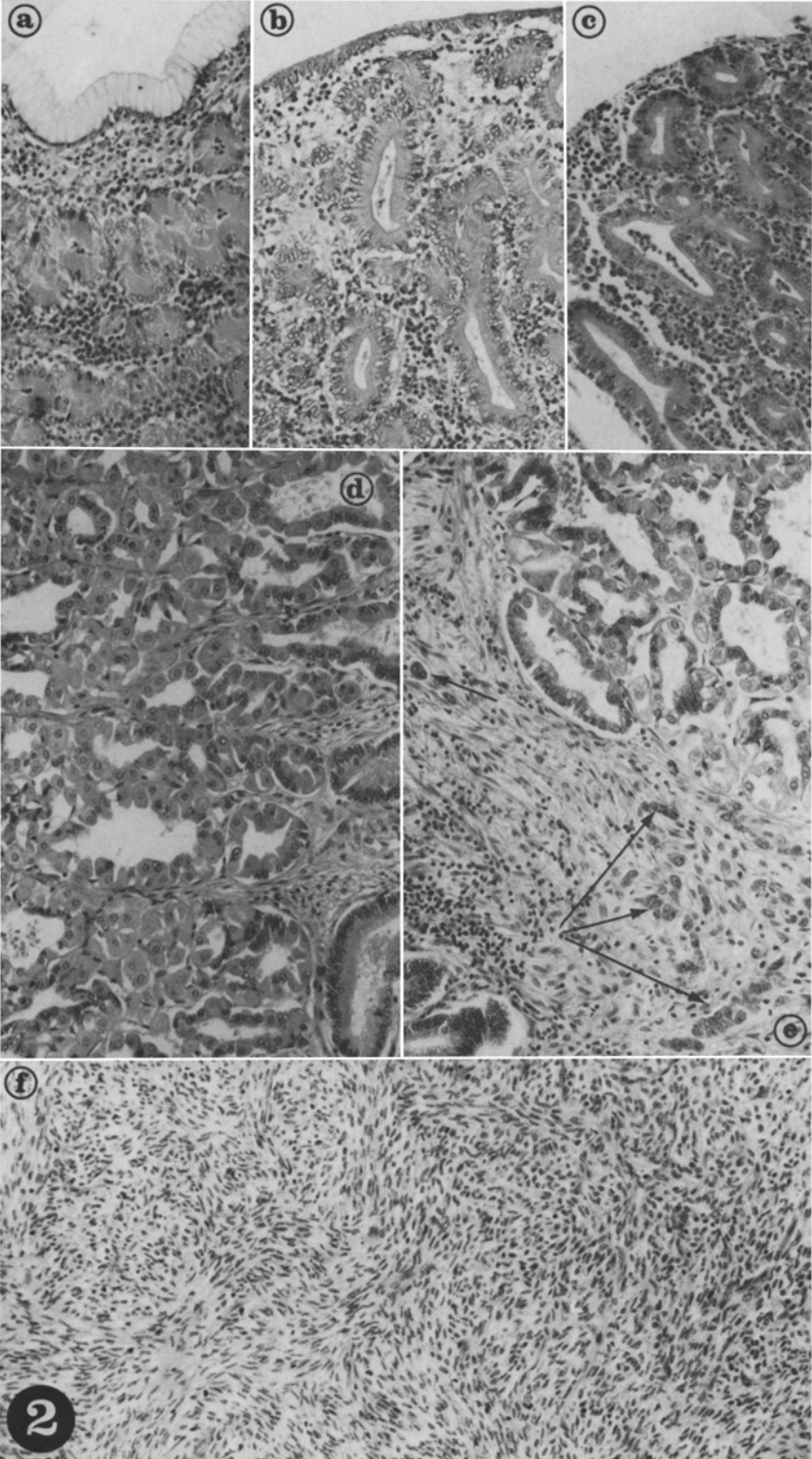
Fälle handelt es sich um regelrechte Hyperplasien der Mucosa unter Beteiligung aller in der betroffenen Magenregion vorkommenden Zell- und Drüsenelemente. An einigen Präparaten findet sich vorwiegend eine Hyperplasie des Oberflächenepithels und in anderen sind mehr die Drüsenzellen vermehrt. In der Regel liegt allerdings eine sogenannte Mischform der Hyperplasie mit annähernd gleichmäßiger Beteiligung von mucoiden und spezialisierten Zellen vor. Überdies lassen sich in den hyperplastischen Schleimhautregionen unterschiedlich starke interstitielle Rundzellularinfiltrate sowie vereinzelt cystische Dilatationen der Drüsenschläuche nachweisen.

Die Schleimhautveränderungen des zweiten Typs stellen pilzförmige Proliferationen der Magenschleimhaut dar, die in der Regel strukturell hyperplastisch-adenomatösen (Ming, 1973) bzw. adenomatösen Polypen entsprechen (Abb. 1b u. c).

Als Frühstadien dieser adenomatösen Polypen dürfen wohl die zahlreich vorkommenden, umschriebenen, atypischen Drüsenproliferationen (Drüsenhalssegmente?) gelten (Abb. 1d). Sowohl in derartigen "Frühveränderungen" als auch in den adenomatösen Polypen sind mucoide Zelldifferenzierungen (Abb. 1f, e) nachzuweisen.

Die teilweise lobulierten adenomatösen Polypen sind von der Magenschleimhaut scharf abgegrenzt (Abb. 1c) und im wesentlichen durch eine Proliferation epithelial-drüsiger Zellelemente charakterisiert (Abb. 1c, 2a-c). Die neugebildeten Drüsenschläuche, die im allgemeinen ein einschichtiges, kubisch bis hochzylindrisches Epithel besitzen, sind langgestreckt und nur hie und da gewunden. Ferner sind sie weitlumig oder abschnittsweise dilatiert, und ihre Lumina sind vielfach mit Zelldetritus sowie mit PAS- bzw. Alciangrün-positivem Material ausgefüllt. Obwohl die proliferierenden Epithelzellen eine gewisse Pleomorphie erkennen lassen, sind nur ganz wenige Mitosen vorhanden. In einigen Fällen wachsen die Drüsenschläuche, deren Basalmembran - von einer Ausnahme abgesehen - intakt ist, in den Polypenstiel hinein, ohne jedoch die Grenze der Muscularis mucosae zu erreichen bzw. zu durchbrechen. Bei einem Polypen, dessen Epithelstrukturen unterschiedlich gestaltet sind

Abb. 1. Experimentell induzierte Magentumoren beim Miniaturschwein: Multiple exophytisch wachsende Polypen der Kardiaschleimhaut (a), lobuliert (c) oder nicht lobuliert (b); umschriebene atypische Epithelproliferation im Drüsenhalsbereich (d); mucoide Zelldifferenzierung in einem adenomatösen Polypen (e, f, ♂) (b-f HE-Fbg., b, c 12x; d, e 120x; f 300x)



(Abb. 2d, e) liegen allerdings eindeutige Basalmembrandurchbrüche und Infiltrationen des Polypenstromas mit polygonalen Zellen vor (Abb. 2c).

An der Polypenoberfläche lassen sich häufig nebeneinander mucoide Deckzellen sowie abgeflachte Epithelzellen, in einigen Fällen aber überhaupt keine oberflächliche Epithelzellschicht nachweisen (Abb. 2a, b, c).

Im Polypenstroma finden sich Lymphocyten-, Monocyten- und Plasmazellinfiltrate von unterschiedlichem Ausmaß. In Polypen ohne Oberflächenepithel sind solche Infiltrate jedoch am stärksten ausgeprägt.

Der bei einem Tier makroskopisch als derber Knoten beschriebene Magenwandtumor unterscheidet sich auch histologisch eindeutig von den polypösen Schleimhauttumoren. So handelt es sich bei ihm um ein zellreiches, von der Umgebung teilweise unscharf abgegrenztes Blastom, das im Bereich der Submucosa lokalisiert und im wesentlichen kapillär vaskularisiert ist (Abb. 2f). Die plump-spindeligen, gegeneinander schwer abgrenzbaren Tumorzellen besitzen einen stäbchenförmigen, gekörnten Kern und lassen ein offensichtlich dreidimensionales Wachstum erkennen. Die Lagerung der Tumorzellen in Strömen, bzw. die Bildung von fischzugartigen Formationen und von Umbiegungsfiguren sind als hervorstechendste Strukturmerkmale zu nennen. Die Muskulatur wird von dem an Mitosen und Kernatypien reichen Tumor an mehreren Stellen destruktiv infiltriert. Ein Gitterfasengerüst ist locker bzw. nur lückenhaft entwickelt. Entzündliche Infiltrate wechselnder Stärke finden sich im Tumorgewebe unter Bevorzugung peripherer Tumorareale. Im wesentlichen bestehen sie aus mononucleären Zellen und eosinophilen Granulocyten.

Obwohl eine Klassifizierung dieses Blastoms auf Grund dieses Befundes nicht sicher möglich ist, lassen Lokalisation und Struktur grundsätzlich an einen neurogenen (Magen-Plexusneurinom?) Tumor denken.

DISKUSSION

Die bei der Ratte beobachtete ausgeprägte Neurotropie organischer Nitrosoverbindungen, insbesondere der N-Nitrosamide (Mennel u. Ivankovic, 1975), scheint nicht ohne Einschränkung für andere Species zu gelten. So sprechen

Abb. 2. An der Polypenoberfläche sind mucoide Deckzellen (a), abgeflachte Epithelzellen (b) oder überhaupt kein Oberflächenepithel (c) vorhanden; vorwiegend aus polygonalen Zellen bestehender polypöser Tumor (d), in dessen Stroma einzelne atypische Epithelzellen (e, \nearrow) oder Epithelzellnester (e, $\nearrow\nearrow$) liegen; in der Submucosa lokalisierter Tumor (f) mit plump-spindeligen, dreidimensional wachsenden Zellen. (a-f HE-Fbg.; a-c, e 48x; d-e 120x)

vor allem die in den letzten Jahren erhobenen Befunde von Güthert *et al.* (1973) und Stavrou *et al.* (1974, 1975a, 1975b) dafür, daß die Organotropie dieser Verbindungen kein allgemeinbiologisches Phänomen darstellen dürfte, sondern von mehreren Faktoren - wie Species, Applikationsform, Applikationszeit etc. - maßgeblich beeinflußt wird. Dies wird insbesondere am Beispiel des Kaninchenexperiments deutlich: Verabreicht man nämlich, analog zum Rattenexperiment, graviden Kaninchen Äthylnitrosoharnstoff während der letzten Graviditätsphase, dann treten bei den Nachkommen nephrogene und nicht, wie bei der Ratte, neurogene Tumoren auf (Güthert *et al.*; Stavrou *et al.*, 1974; Fox *et al.*, 1975). Erfolgt dagegen die Äthylnitrosoharnstoff-Injektion zu einer wesentlich früheren Gestationsphase, nämlich am 8. Graviditätstag, dann lassen sich, ähnlich wie bei der Ratte, neurogene Tumoren induzieren (eigene noch unveröffentlichte Befunde).

Auch die vorliegenden, beim Schwein erzielten Ergebnisse sprechen für eine von Species zu Species unterschiedliche Organotropie resorptivonkogener Nitrosamide. Während die systematische perorale Verabreichung von Methylnitrosoharnstoff bei der Ratte zur Entstehung von Tumoren des Nervensystems führt, wurden bei gleicher Applikationsart bei Miniaturschweinen Magentumoren induziert. Dieses Ergebnis war bis zu einem gewissen Grade zu erwarten, nachdem Kleihues *et al.* (1973) nach intragastrischer und intravenöser Applikation von N-(¹⁴C)-Methyl-N-nitrosoharnstoff am Miniaturschwein gezeigt hatten, daß es hierbei zu einer hohen Alkylierung der Nucleinsäuren des Magens kommt. Dabei war die 7-Methylguaninbildung nach intragastrischer Verabreichung des Carcinogens 8 mal höher als nach intravenöser.

Ferner haben die Untersuchungen von Kleihues *et al.* (1973) beim Miniaturschwein gezeigt, daß Methylnitrosoharnstoff bzw. seine "Wirkform" (Druckrey *et al.*, 1967) auf resorptivem Wege auch das Nervensystem erreicht und zu einer Methylierung der Nucleinsäuren des Hirngewebes führt. Obwohl die Konzentration der alkylierten Nucleinsäurebasen des Hirns bei Ratte und Miniaturschwein bei gleicher Applikationsform vergleichbar ist, traten beim Miniaturschwein, im Gegensatz zur Ratte, selbst nach einer 4 1/2-jährigen Versuchsdauer keine neurogenen Tumoren auf. Als Erklärung für diese unterschiedliche Wirkung des Methylnitrosoharnstoffs könnte - neben einer nicht gerade wahrscheinlichen, über die 4 1/2 Jahre hinaus dauernden Induktionszeit neurogener Tumoren beim Miniaturschwein - eine unterschiedliche Effektivität der "repair"-Mechanismen im Nervensystem beider Species ins Feld geführt werden. Goth u. Rajewsky (1974) sowie Kleihues u. Margison (1974) konnten nämlich nachweisen,

daß in den verschiedenen Organen der Ratte wesentliche Unterschiede in der Eliminationsgeschwindigkeit von alkyliertem Guanin (O^6 -Äthyl- bzw. O^6 -Methylguanin) bestehen. Zwischen der bei der Ratte beobachteten Neurotropie der Nitrosamide einerseits und einer durch diese Untersuchungen nachgewiesenen, in Relation zu anderen Organen längerer Verweildauer alkylierter Nucleinsäurebasen im Nervensystem andererseits wird ein direkter Zusammenhang gesehen. Unter der Voraussetzung, daß die Persistenz von O^6 -Alkylguanin im Hirn für die Transformation glialer Zellen verschiedener Species gleichermaßen von Bedeutung ist, müßte die Excision alkylierter Basen im Nervensystem des Miniaturschweines wesentlich schneller erfolgen als in dem der Ratte. Dies würde aber dann bedeuten, daß die Effektivität von "repair"-Mechanismen bzw. die wohl enzymatische DNS-Reparationskapazität nicht nur von der Zellspezialisierung (z.B. Glia-, Leberzelle) abhängig, sondern auch innerhalb gleicher Organe (z.B. Hirn) von Species zu Species unterschiedlich ist.

Durch orale Verabreichung von MNH an Meerschweinchen konnten Druckrey *et al.* (1968) neben mesenchymalen auch epitheliale Magentumoren erzeugen. Auch mit anderen Nitrosoverbindungen wurden bei verschiedenen Species Vormagen- bzw. Magentumoren mit unterschiedlicher Incidenz induziert (Wiebecke u. Gokel, 1975). Bei diesen experimentellen Magentumoren - einschließlich der von Saito *et al.* (1970) mitgeteilten Fälle - handelt es sich im allgemeinen um maligne Blastome, die sich nur bedingt mit den hier beschriebenen Tumoren des Miniaturschweines vergleichen lassen. Am ehesten ist ein Vergleich mit den von Wiebecke *et al.* (1973) beschriebenen adenomatösen Polypen im Colon der Ratte nach Dimethylhydrazin-Verabreichung möglich, wenngleich darauf hingewiesen werden muß, daß bei den adenomatösen Polypen des Miniaturschweines fokale Atypien bzw. Infiltrationen des Polypenstiels selten vorzukommen scheinen. Die beim Miniaturschwein nach chronischer MNH-Applikation auftretenden, in der Regel exophytisch wachsenden adenomatösen Magentumoren sind als primär benigne Neoplasien aufzufassen, die allerdings hier und da cytologische Merkmale einer beginnenden malignen Entartung erkennen lassen. Die beobachteten atypischen Epithelproliferationen im Drüsenhalsbereich (Abb. 1) bestätigen die Befunde von Schauer *et al.* (1974) und dürfen als Transformationsfelder bzw. als Initialstadien der Polypentwicklung aufgefaßt werden.

Die vorliegenden Befunde sind zunächst sicher für das experimentell-vergleichende Studium der Magentumoren im Sinne eines guten Modells für die menschlichen Tumorformen und deren formale Pathogenese von Interesse. Auf

den besonderen Wert solcher Modelle hat ja kürzlich erst Grundmann (1975) hingewiesen. Darüberhinaus dürften unsere Untersuchungsergebnisse auch in ätiologischer Hinsicht von allgemeiner Bedeutung sein. Von Hugginson (1966) wird beispielsweise berichtet, daß zwischen der Häufigkeit von Gastrointestinaltumoren und bestimmten Ernährungsgewohnheiten des Menschen Zusammenhänge bestehen. Unter den möglichen diätetischen Kausalfaktoren, die in der retrospektiven Studie dieses Autors für ein gehäuftes Auftreten von Gastrointestinaltumoren verantwortlich gemacht werden, wird auch "bacon" genannt. Inzwischen ist wiederholt (Sen *et al.*, 1974) auf Vorkommen und Entstehungsweise von Nitrosaminen, die für die Entstehung von Gastrointestinaltumoren eine Rolle spielen könnten, in diesem Lebensmittel berichtet worden.

LITERATUR

- DAHME, E.: Das Schwein, ein Versuchstier für die experimentelle Arterioskleroseforschung. *Z. ges. exp. Med.* 145, 305-311 (1968)
- DRUCKREY, H., IVANKOVIC, S., PREUSSMANN, R.: Selektive Erzeugung von Hirntumoren bei Ratten durch Methylnitroharnstoff. *Naturwissenschaften* 51, 144-146 (1964)
- DRUCKREY, H., PREUSSMANN, R., IVANKOVIC, S., SCHMÄHL, D.: Organotrope carcinogene Wirkung bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD IX-Ratten. *Z. Krebsforsch.* 69, 103-201 (1967)
- DRUCKREY, H., IVANKOVIC, S., BÜCHELER, J., PREUSSMANN, R., THOMAS, C.: Erzeugung von Magen- und Pankreas-Krebs beim Meerschweinchen durch Methylnitrosoharnstoff und -urethan. *Z. Krebsforsch.* 72, 167-182 (1968)
- FOX, R.R., DIWAN, B.A., MEIER, H.: Transplacental induction of primary renal tumors in rabbits treated with 1.ethyl-1.nitrosourea. *J. Nat. Cancer Inst.* 54, 1439-1448 (1975)
- GOTHE, R., RAJEWSKY, M.F.: Persistence of O⁶-ethylguanine in rat brain DNA: Correlation with nervous system-specific carcinogenesis by ethylnitrosourea. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71, 639-643 (1974)
- GRUNDMANN, E.: Histologic types and possible initial stages in early gastric carcinoma. *Beitr. Path.* 154, 256-280 (1975)
- GÜTHERT, H., JÄCKEL, E.M., WARZOK, R.: Zur carcinogenen Wirkung von N-Äthyl-N-nitroharnstoff (ÄNH) bei Kaninchen. *Zbl. allg. Path.* 117, 461-471 (1973)
- HUGGINSON, J.: Etiological factors in gastrointestinal cancer in man. *J. Nat. Cancer Inst.* 37, 527-545 (1966)
- JÄNISCH, W., SCHREIBER, D.: Experimentelle Geschwülste des Zentralnervensystems. Jena: Fischer 1969
- KLEIHUES, P., ZÜLCH, K.J., MATSUMOTO, S., RADKE, U.: Morphology of malignant gliomas induced in rabbits by systemic application of N-methyl-N-nitrosourea. *Z. Neurol.* 198, 65-78 (1970)
- KLEIHUES, P., STAVROU, D., SCHARRER, E., BÜCHELER, J.: Alkylation of porcine nucleic acids following intravenous and intragastric application of N-methyl-N-nitrosourea. *Z. Krebsforsch.* 80, 317-322 (1973)

- KLEIHUES, P., MARGISON, G.P.: Carcinogenicity of N-methyl-N-nitrosoourea; possible role of excision repair of O⁶-methylguanin from DNA. *J. Nat. Cancer Inst.* 53, 1839-1841 (1974)
- MARSHALL, M., LYDTIN, H., KRAWIETZ, W., HAGEN, R., SCHUCKERT, G., HESS, H., ZÖLLNER, N.: Das Miniaturschwein als Versuchstier in der experimentellen Medizin. *Res. exp. Med.* 157, 300-316 (1972)
- MENNEL, H.D., IVANKOVIC, S.: Experimentelle Erzeugung von Tumoren des Nervensystems. *Hdb. Allg. Path. Bd. VI/7 S. 94-113.* Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1975
- MING, S.CH.: Tumors of the esophagus and stomach. *Atlas of Tumor Pathology Fasc. 7, AFIP (Wsh.).* 1973
- SAITO, T., INOKUCHI, K., TAKAYAMA, S., SAGIMURA, T.: Sequential morphological changes in N-Methyl-N-nitrosoguanidine carcinogenesis in the glandular stomach of rats. *J. Nat. Cancer Inst.* 44, 769-783 (1970)
- SCHAUER, A., KUNZE, E., OBER, M.: "Early carcinoma" des Magens im Tierexperiment. *Deutscher Krebskongreß, München 1974*
- SCHREIBER, D., JÄNISCH, W., WARZOK, R., TAUSCH, H.: Die Induktion von Hirn- und Rückenmarktumoren bei Kaninchen mit N-Methyl-N-nitrosoharnstoff. *Z. ges. exp. Med.* 150, 76-86 (1969)
- SEN, N.P., JYENGER, J.R., DONALDSON, B.A., PANALAKS, TH.: Effect of sodium nitrite concentration on the formation of nitrosopyrrolidine and dimethylnitrosamine in fried bacon. *J. Agr. Food Chem.* 22, 540-541 (1974)
- STAVROU, D.: Zur Morphologie und Histochemie experimentell induzierter Hirntumoren beim Kaninchen. *Z. Krebsforsch.* 73, 98-109 (1969)
- STAVROU, D.: Zur vergleichenden Pathologie der Tumoren des Nervensystems. *Zbl. Vet. Med. A* 18, 585-645 (1971)
- STAVROU, D., HAGLID, K.G.: Experimentell induzierte Tumoren des peripheren Nervensystems beim Hund. *Naturwissenschaften* 59, 317-318 (1972)
- STAVROU, D., LÜBBE, I.: Transplacentare Induktion von Nierentumoren beim Kaninchen durch Äthylnitrosoharnstoff. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 58, 545 (1974)
- STAVROU, D., HÄNICHEN, T., WRIEDT-LÜBBE, I.: Onkogene Wirkung von Äthylnitrosoharnstoff beim Kaninchen während der pränatalen Periode. *Z. Krebsforsch.* 84, 207-215 (1975a)
- STAVROU, D., DAHME, E., KALICH, J.: Experimentelle Induktion von Magentumoren beim Miniaturschwein. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 59, 555 (1975b)
- WARZOK, R., SCHNEIDER, J., SCHREIBER, D., JÄNISCH, W.: Experimental brain tumors in dogs. *Experientia* 26, 303-304 (1970)
- WIEBECKE, B., KREY, V., LÖHRS, U., EDER, M.: Morphological and autoradiographical investigations on experimental carcinogenesis and polyp development in the intestinal tract of rats and mice. *Virchows Arch. Abt. A* 360, 179-193 (1973)
- WIEBECKE, B., GOKEL, J.M.: Experimentelle Cancerogenese des Magen-Darm-Kanals A. Magen. *Hdb. Allg. Path. Bd. VI/7 S. 693-730* Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1975
- WRIEDT-LÜBE, I.: Morphologische und immunologische Untersuchungen an experimentellen Hirntumoren des Kaninchens. *Diss. München 1974*

Eingegangen am 10. Juni 1976