

## Elektronenmikroskopische Befunde mit Rutheniumrot am juxtaglomerulären Apparat

L. COSSEL

Pathologisches Institut der Karl Marx-Universität Leipzig

Eingegangen am 4. Februar 1971

### Electron Microscopic Findings Using Ruthenium Red in the Juxtaglomerular Apparatus

*Summary.* The juxtaglomerular apparatus in the kidneys of rats was studied by electron microscopy using ruthenium red (block contrasting). The studies showed an intense, partly homogeneous and partly granular-filamentous contrasting of the intercellular spaces of the juxtaglomerular apparatus. The tight junctions and basement membranes in these intercellular spaces were included in the contrasting. The deposit of contrast-rich material was found to extend all the way from the junctions of endothelial cells of the afferent arteriole to the intercellular gaps between cells of the macula densa. Contrasting is interpreted as representing a morphological identification of material transport (tracer effect) in the intercellular spaces of the juxtaglomerular apparatus. Contrasting also provides ultrahistochemical evidence of acid mucosubstances in these intercellular spaces. This may be considered to be proof that acid mucosubstances participate in material transport. When interpreted in terms of transport or carrier mechanism, continuous ruthenium red contrasting of intercellular spaces also shows the course that may be taken by the secretion (renin) produced and given off by the granular epitheloid cells. Thus, secretion discharged into the intercellular spaces may be carried to the nerve fibers and smooth muscle cells and, for final resorption, be transported to the venous or lymphatic systems. The results obtained favor mutual humoral stimulation and regulation of the structural elements of the juxtaglomerular apparatus taking place within the intercellular spaces. Our findings may be considered to provide a morphological basis of a humorally controlled feedback mechanism between the composition of the distal tubular fluid in the macula densa region and the magnitude the preglomerular bloodflow; thus, it corroborates the macula densa theory on the function of the juxtaglomerular apparatus.

*Zusammenfassung.* Elektronenmikroskopische Untersuchungen mit Rutheniumrot an Nieren von Ratten ergeben eine kontinuierliche intensive Kontrastierung der intercellulären Räume einschließlich dort vorhandener „tight junctions“ und Basalmembranen im Bereich des juxtaglomerulären Apparates von den Funktionen der Endothelien des Vas afferens bis zu den Interzellularfugen zwischen den Macula-densa-Epithelien. Diese Kontrastierung wird als morphologische Kennzeichnung des Stofftransportes (Tracereffekt) und an ihm strukturell (als „Transportschiene“) beteiligter saurer Mucosubstanzen in den intercellulären Räumen des juxtaglomerulären Apparates gedeutet. Bei dieser Deutung zeigt die Kontrastierung die Möglichkeit einer humoralen, in den intercellulären Räumen ablaufenden gegenseitigen Beeinflussung und Regelung der Strukturelemente des juxtaglomerulären Apparates. Die Befunde können als morphologische Grundlage eines humoral gesteuerten Rückkopplungsmechanismus zwischen der Zusammensetzung der distalen Tubulusflüssigkeit im Macula-densa-Bereich und der Größe des präglomerulären Blutstromes betrachtet werden. Sie stützen damit die Macula-densa-Theorie von der Funktionsweise des juxtaglomerulären Apparates.

Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen an der Niere mit dem Metallkomplex Rutheniumrot  $[(\text{NH}_3)_5\text{-Ru-O-Ru}(\text{NH}_3)_4\text{-O-Ru}(\text{NH}_3)_6^+]$  (Cossel

u. Mitarb., 1971) wurden auch Befunde am juxtaglomerulären Apparat erhoben. Diese Befunde werden im folgenden mitgeteilt, und ihre Bedeutung für die Kenntnis von der Funktionsweise dieser Verknüpfungsstelle zwischen dem Gefäßpol des Glomerulum und dem Tubulus contortus II wird erörtert.

### Material und Methode

170 g schwere, junge männliche Wistaratten wurden in Äthernarkose laparotomiert. Nierengewebe wurde entnommen und innerhalb von 30–90 sec auf einer gekühlten Glasplatte in etwa 1 mm<sup>3</sup> messende Stückchen zerteilt und in eisgekühlte bei einem pH von 7,2 gepufferte Glutaraldehydlösung, bestehend aus 5,6 ml 36,4%igem Glutaraldehyd, 1,5 g Saccharose, 50 ml 0,1 M Natriumkakodylat und 100 mg Rutheniumrot für 45 min eingelegt. Danach 15 min Spülung in einer Lösung von 5 g Saccharose, 100 ml 0,1 M Natriumkakodylat und 100 mg Rutheniumrot. Anschließend Nachfixation für die Dauer von 2 Std im Dunkeln in einer 2%igen Osmiumtetroxyd/Rutheniumrotlösung. Entwässern in steigender Acetonreihe unter Zufügung von 0,5% Phosphorwolframsäure und 0,5% Uranylacetat auf der Stufe des 70%igen Acetons. Die Einbettung erfolgte in Mikropal. Polymerisation im Brutschrank bei 60° C. Zur Anfertigung der Ultradünnschnitte diente ein Ultramikrotom Om U2 der Firma Reichert (Wien). Die elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte in einem elektromagnetischen 100 kV Elektronenmikroskop SEM 3-2 vom Werk für Fernsehelektronik Berlin Oberschöneweide.

### Befunde

Die Anwendung von Rutheniumrot führt im Bereich des juxtaglomerulären Apparates zu einer intensiven, herdförmig unterschiedlich ausgebildeten Kontrastierung der extra (inter)-cellulären Räume einschließlich dort vorhandener Basalmembranen durch eine teils homogene, teils granulär-fädige Substanz (Abb. 1–6). Durchmesser bzw. Dicke der kontrastreichen Granula und Fäden liegen zwischen 30 und 160 Å. Die kleinsten der zwischen den Granula und Fäden vorhandenen elektronenoptisch leeren Bezirke („Poren“) weisen Durchmesser von ca. 30 Å auf. Diese Kontrastierung findet sich in den 100–150 Å breiten Spalträumen (Junktionen) zwischen den Endothelien einschließlich der „tight junctions“ (Abb. 1, 4, 5), in den subendothelialen (Abb. 1–5) sowie intercellulären Räumen zwischen epitheloiden granulierten Zellen und glatten Muskelzellen (Abb. 1, 4–6) in der Wand des Vas afferens und im angrenzenden interstitiellen Raum zwischen dem Vas afferens und den Tubuluszellen der Macula densa (Abb. 1–6). Weiter ist das kontrastreiche Material zwischen den Macula-Epithelien (Abb. 1–3) und innerhalb der durch Einfaltungen der basalen Zellmembranen der Tubuluszellen entstandenen Räume nachweisbar (Abb. 1).

Abb. 1. Übersichtsbild des juxtaglomerulären Apparates mit kontinuierlicher Kontrastierung der Junktionen (Pfeile) zwischen den Endothelien (*e*), der subendothelialen und intercellulären Räume (gestrichelte Pfeile) zwischen Endothelien (*e*), glatten Muskelzellen (*MZ*) und epitheloiden granulierten Zellen (*EpZ*) in der Wand des Vas afferens, im interstitiellen Raum (*R*) und zwischen den Macula-densa-Epithelien (*ME*) (punktierte Pfeile) einschließlich in diesen Räumen vorhandener Basalmembranen. Die zusammenhängende intercelluläre Kontrastierung hat Kontakt mit der Lichtung (*L*) des Vas afferens (*K1*) und der Tubuluslichtung (*TL*) im Bereich der Macula densa (*K2*). × Kontrastierung der basalen Einfaltungen von Tubuluszellen. *GZ* Goormaghtighsche Zellen und weitere Zellausläufer (*ZA*) im interstitiellen Raum (*R*) zwischen Vas afferens und Tubuluszellen der Macula densa. *ZK* Zellkerne. *Gr* Granula. *RB* Erythrocyten. Niere, Ratte. 7200:1





Abb. 2

Die bei Präparation ohne Rutheniumrot in den genannten intercellulären Räumen vorhandenen Basalmembranen treten in der Regel durch eine besonders dichte und intensive Kontrastierung hervor (Abb. 2, 4—6). Dies gilt für die subendothelialen (Abb. 2, 4, 5) und intercellulären Basalmembranen (Abb. 2, 4—6) in der Wand des Vas afferens wie für die Basalmembranen im interstitiellen Raum einschließlich der tubulären Basalmembranen (Abb. 2, 3, 5, 6). Innerhalb des interstitiellen Raumes zwischen der Wand des Vas afferens und den Macula-densa-Zellen der angrenzenden Tubuli liegt die kontrastreiche granulär-fädige bzw. homogene Substanz zwischen den Goormaghtighschen Zellen (ungranulierten Polkissenzellen) (Abb. 1—3), adrenergischen Nervenfasern (Abb. 6) und Ausläufern anderer Zellen (Mesenchymzellen) (Abb. 1—6) sowie in Form einer schmalen Schicht auf deren Oberflächen (Abb. 2, 4, 6). Die Kontrastierung innerhalb der genannten intercellulären Räume ist kontinuierlich (Abb. 1, vgl. auch 2—6). Sie hat einerseits Kontakt mit der Lichtung der Vasa afferentia (s. K1 in den Abb. 1, 4, 5) und andererseits mit dem Lumen der Tubuli im Bereich der Macula densa (s. K2 in den Abb. 1—3). — Eine kontrastreiche Schicht auf der luminalen, dem Blutstrom zugewandten Oberfläche der Endothelzellen (endo-endothelialer Film) der Vasa afferentia wurde nur vereinzelt und andeutungsweise beobachtet (Abb. 5). Auch eine eindeutige intracelluläre Kontrastierung mit Rutheniumrot war nicht nachweisbar. Bei gelegentlich vorhandenen, scheinbar intracellulär liegenden kontrastreichen Herden handelt es sich offensichtlich um Anschnitte von umschriebenen Einstülpungen der Zelloberflächen. Die Granula der epitheloiden Zellen sind nicht kontrastiert (Abb. 1—6).

### Diskussion

Die am juxtaglomerulären Apparat mit Rutheniumrot erhobenen Befunde entsprechen an anderen Stellen der Niere (Groniowski u. Mitarb., 1969; Fowler, 1970; Cossel u. Mitarb., 1971) und in anderen Organen bzw. Geweben (ausführliche Literaturangaben s. bei Cossel, 1971a) bei Verwendung dieses Stoffes erzielten Untersuchungsergebnissen, wonach intercelluläre Räume und eine unterschiedlich breite Schicht auf den Zelloberflächen in allerdings sehr wechselnder Ausbildung kontrastiert werden. Auf die möglichen Ursachen für die unregelmäßige, stark wechselnde Ausbildung der mit Rutheniumrot gewonnenen Befunde soll an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden (ausführliche Literaturangaben hierzu s. Cossel, 1971a).

Abb. 2. Kontinuierliche Kontrastierung der intercellulären Räume einschließlich dort vorhandener Basalmembranen (*Bm*) im Bereich des juxtaglomerulären Apparates. — Kontrastreiches, teils homogenes, teils granulär-fädiges Material im subendothelialen (Pfeile) und interstitiellen Raum (*R*) (unterbrochene Pfeile) und zwischen den Epithelien der Macula densa (*ME*) (punktierte Pfeile). *K2* Kontakt des kontrastreichen Materials mit der Tubuluslichtung (*TL*). *L* Lichtung, *e* endotheliale Begrenzung des Vas afferens. *EpZ* epitheloide Zellen mit Granula (*Gr*). *ZA* Zellanschnitte (Goormaghtighsche Zellen?) im interstitiellen Raum (*R*) mit kontrastierter Schicht auf den Oberflächen ( $\times$ ), *tBm* kontrastierte tubuläre Basalmembran. — *ZK* Zellkerne. *M* Mitochondrien. *Rb* Ribosome. *Er* endoplasmatisches Reticulum. Niere, Ratte. 21600:1



Abb. 3. Juxtaglomerulärer Apparat mit kontrastreicher, teils homogener, teils granulär-fädiger Substanz im subendothelialen Raum (Pfeile), im interstitiellen Raum (*R*) zwischen Goormaghtighschen Zellen (*GZ*) sowie Zellanschnitten (*ZA*) (gestrichelte Pfeile) und zwischen den Epithelien der Macula densa (*ME*) (punktierte Pfeile). *K2* Kontakt der kontinuierlichen intercellulären Kontrastierung mit der Tubuluslichtung (*TL*). — *tBm* kontrastierte tubuläre Basalmembran, *L* Lichtung, *e* endotheliale Begrenzung des Vas afferens. *EpZ* epitheloide Zelle mit Granula (*Gr*). Niere, Ratte. 13600:1

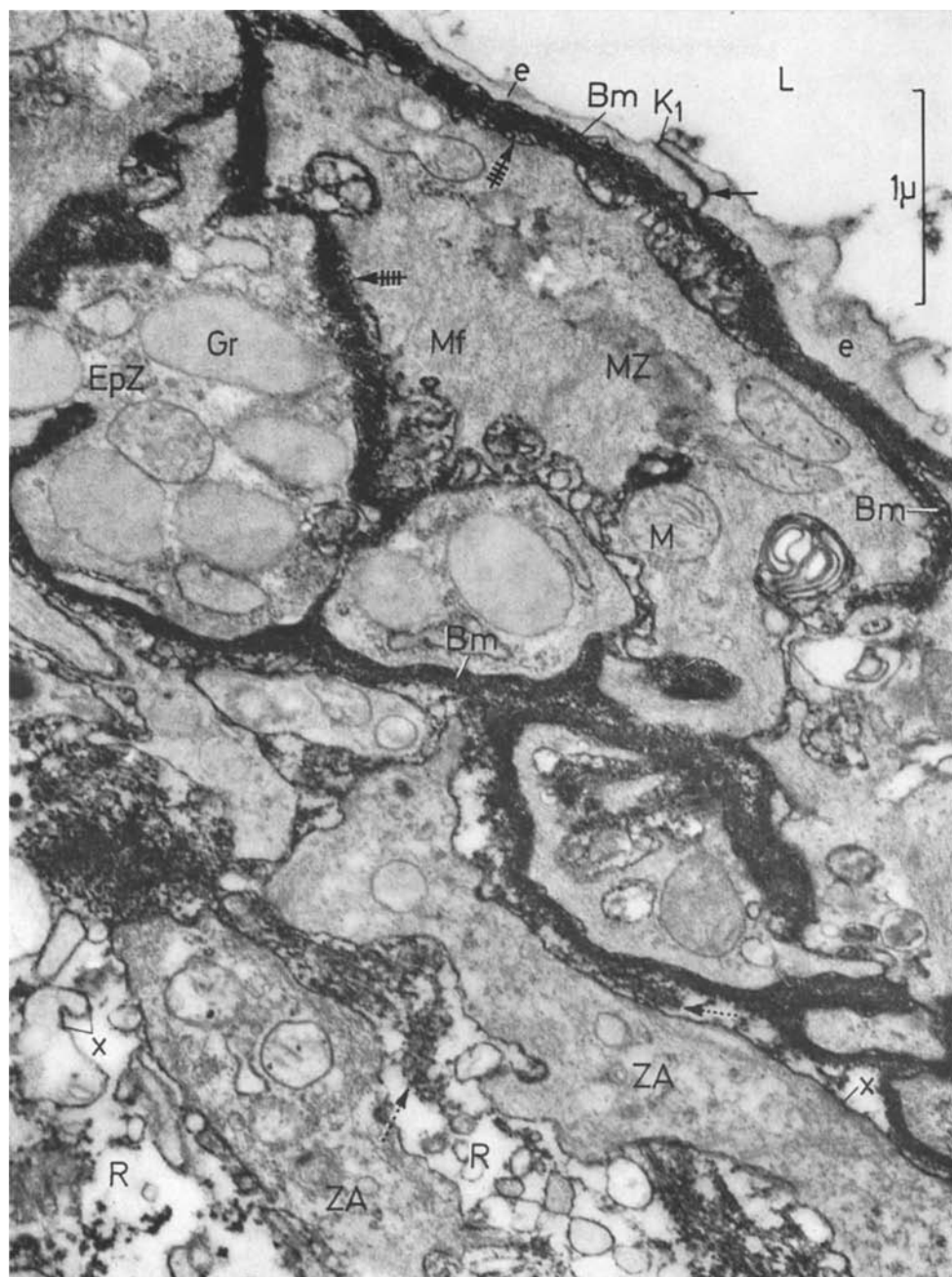


Abb. 4. Ausschnitt aus dem juxtaglomerulären Apparat mit teils homogener, teils granulär-fädiger Substanz in den Junctionen (Pfeil) zwischen den Endothelien (*e*), im subendothelialen und intercellulären Raum zwischen den Endothelien (*e*), glatten Muskelzellen (*MZ*) und epitheloiden Zellen (*EpZ*) in der Wand des Vas afferens (gestrichelte Pfeile) sowie im angrenzenden interstitiellen Raum (*R*) (punktierte Pfeile) zwischen mehreren Zellanschnitten (*ZA*). Besonders intensive Kontrastierung der Basalmembranen (*Bm*) in den intercellulären Räumen. *K1* Kontakt der kontinuierlichen interzellulären Kontrastierung mit der Lichtung (*L*) des Vas afferens. *x* schmale kontrastierte Schicht auf Oberflächen im interstitiellen Raum (*R*) gelegener Zellen. — *Mf* Myofibrillen in glatten Muskelzellen, *Gr* Granula der epitheloiden Zellen, *M* Mitochondrien. Niere, Ratte. 28800:1



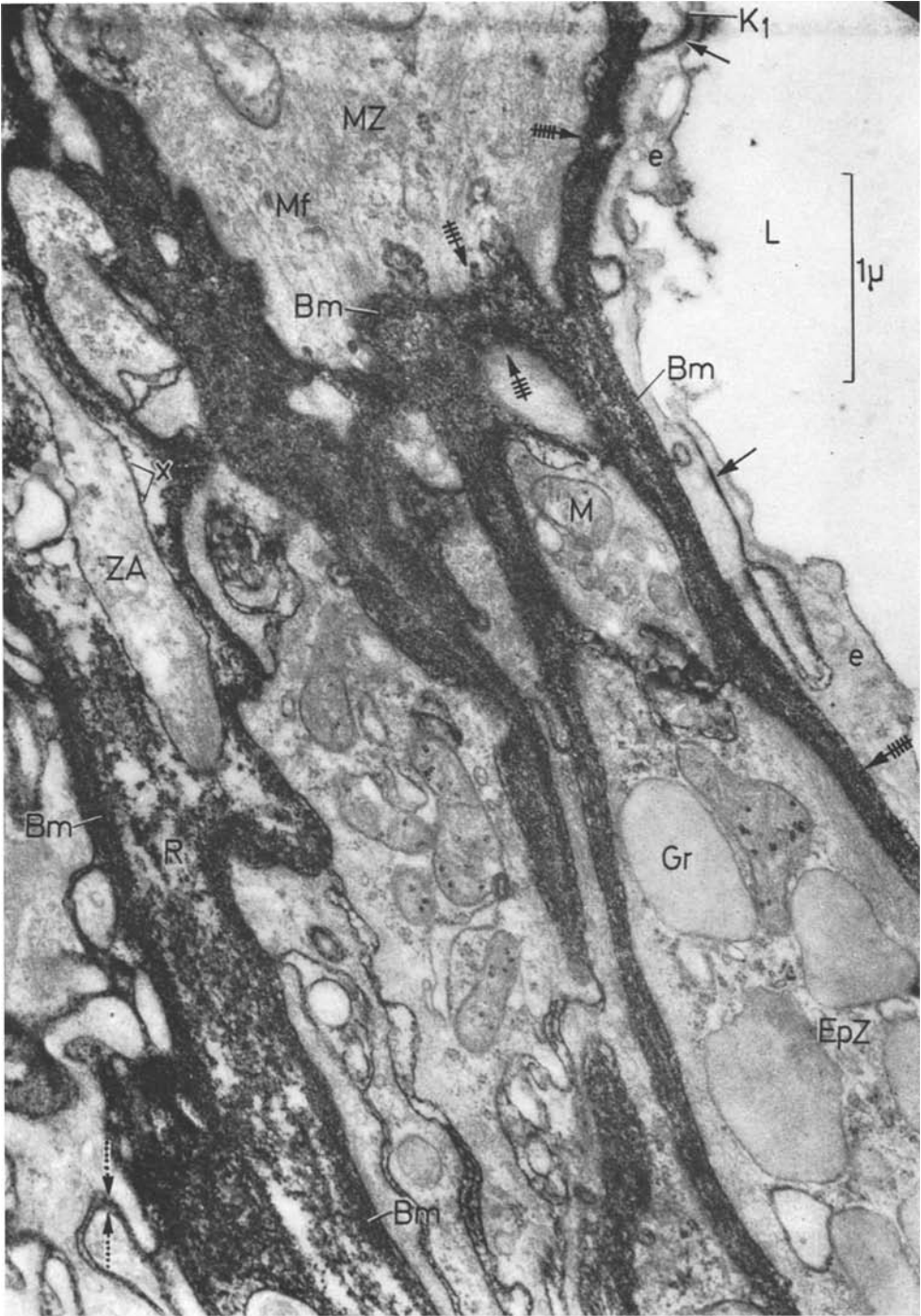


Abb. 5



Rutheniumrot gilt in der Histochemie als Mittel zur selektiven Anfärbung bzw. Kontrastierung saurer Mucosubstanzen (saure Mucopolysaccharide, sialinsäurehaltige Glykoproteine; Lit. bei Luft, 1966; Geyer, 1969; Behnke u. Zelande, 1970). Sein Färbe- bzw. Kontrastierungsmechanismus soll in einer elektrostatischen Bindung des farbigen Komplexkation an Säuregruppen großmolekularer Stoffe bestehen. Eine strenge Nachweisspezifität der Rutheniumrotreaktion liegt also nicht vor. Sofern man die histochemische Reaktionsfähigkeit des Rutheniumrot mit Mucosubstanzen voraussetzt, sprechen die bisher mit diesem Stoff erzielten Befunde für das Vorhandensein mit konventionellen elektronenmikroskopischen Präparationsmethoden bisher nicht eindeutig nachweisbarer Mucosubstanzen an den Zelloberflächen und in den intercellulären Räumen der Gewebe. Je nach ihrer Lokalisation und wohl auch unterschiedlichen chemischen Zusammensetzung können diese Substanzen, die im Bereich der engen cellulären Verbindungen („tight junctions“) und Basalmembranen in besonders starker Dichte vorhanden sind, in den vorliegenden Befunden als das morphologische Substrat der interendothelialen Kitt- und subendothelialen sowie intercellulären Grundsubstanz in der Wand des Vas afferens, im angrenzenden interstitiellen Raum und zwischen den Tubulusepithelien gedeutet werden (Abb. 1—6).

In den Mitteilungen über mit Rutheniumrot erzielte elektronenmikroskopische Befunde wurden — von eigenen Publikationen (Cossel u. Mitarb., 1969, 1971; Cossel, 1971 a, b) abgesehen — bisher nie Zweifel daran geäußert, daß diesen Befunden eine histochemische Reaktion des Rutheniumrot mit Mucosubstanzen zugrunde liegt (Geyer, 1969; Behnke u. Zelande, 1970). Es erhebt sich jedoch bei der Beurteilung der Ergebnisse aller derzeit angewandter elektronenmikroskopisch-histochemischer mit Schwermetallatomen arbeitender Nachweisverfahren für Mucosubstanzen die grundsätzliche Frage, ob und in welchem Ausmaß die erzielten Befunde lediglich durch unregelmäßiges Eindringen des kontrastgebenden Mittels in tatsächlich strukturfreie, d.h. in vivo flüssigkeitsgefüllte intercelluläre Räume und mangelhaftes, herdförmig unterschiedliches Herauslösen bei der Wässerung, zum Beispiel infolge molekularer capillärer Adhäsion oder elektrischer Oberflächenaktivität zustande kommen. In diesem Falle würde eine histochemische Reaktion des Rutheniumrot mit Markierung einer im Gewebe als permanenter Strukturkomponente vorhandenen Substanz überhaupt nicht oder nur zum Teil vorliegen. Unter diesem Gesichtspunkt sprächen die Befunde im Gegenteil dafür, daß die Zelloberflächen und intercellulären Räume frei von Struktur sind. Bei einer derartigen Deutung könnte das Rutheniumrot, wie das Lanthan-Nitrat<sup>+</sup>, das gleiche elektronenmikroskopische Befunde hervorruft, als

Abb. 5. Ausschnitt aus dem juxtaglomerulären Apparat mit teils homogener, teils granulär-fädiger Substanz in den Junctionen (Pfeile) zwischen den Endothelien (*e*), im subendothelialen und intercellulären Raum zwischen den Endothelien (*e*), glatten Muskelzellen (*MZ*) und epitheloiden Zellen (*EpZ*) in der Wand des Vas afferens (gestrichelte Pfeile), im angrenzenden interstitiellen Raum (*R*) zwischen Zellanschnitten (*ZA*) sowie zwischen angrenzenden Tubuluszellen (punktierte Pfeile). Besonders dichte Kontrastierung der Basalmembranen (*Bm*). *KI* Kontaktstellen der zusammenhängenden intercellulären Kontrastierung mit der Lichtung (*L*) des Vas afferens. *Mf* Myofibrillen, *Gr* Granula in epitheloiden Zellen. *M* Mitochondrien.

Niere, Ratte. 28800:1

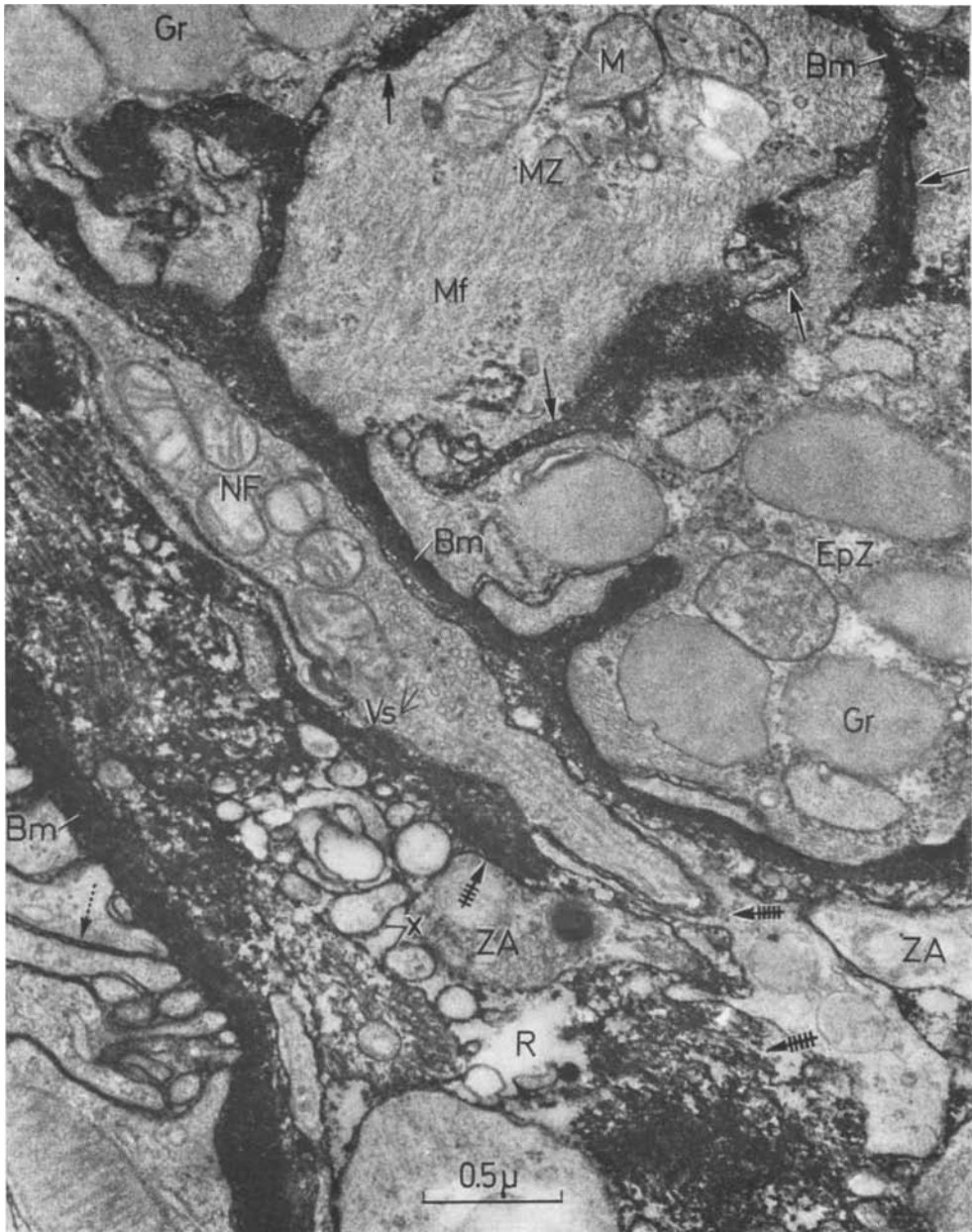


Abb. 6. Ausschnitt aus dem juxtaglomerulären Apparat mit teils homogener, teils granulär-fädiger Substanz im intercellulären Raum (Pfeile) zwischen glatten Muskelzellen (*MZ*) und epitheloiden Zellen (*EpZ*) sowie im interstitiellen Raum (*R*) (gestrichelte Pfeile) zwischen Zellanschnitten (*ZA*) und adrenergischen Nervenfasern (*NF*). Der punktierte Pfeil zeigt auf kontrastreiches Material zwischen angrenzenden Tubuluszellen bzw. in deren basalen Einfaltungen.  $\times$  schmale kontrastierte Schicht auf Oberflächen von Zellanschnitten im interstitiellen Raum. *Bm* besonders dicht kontrastierte Basalmembranen. *Mf* Myofibrillen, *Gr* spezifische Granula, *M* Mitochondrien. *Vs* Vesikel innerhalb der Nervenfasern. Niere, Ratte.

37200:1

ein Spurenfinder (Tracer; vgl. Revel u. Karnovsky, 1967) für den Stofftransport innerhalb intercellulärer Räume angesehen und angewandt werden. Da nun in ihrem Polymerisationsgrad funktionell veränderliche Mucosubstanzen im intercellulären Raum, auch als Bestandteil der mesenchymalen Grundsubstanz, offensichtlich mit dem Stofftransport innerhalb dieser Räume im Hinblick auf Durchlässigkeit, Geschwindigkeit und Regulation zu tun haben (nach biochemischen mit Hilfe von Radioisotopen gewonnenen Untersuchungsergebnissen von Hauss u. Mitarb., (1968) sollen sie als „Schiene“ für den Stofftransport und biologische Membranen fungieren), sind die beiden genannten Deutungsmöglichkeiten miteinander vereinbar. So ist es sehr gut denkbar, daß die Rutheniumrotkontrastierung sowohl den Nachweis für intercellulär als Strukturkomponente vorliegende Mucosubstanzen als auch eine Kennzeichnung der Wege des Stofftransportes im Gewebe (Tracereffekt) darstellt.

Die kontinuierliche Kontrastierung der intercellulären Räume im Bereich des juxtaglomerulären Apparates von den Junktionen der Endothelien des Vas afferens bis zu den Intercellularfugen zwischen den Macula-densa-Epithelien (Abb. 1, vgl. auch Abb. 2—6) führt bei einer solchen Deutung zu der Folgerung, daß die Zusammensetzung der in diesen Räumen vorhandenen Gewebsflüssigkeit (insbesondere deren Ionenkonzentration) sowohl vom Inhalt des Tubulus contortus II als auch von der Blutflüssigkeit im Vas afferens her verändert werden kann und alle, d.h. sowohl die rezeptiven und reizleitenden (Macula-densa-Zellen, Endothelzellen, adrenergische Nervenfasern) als auch die aktiv sezernierenden (epitheloiden Zellen, Goormaghtighschen Zellen (?)) und als Erfolgsorgan (glatte Muskelzellen) tätigen Bestandteile des juxtaglomerulären Apparates humoral über die intercellulären Räume in ihrer Funktion beeinflußt und geregelt werden können. Die kontinuierliche Rutheniumrotkontrastierung der intercellulären Räume zeigt bei ihrer Interpretation als Tracereffekt auch den Weg an, den das von den epitheloiden granulären Zellen produzierte und abgegebene Sekret (Renin) nehmen kann. Die Abgabe von Sekret erfolgt danach in Bestätigung experimenteller Untersuchungsergebnisse von Lee u. Mitarb. (1966) und Cain u. Kraus (1969, 1970) in die intercellulären Räume, in denen es zu den Nervenfasern und glatten Muskelzellen weitergeleitet und bis zur Resorption in das Venen- oder Lymphsystem transportiert werden kann. Abgesehen von der Möglichkeit eines Transportes durch die Endothelzellen hindurch (Cytopenmpsis) wäre bei einer Molekülgröße der Sekretanteile von unter 30 Å theoretisch auch ein Einstrom in die Arterienlichtung durch die Junktionen möglich. Nach Cain u. Kraus (1969) soll die Sekretion des Renin nicht direkt in die Arteriolenlichtung erfolgen.

Nach der Macula-densa-Theorie von der Funktionsweise des juxtaglomerulären Apparates beeinflußt die Zusammensetzung des distalen Tubulusinhaltes im Bereich der Macula densa über eine Stimulierung der epitheloiden Zellen die glomeruläre Filtrationsrate (Guyton, 1963; Dévényi u. Mitarb., 1965; Reeves u. Sommers, 1965; Gomba u. Mitarb., 1967). Nach Thureau u. Mitarb. (1965, 1966; vgl. auch Leyssac, 1967) ist dabei die Natriumkonzentration an der Macula densa die Regelgröße für die Sekret (Renin)-Abgabe aus den epitheloiden Zellen und damit über die Wirkung auf die glatten Muskelzellen der Regulator für den Tonus des Vas afferens und für das Ausmaß der Filtration. Änderungen der

Natriumkonzentration des distalen Tubulusinhaltes sollen nach Thureau von den Macula-densa-Epithelien an die zur Reninsekretion befähigten Zellen weitergeleitet werden.

Für diese Sonderleistung der Macula-densa-Epithelien konnten jedoch bisher morphologisch keine eindeutigen Beweise erbracht werden (Biava u. West, 1966; Cain u. Kraus, 1970). Elektronenmikroskopisch sind Protoplasmabrücken zwischen Macula-densa-Zellen und den epitheloiden Zellen nicht beobachtet worden. Die einzelnen Zellen des juxtaglomerulären Apparates erscheinen bei üblicher Präparation im elektronenmikroskopischen Bild durch Basalmembranen voneinander getrennt (ausführliche Literaturangaben s. bei Caesar, 1969; Cain u. Kraus, 1969). Legt man den mit Rutheniumrot am juxtaglomerulären Apparat erhobenen Befunden einen Tracereffekt zugrunde, so sind morphologische Merkmale einer vermittelnden Tätigkeit zwischen Tubulus und Vas afferens an den Macula-densa-Epithelien auch nicht notwendig, da die Weiterleitung über die Information der Natriumkonzentration der distalen Tubulusflüssigkeit an die Goormaghtighschen und epitheloiden Zellen über die intercellulären Räume erfolgen kann. Inwieweit dabei in diesen Räumen als Strukturkomponente vorhandene großmolekulare Substanzen (saure Mucosubstanzen), besonders im Bereich der "tight junctions" und der Basalmembranen, durch Änderung ihres Polymerisationsgrades in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der intercellulären Gewebsflüssigkeit und dem Funktionszustand der anliegenden Zellen diese Weiterleitung regulierend beeinflussen können, bleibt zunächst eine Frage.

### Literatur

- Behnke, O., Zander, T.: Preservation of intercellular substances by cationic dye alcian blue preparative procedure for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **31**, 424—438 (1970).
- Biava, C., West, M.: Fine structure of normal human juxtaglomerular cells. I. General structure and intercellular relationships. *Amer. J. Path.* **49**, 679—721 (1966).
- Caesar, R.: Gefäße und Herz im elektronenmikroskopischen Bild. In: *Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie begr. v. E. Kaufmann*, 11./12. Aufl., hrsg. v. M. Staemmler, Erg.-Bd. I, 1. Hälfte, 4. Liefg. S. 701—812. Berlin: De Gruyter 1969.
- Cain, H., Kraus, B.: Struktur und Funktion des juxtaglomerulären Apparates der Niere unter geordneten Bedingungen. *Dtsch. med. Wschr.* **94**, 2173—2180 (1969).
- — Der juxtaglomeruläre Apparat bei verschiedenen pathologischen Prozessen. *Dtsch. med. Wschr.* **95**, 282—288 (1970).
- Cossel, L.: Zur Lokalisation des Zusammenhanges zwischen Inhalt und Durchlässigkeit der Blutgefäße. In: *Fortschritte der Hämatologie*, Bd. 3, hrsg. v. E. Perlick, W. Plenert u. O. Prokop. Leipzig: Barth 1971 a (im Druck).
- Probleme der Leberstruktur im Lichte neuer elektronenmikroskopisch-histochemischer Befunde. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **114**, S. 377—397 (1971 b).
- Weidenbach, M., Schulz, B.: Elektronenmikroskopische Befunde an der Leber bei Anwendung von Rutheniumrot. *Beitr. path. Anat.* **139**, 381—408 (1969).
- — Elektronenmikroskopische Befunde an der Niere bei Anwendung von Rutheniumrot. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **114**, S. 554—571 (1971).
- Dévényi, I., Schill, H., Tessmann, D.: Enzymhistochemische und histologische Untersuchungen am Nierenautotransplantat der Ratte zur Frage der Abhängigkeit der Aktivität des juxtaglomerulären Zellapparates von der Nierenfunktion. *Virchows Arch. path. Anat.* **338**, 315—318 (1965).
- Fowler, B. A.: Ruthenium red staining of rat glomerulus. Perfusion of ruthenium red into normal and nephrotic rat kidney. *Histochemie* **22**, 155—162 (1970).
- Geyer, G.: *Ultrahistochemie. Histochemische Arbeitsvorschriften für die Elektronenmikroskopie.* Fischer: Jena 1969.

- Gomba, S., Soltész, B., Szokoly, V.: Studies on the histochemistry of phosphatase enzymes in the juxtaglomerular complex. *Histochemie* **8**, 264—274 (1967).
- Groniowski, J., Biczyskowa, W., Walski, M.: Electron microscope studies on the surface coat of the nephron. *J. Cell Biol.* **40**, 585—601 (1969).
- Guyton, A. C.: Theory for autoregulation of glomerular filtration rate and blood flow in each nephron by the juxtaglomerular apparatus. *Physiologists* **6**, 194 (1963).
- Hauss, W. H., Junge-Hülsing, G., Gerlach, U.: Die unspezifischen Mesenchymerkrankungen. Stuttgart: Thieme 1968.
- Lee, J. C., Hurley, S., Hopper, J.: Secretory activity of the juxtaglomerular cells of the mouse. Morphology and enzyme histochemical observations. *Lab. Invest.* **15**, 1459 (1966).
- Leyssac, P.: Intrarenal function of angiotensin. *Fed. Proc.* **26**, 55 (1967).
- Luft, J. H.: Fine structure of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Fed. Proc.* **25**, 1773—1783 (1966).
- Reeves, G., Sommers, S. C.: Sensivity of the renal macula densa to urinary sodium. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **120**, 324—326 (1965).
- Revel, J. P., Karnovsky, M. J.: Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. *J. Cell Biol.* **33**, C7 (1967).
- Schnermann, J., Nagel, W., Thureau, K.: Die frühdistale Natriumkonzentration in Ratten-nieren nach renaler Ischämie und hämorrhagischer Hypotension. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **287**, 296 (1966).
- Thureau, K.: Die intrarenale Rolle des Renin-Angiotensin-Systems für die Regulation des Glomerulumfiltrates und der Natriumausscheidung. In: Aktuelle Probleme der Nephrologie. IV. Symposion der Ges. für Nephrologie 1965, hrsg. v. Fr. Krück, S. 75. Berlin-Heidelberg-New-York: Springer 1966.
- Influence of sodium concentration of macula densa cells on tubular sodium load. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **139**, 388 (1966).
- Schnermann, J.: Die Natriumkonzentration an den Macula-densa-Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat. *Klin. Wschr.* **43**, 410—413 (1965).

Prof. Dr. Lothar Cossel  
Pathologisches Institut der  
Karl Marx-Universität  
DDR-701 Leipzig  
Liebigstr. 26  
Deutschland