

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Verhalten glatter Muskelzellen in der Arterienwand unter verschiedenen experimentellen Bedingungen*

K.-P. Backwinkel, H. Themann, G. Schmitt und W.H. Hauss

Medizinische Klinik (Direktor: Prof. Dr. W.H. Hauss)
und Abteilung für Medizinische Ultrastrukturforschung (Vorstand: Prof. Dr. H. Themann)
im Institut für Medizinische Physik (Direktor: Prof. Dr. G. Pfefferkorn)
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Eingegangen am 18. Dezember 1972

Electron Microscope Investigations of Reactive Transformation of Smooth Muscle Cells in the Arterial Wall under Experimental Conditions

Summary. Morphologic studies with the electron microscope were undertaken to point out the role of smooth muscle cells in experimental hypertension, hypercholesterinemia, and transplantation. Fine structural alterations are described and compared. It is shown that smooth muscle cells are able to transform under experimental conditions by loss of their characteristic morphological features. It is assumed that smooth muscle cells play an important role in the formation of pathologic intimal thickenings by migration into the subendothelial space and producing intercellular substances such as acid mucopolysaccharides, collagen and elastic. The smooth muscle cell is also considered to be capable of conversion into foam cell during lipid accumulation in the arterial wall following hypercholesterinemia. Smooth muscle cells are also important in the reparation of alterations in aortic grafts and hosts caused by ischemic and immunological reactions.

Zusammenfassung. Das Verhalten glatter Muskelzellen unter experimenteller Hypertonie, Hypercholesterinämie und Transplantation wird untersucht und verglichen. Glatte Muskelzellen können sich in Abhängigkeit von den experimentellen Bedingungen transformieren und die charakteristischen morphologischen Merkmale glatter Muskelzellen weitgehend verlieren. Es wird aufgezeigt, daß die in pathologisch veränderten Gefäßarealen anzutreffenden Zellen von glatten Muskelzellen abstammen.

Elektronenmikroskopische und immunfluoreszenzmikroskopische (Knieriem, 1970) Untersuchungen haben die lichtmikroskopisch erhobenen Befunde bestätigt, daß die arterielle Gefäßwand neben mesenchymogenen fibrillenbildenden Zellen, die man als Histiocyten oder Fibroblasten ansprechen kann (Doerr, 1970), als celluläre Elemente im wesentlichen glatte Muskelzellen enthält. Ihnen kommen physiologischerweise mannigfaltige Aufgaben und Funktionen zu. Aufgrund ihrer Fähigkeit zur Kontraktion sind sie für den Tonus der Gefäßwand verantwortlich (Jipp und Seifert, 1963). Sie können als multifunktionale Mesenchymzellen die intercellulären Zwischensubstanzen wie saure Mucopolysaccharide, Kollagen und Elastin synthetisieren (Knieriem, 1967). Darüber hinaus ist bekannt, daß sie ihren ursprünglichen Ort in der Media verlassen und durch die Fenster in der Elastica

* Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

interna den subendothelialen Raum invadieren können, um hier am Aufbau arteriosklerotischer und atherosklerotischer Plaques mitzuwirken (Backwinkel *et al.*, 1970; Hauss *et al.*, 1969). Die glatte Muskelzelle darf von ihren Funktionen und Leistungen her als multifunktionale Zelle angesehen werden, die in Abhängigkeit von der jeweiligen pathologischen Noxe reagiert. Sie nimmt eine zentrale Stellung im Ablauf zahlreicher pathologischer Prozesse ein und ist in entscheidendem Maße am Metabolismus der extracellulären Substanzen auch hinsichtlich ihrer qualitativen und quantitativen Zusammensetzung beteiligt. In der vorliegenden Arbeit sollen Transformationen glatter Muskelzellen unter verschiedenen experimentellen Bedingungen aufgezeigt werden.

Material und Methode

1. Die renale experimentelle Hypertonie wurde bei 10 Kaninchen mittels der Zellophanmethode nach Page (1939) erzeugt. Etwa 16 Tage post operationem fand sich eine arterielle Hypertension mit systolischen Blutdruckwerten zwischen 160 und 180 mm Hg. Die Blutdruckmessung wurde in leichter Nembutalnarkose mit dem Infratonsystem nach Boucke-Brecht (1953) vorgenommen.

Nach 4–12wöchiger Hochdruckdauer wurden die Tiere mit Nembutal® narkotisiert und das Herz operativ freigelegt. Die Aorta wurde an ihrer Wurzel eröffnet und die Coronararterien unter leichtem Druck von ihren Ostien aus mit eisgekühlter 2%iger Gluturaldehyd-Phosphatpufferlösung (pH 7,2) perfundiert.

2. Die experimentelle Hypercholesterinämie wurde bei 2 Kaninchen¹ erzeugt, indem diese über 3 Jahre zunächst täglich, dann wöchentlich 1 g Cholesterin und 1 Tropfen Olivenöl in 10 ml Wasser per os (im Trinkwasser) aufnahmen. In Nembutal®-Narkose wurde am Versuchsende vom Herzen aus die Aorta mit 2%iger Gluturaldehydlösung perfundiert.

3. und 4. Homotransplantate² von Abdominalaorten bei Hunden wurden untersucht. Die Aorten wurden nach erfolgter Transplantation in Zeitabständen von 1, 2, 3, 4, 10, 14, 18, 47 und 50 Wochen gewonnen. Nach Tötung der Tiere wurde die gesamte Abdominalaorta einschließlich des transplantierten Segments entfernt, longitudinal eröffnet und fixiert. Danach wurden Anteile aus der Mitte des Transplantates und Anteile der Empfängeraorta für die elektronenmikroskopische Untersuchung zugeschnitten.

Die Gefäße wurden nach Entnahme in 2,25%igem Gluturaldehyd (0,05 M Phosphatpuffer pH 7,4) für die Dauer von 4 Std bei 4° C fixiert. Über Nacht wurde in Phosphatpufferlösung (pH 7,2) ausgewaschen, mit 1,33% OsO₄-Lösung (pH 7,2) für 2 Std bei 4° C nachfixiert und in aufsteigender Alkoholreihe entwässert. Die gerichtete Einbettung der Präparate erfolgte in Epon 812. Die Präparate wurden mit einem Porter-Blum-Ultramikrotom geschnitten, mit Uranylacetat und Reinoldischem Bleicitrat nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Schnitte wurde mit dem Philips EM 300 bei 80 kV Strahlenspannung durchgeführt.

Ergebnisse

a) Reaktion auf Hypertonie

Glatte Muskelzellen reagieren schon bald nach Blutdruckerhöhung mit Ortsänderungen und Strukturänderungen. Sie verlassen die Media durch Fenster in der elastica interna und wandern in den subendothelialen Spalt ein, ohne eine bevorzugte Richtung zum Verlauf der Gefäßachse einzunehmen. Sie erscheinen kleiner als die Muskelzellen der Media und sind im wesentlichen abgerundet. In späteren Stadien sind die subendothelial gelegenen Muskelzellen bizarr verformt, in ihrem Cytoplasma finden sich zahlreiche Vacuolen. Ein Teil der Muskelzellen weist tiefe

¹ An dieser Stelle danken wir der Firma Madaus für die Überlassung der Tiere.

² Wir danken Herrn Priv.-Doz. Dr. T. S. Lie, Chirurgische Klinik und Poliklinik der Universität Bonn für die Überlassung des Tiermaterials.

Cytoplasmainvaginationen auf, die mit fädigem Material von unterschiedlicher Länge und mittlerer Elektronendichte angefüllt sind (Abb. 1). Das endoplasmatische Reticulum dieser Zellen ist deutlich hypertrophiert und teilweise dilatiert. Im Cytoplasma liegen zahlreiche freie Ribosomen. Das Plasmalemm ist vornehmlich im Bereich der Invagination von zahlreichen Pinocytosevesikeln besetzt. Diese Veränderungen werden sowohl an im subendothelialen Spalt gelegenen glatten Muskelzellen als auch an Mediamuskelzellen beobachtet. Die glatten Muskelzellen sind im wesentlichen von einer deutlich dargestellten Basalmembran umgeben, wenn auch vornehmlich in Bereichen solcher Invaginationen Diskontinuitäten und bogenförmige Abhebungen der Basalmembran auffällig sind.

b) Die Reaktion auf Hypercholesterinämie

Bei der experimentellen Hypercholesterinämie weisen sowohl die in erheblich erweiterten subendothelialen Spalten gelegenen Muskelzellen als auch, wenn auch in geringer Ausprägung, die glatten Muskelzellen der Media Veränderungen auf. In atherosklerotischen Plaques werden relativ wenig celluläre Elemente angetroffen, die von Ansammlungen elektronenoptisch amorphen Materials und Kollagenfaserbündeln sehr weit auseinandergetrennt sind. Elastisches Material wird in diesen Arealen nur in geringem Maße gefunden. Die glatten Muskelzellen erscheinen insgesamt bizarr verformt und weisen teilweise schmale lange Zellausläufer auf, die an ihren Enden gelegentlich kolbig aufgetrieben sind (Abb. 2). Ein Teil der Muskelzellen weist tiefe Invaginationen auf, die von elektronendichtem, basalmembranähnlichem Material ausgefüllt sind (Abb. 2). Das endoplasmatische Reticulum ist in solchen Fällen deutlich erweitert (Abb. 3). Im Cytoplasma können dichte attachments und Filamentbündel nachgewiesen werden, wenn auch die Basalmembran nur noch teilweise nachweisbar ist. Einige Zellen weisen Einschlüsse unterschiedlicher elektronenoptischer Dichte auf. Zahlreiche Zellen haben nadelförmige Einschlüsse gespeichert, die sich elektronenoptisch durch eine auffällige Homogenität auszeichnen (Abb. 4). Sie sind bevorzugt in langen Fortsätzen und Ausläufern glatter Muskelzellen lokalisiert. Teilweise sind sie nur noch von extrem schmalen Cytoplasmasäumen umgeben, in denen filamentäre Strukturen erkennbar sind.

c) Reaktion im Transplantat

Die glatten Muskelzellen transplantiertter Aorten zeigen Veränderungen, die vom Alter der Transplantate abhängig sind. Unmittelbar nach der Transplantation kommt es zu einer randständigen Verteilung der Filamente, unter teilweiser Abrundung der glatten Muskelzellen (Abb. 5). Die zentralen kernnahen Anteile des Myoplasmas weisen vermehrt Ribosomen und hyperplasierte Anteile des rauhen endoplasmatischen Reticulums auf. Das Karyoplasma des abgerundeten Kerns erscheint hell. Große Anteile des Myoplasmas sind von Lamellen des rauhen endoplasmatischen Reticulums ausgefüllt, dessen Räume teilweise zisternenartig erweitert sind und mit Material mittlerer Elektronendichte angefüllt sind (Abb. 6). Die Basalmembran erscheint teilweise diskontinuierlich verlaufend und vom Plasmalemm abgehoben (Abb. 6). Diese Veränderungen sind reversibel und nach länger dauernden Zeitintervallen nehmen die glatten Muskelzellen ihre ursprüngliche Form wieder an; sie sind allerdings teilweise atrophisch.

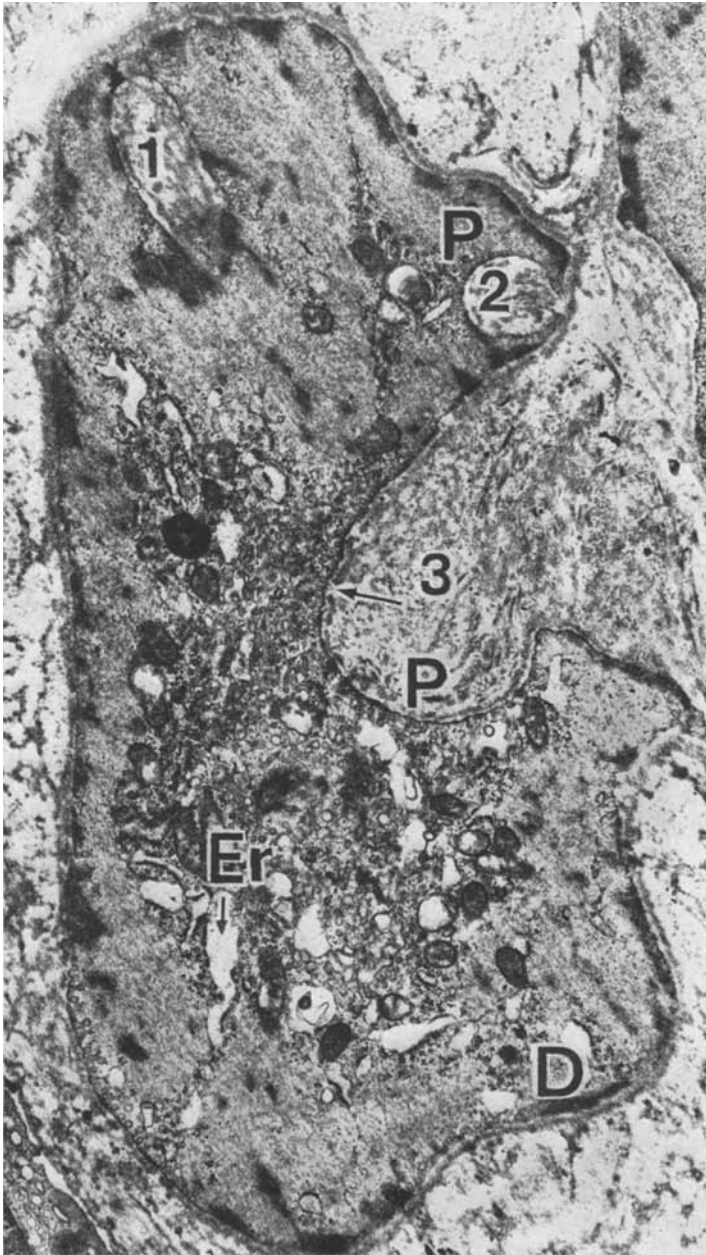


Abb. 1. Subendothelial gelegene glatte Muskelzelle bei experimenteller Hypertonie. Die Muskelzelle weist 3 Invaginationen auf, die in verschiedenen Ebenen angeschnitten sind (1, 2, 3). In ihnen ist basalmembranähnliches Material abgelagert. Die Basalmembran zeigt Unterbrechungen (Pfeil). Im Bereich der Invaginationen ist eine deutliche Pinocytoseaktivität (P) zu verzeichnen. Das endoplasmatische Reticulum (Er) ist dilatiert und mit Ribosomen besetzt. D dense attachments. Vergr.: 14600 \times



Abb. 2. Subendothelial gelegene glatte Muskelzelle bei experimenteller Hypercholesterinämie. Die glatte Muskelzelle weist tiefe Invaginationen (*I*) auf, die mit elektronendichtem Material angefüllt sind. Das endoplasmatische Reticulum (*Er*) ist erweitert. Im Cytoplasma liegen Lipoidtropfen (*L*). Die Basalmembran ist von der Zellmembran abgehoben (Pfeil).

D dense attachments. Vergr.: 12600 ×

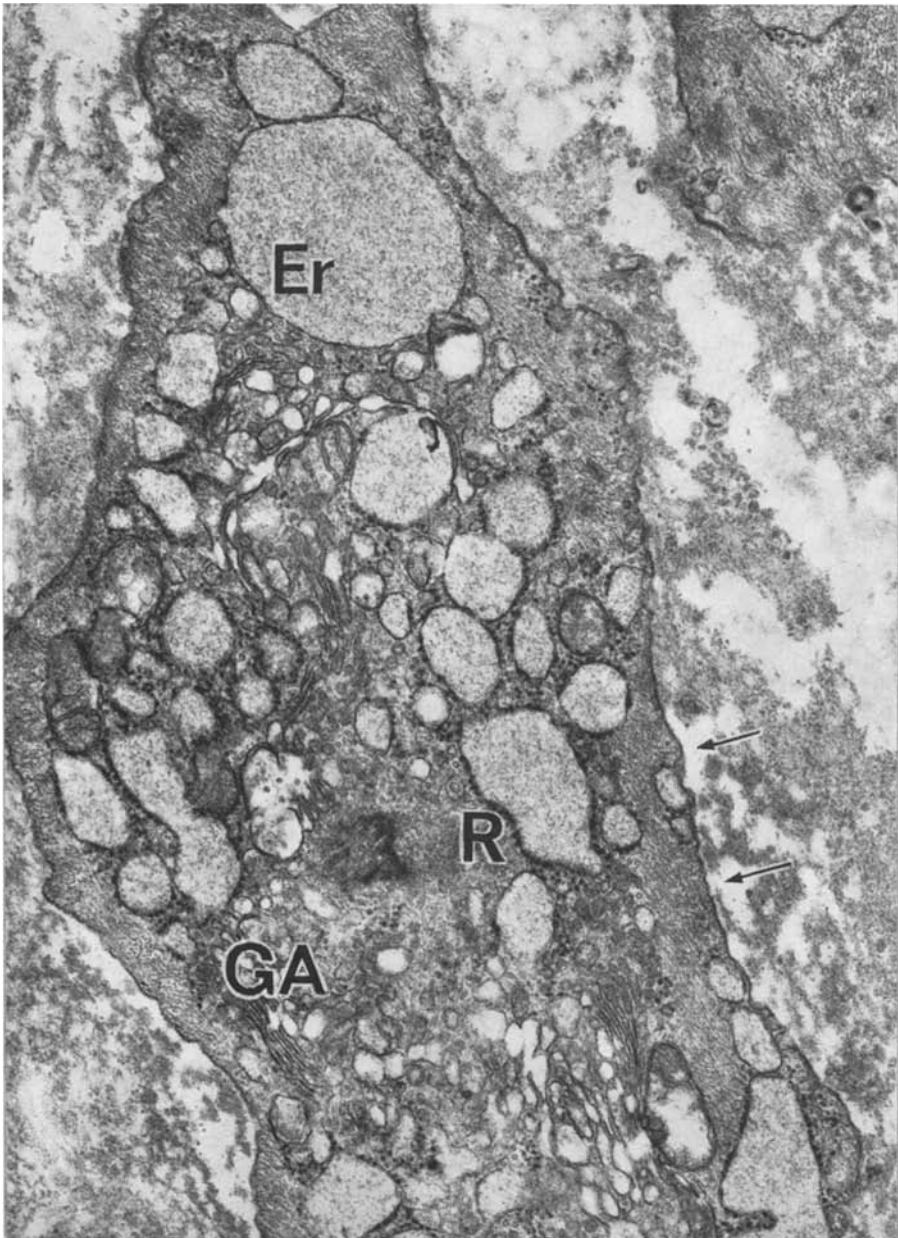


Abb. 3. Subendothelial gelegene glatte Muskelzelle bei experimenteller Hypercholesterinämie. Das endoplasmatische Reticulum (*Er*) ist dilatiert, seine Membranen sind mit Ribosomen (*R*) besetzt, seine Lumen mit feingranulärem Material angefüllt. Die Golgi-Systeme (*GA*) sind deutlich erkennbar. Die Basalmembran weist Unterbrechungen auf (Pfeil). Vergr.: 32600 ×

d) Reaktion in Empfängergefäßen

Glatte Muskelzellen in Empfängergefäßen lassen schon bald nach erfolgter Transplantation eine sehr deutliche Zunahme des endoplasmatischen Reticulums

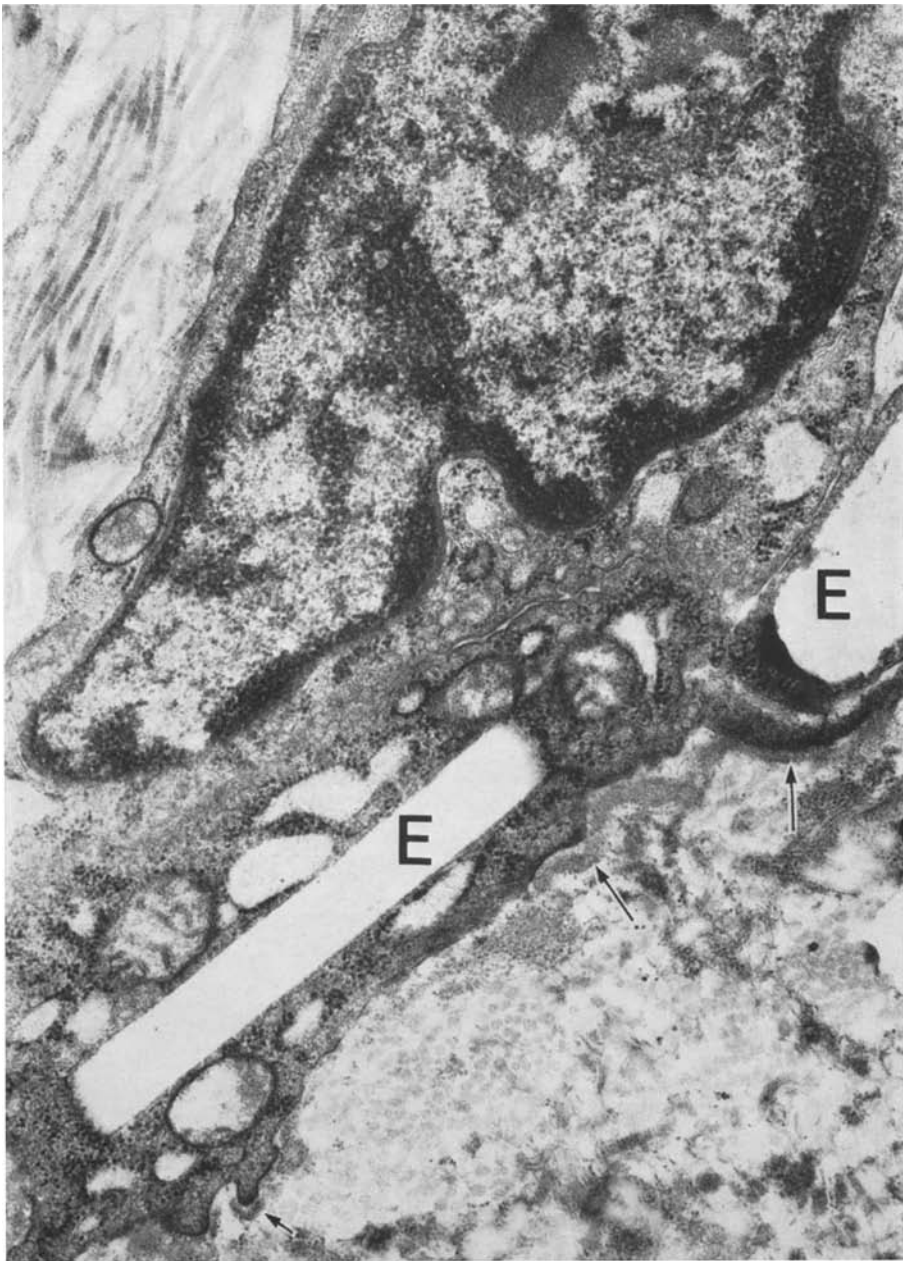


Abb. 4. Subendothelial gelegene glatte Muskelzelle bei experimenteller Hypercholesterinämie. Im Cytoplasma liegen nadelförmige elektronenoptisch homogene Einschlüsse (*E*). Die Basalmembran ist nur teilweise nachweisbar (Pfeil). Vergr.: 31300 \times

erkennen. Es kommt mitunter zu erheblicher Dilatation der endoplasmatischen Räume, so daß filamentäre Strukturen nur bedingt nachweisbar bleiben (Abb. 7). Die entstandenen Räume sind von feingranulärem Material ausgefüllt. Zahlreiche

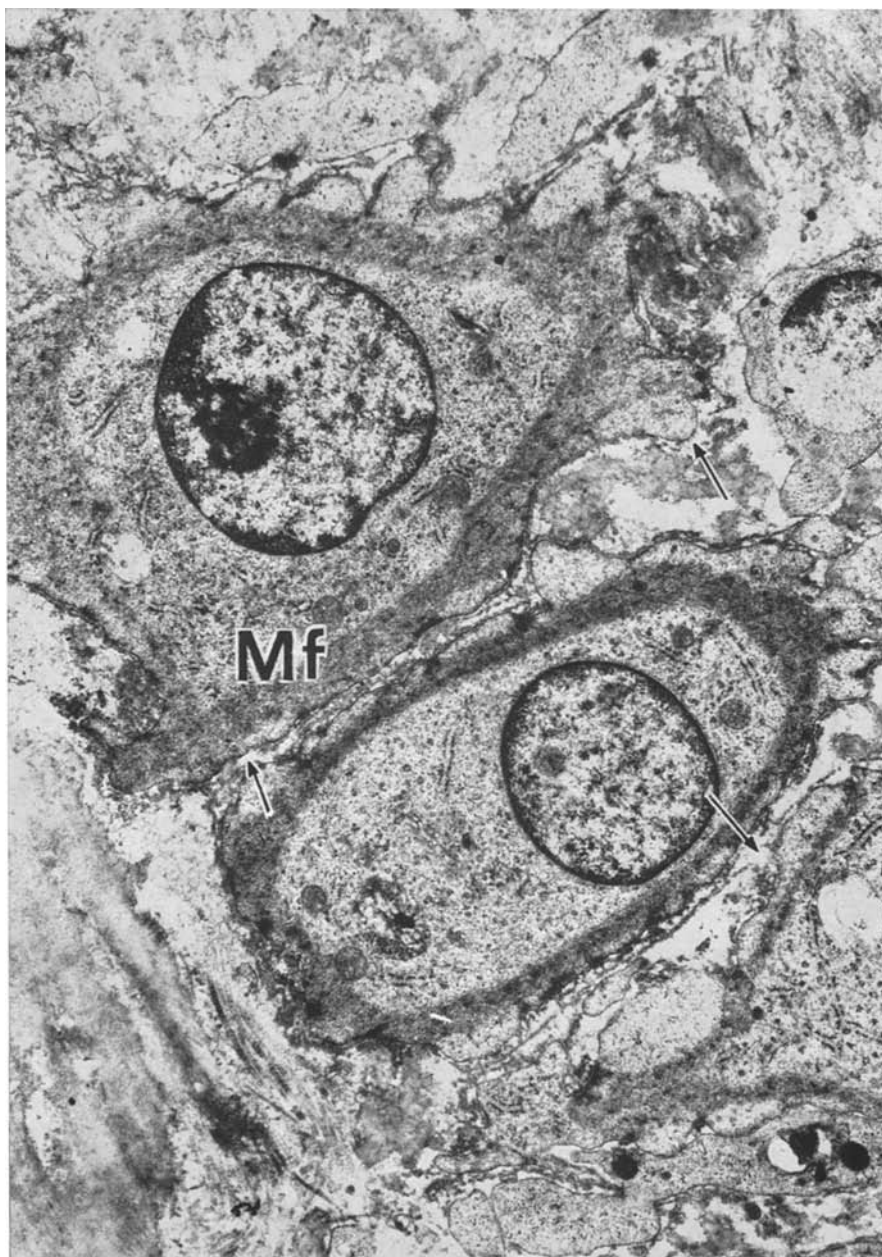


Abb. 5. Glatte Muskelzellen in der Media transplanterter Aorten. Die Myofilamente (*Mf*) sind peripherwärts verlagert. Die die Zellen umgebenden Basalmembranen weisen Unterbrechungen auf (Pfeil). Vergr.: 8300 \times

Kerne weisen eine marginale Chromatinkondensation auf und gelegentlich progressive Kernpyknosen. Die Zellen sind wiederum bizarr verformt und weisen unterschiedlich tiefe Invaginationen auf.

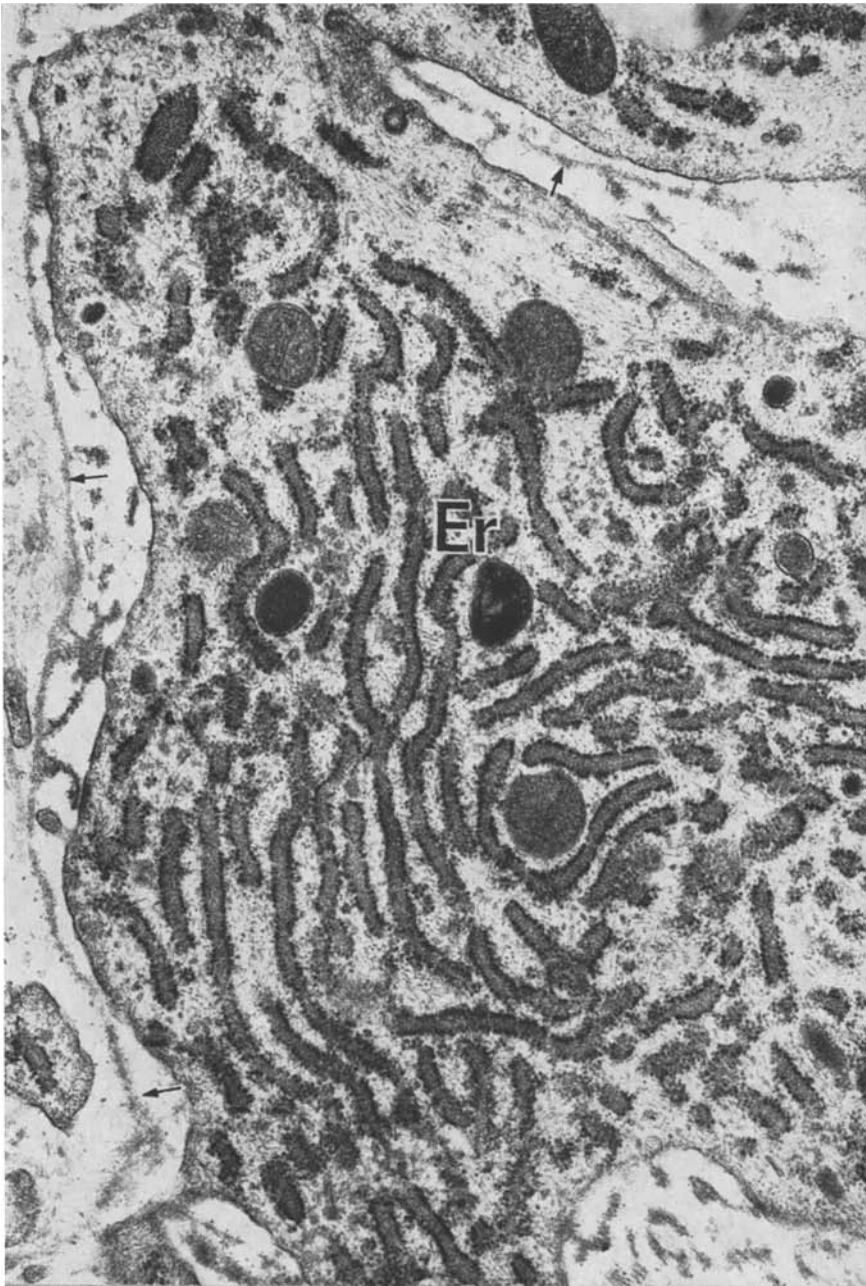


Abb. 6. Glatte Muskelzellen in der Media transplanterter Aorten. Das raue endoplasmatische Reticulum (*Er*) ist deutlich hypertrophiert und von granulären Substanzen mittlerer Elektrodendichte angefüllt. Die Basalmembran ist von der Zellmembran abgehoben und weist Unterbrechungen auf (Pfeil). Vergr.: 27 500 \times

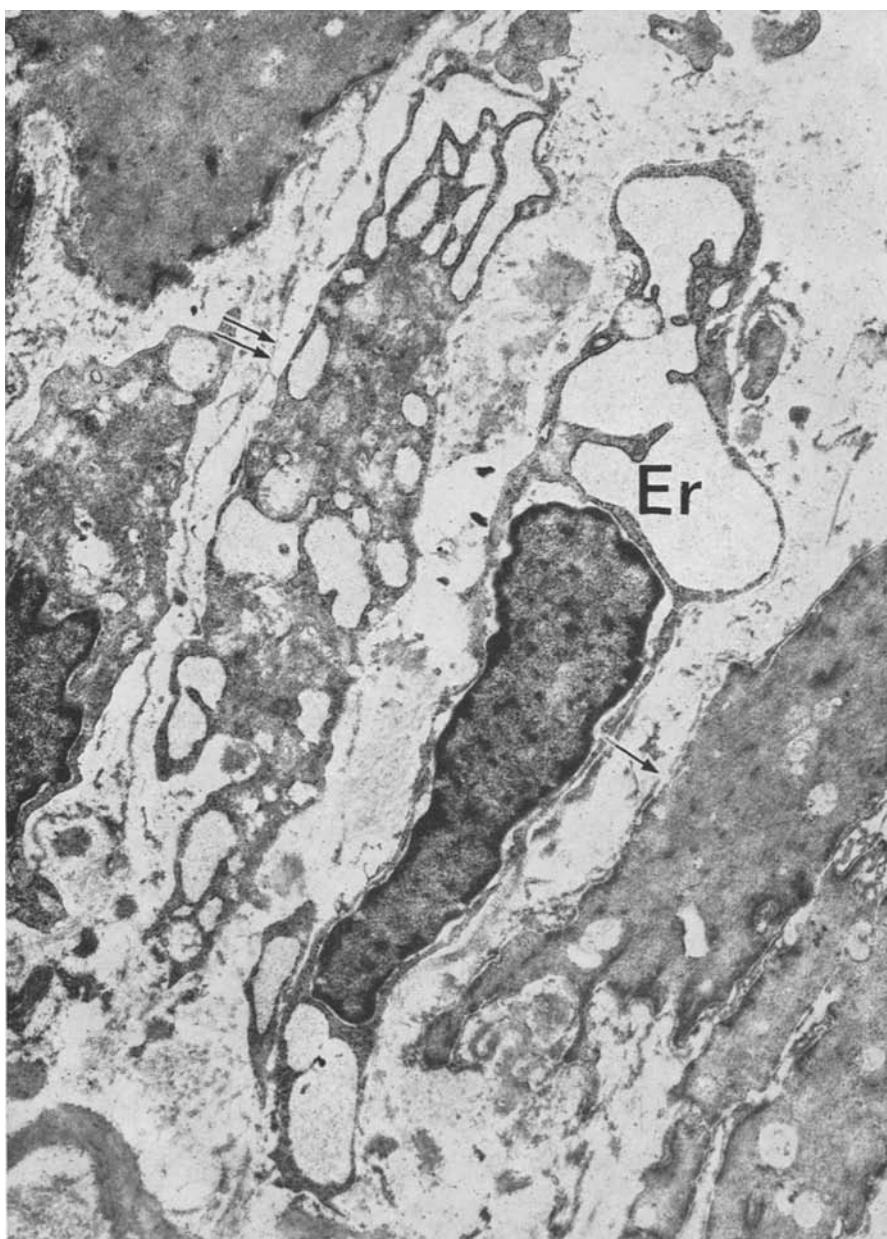


Abb. 7. Glatte Muskelzellen in der Media von Empfängerarterien. Das endoplasmatische Retikulum (*Er*) ist extrem dilatiert. Seine Membranen sind mit Ribosomen besetzt. Die Basalmembranen der Zellen weisen Unterbrechungen auf (Pfeil) oder sind vom Plasmalemm abgehoben (Doppelpfeil). Vergr.: 9800 \times

Diskussion

Die hier aufgeführten Befunde machen deutlich, daß in der Entstehung und Ausbildung pathologischer Gefäßwandveränderungen die glatten Muskelzellen eine

wesentliche Rolle spielen, jedoch kein uniformes Reaktionsschema vorliegt und zumindest in Arealen ausgeprägter Gefäßwandveränderungen divergierende und weitgehend unterschiedliche Alterationen in der Feinstruktur glatter Muskelzellen nachweisbar sind. Dennoch bleiben auch unter pathologischen Bedingungen bestimmte grundsätzliche Qualitäten der Muskelzellen erhalten. Sie können die Media der Gefäßwand durch die Fenster in der Membrana elastica interna verlassen (Aikawa und Koletsky, 1970; Backwinkel *et al.*, 1970; Hauss *et al.*, 1969; McGee und Asworth, 1963; Wellmann und Volk, 1970) und im subendothelialen Spalt, wobei dieser eine erhebliche Verbreiterung erfährt, unter Aufgabe einer bevorzugten Lagebeziehung zur Gefäßachse oder elastischen Lamellen mit der Synthese neuer Zwischengewebssubstanzen beginnen (Aikawa und Koletsky, 1970; Kádár *et al.*, 1969; Veress *et al.*, 1969). Charakteristisch sind eine Zunahme des rauhen endoplasmatischen Reticulum und eine Erhöhung der Anzahl der Mitochondrien, was allgemein als Zeichen einer gesteigerten Syntheseaktivität gedeutet wird (Aikawa und Koletsky, 1970; Jarmolych *et al.*, 1968; Kádár *et al.*, 1969; Veress *et al.*, 1969). Autoradiographische Untersuchungen haben ergeben, daß im Golgiapparat überwiegend Mucopolysaccharide synthetisiert werden, die dann in den Interzellularraum ausgeschleust werden (Jurukova und Rohr, 1968). Die Tropokollagensynthese soll demgegenüber vornehmlich durch das rauhe endoplasmatische Reticulum erfolgen (Buck, 1961). Die allgemein gesteigerte Stoffwechselaktivität der Gefäßwand unter Hypertonie schließt auch einen erhöhten Teilungsstoffwechsel der Gefäßwandzellen ein (Schmitt *et al.*, 1970).

Als Folge der Hypertonie kommt es zu einem vermehrten Einstrom von Substanzen aus dem Blutplasma (Hüttner *et al.*, 1970). Möglicherweise ist die in der Initialphase zu beobachtende erhöhte Pinocytoseaktivität der glatten Muskelzellen u. a. auch Ausdruck einer gesteigerten Stoffaufnahme, verursacht durch ein vermehrtes Substratangebot infolge des gesteigerten Perfusionsstromes. In Arterien vom elastischen Typ wird weiterhin den elastico-muskulären Kontaktpunkten (sog. bobbins) besondere Bedeutung beigemessen (Keech, 1960). Eine Lösung dieser engen Verbindungsstellen von glatten Muskelzellen und elastischen Lamellen soll zu einer Veränderung des Perfusionsstromes (Doerr, 1963) führen, woraufhin die intramuralen Sickerstraßen mit Triglyceridestern, Lipiden und Lipoproteiden volllaufen können (Doerr, 1970).

Die bei schwerer oder länger andauernder Hypertonie nachweisbaren mottenfraßähnlichen Veränderungen glatter Muskelzellen entstehen durch ein schrittweises Abtrennen von Cytoplasmaarealen. Dabei wird Zellmaterial von der Peripherie des Cytoplasma nach außen geschleust, was als Mikroapokrinie bezeichnet wird (Takebayashi und Kamio, 1969; Takebayashi, 1970). In der Nachbarschaft mottenfraßähnlicher Veränderungen und Invaginationen ist das rauhe endoplasmatische Reticulum der Zellen deutlich hypertrophiert, die Pinocytosevesikel sind vermehrt und der Raum von basalmembranähnlichem Material ausgefüllt. Es ist nicht auszuschließen, daß es sich hier um Orte einer gesteigerten Synthese von Interzellularsubstanzen handelt. Es wird darauf hingewiesen, daß die glatte Muskelzelle sehr regenerationsfähig ist und initiale Veränderungen weitgehend reversibel sind (Gardner und Matthews, 1969).

Bei der Entwicklung atherosklerotischer Plaques kommt den glatten Muskelzellen ebenfalls eine wichtige Funktion zu. Sie sind als multifunktionale Mesenchymzellen an der Synthese der vermehrt nachweisbaren sauren Mucopolysac-

charide beteiligt (Hauss *et al.*, 1968), die sich zusammen mit Cholesterin und Lipiden vornehmlich an der Basis der Plaques unmittelbar oberhalb der Membrana elastica interna nachweisen lassen (Knieriem, 1967). Über die Herkunft aller in atherosklerotischen Plaques anzutreffenden Zellen herrscht jedoch keine einheitliche Meinung. Einige Autoren nehmen an, daß es sich bei den im subendothelialen Raum angesammelten Zellen teilweise um fettbeladene Monocyten oder Makrophagen handelt, die aus dem Blut stammend die Endothelzelllage permeiert haben, als Schaumzellen imponieren und nicht die charakteristischen Merkmale glatter Muskelzellen aufweisen (Geer und Guidry, 1964; McCombs *et al.*, 1969; Still, 1963; Still und Marriott, 1964; Still, 1968).

Unsere bisherigen tierexperimentellen Untersuchungen (Hauss, 1970; Hauss *et al.*, 1971; Schmitt *et al.*, 1970a; Schmitt *et al.*, 1970b) zeigen, daß auf zwei Wegen die Zellvermehrung in der Gefäßwand eintreten kann. So bewirkt die arterielle Blutdruckerhöhung eine Reduplikation gefäßwandständiger Zellen, während andere Reize, z. B. Bakterientoxine und emotionale Belastung, gleichzeitig zu einer Reaktion des hämopoetischen Systems führen und eine vermehrte Ausschüttung von mononucleären Rundzellen in die Blutbahn bewirken, die in die verschiedenen Organe, vor allem auch in die Gefäßwand invadieren und sich dort offensichtlich zu Bindegewebszellen transformieren.

Immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen konnten zeigen, daß markiertes Antimyosin nicht nur über glatten Muskelzellen der Media nachweisbar ist, sondern in eindeutiger Weise auch über Zellen der atherosklerotischen Plaques liegt (Knieriem, 1970a). Neben einer vermehrten Fettinsudation der Gefäßwand wurde eine Aufnahme von Lipoproteinen in die glatten Muskelzellen immunfluoreszenzmikroskopisch nachgewiesen. Nach dem Zerfall schaumzellig umgewandelter glatter Muskelzellen können Neutralfette und Cholesterinester zunehmend frei im extracellulären Raum liegend beobachtet werden (Knieriem, 1970b). Es wird weiterhin vermutet, daß Hypoxie eine entscheidende Rolle in der Pathogenese atherosklerotischer Plaques spielt. In diesem Zusammenhang wird diskutiert, daß die Lipidakkumulation im Atherom das Ergebnis einer Schädigung des Mitochondrienstoffwechsels sei (Hoff, 1969). Hauss *et al.* (1965) weisen darauf hin, daß die Acceleration des Mesenchymstoffwechsels mit vermehrter Cholesterin- und Fettsäuresynthese einen Zustand schafft, in dem die normale Regulation, nämlich die Hemmung der Fettsäuren- und Cholesterinsynthese durch Substratzufuhr gestört ist.

Glatte Muskelzellen in der Media transplanterter Gefäße machen eine passagere Transformation von der zur Kontraktion befähigten glatten Muskelzelle zu einer Zelle durch, in der die proteinsynthetisierenden Strukturen deutlich hypertrophiert sind. Die glatten Muskelzellen haben große Ähnlichkeit mit Zellen, wie sie in den Gefäßwänden eben geborener oder heranwachsender Tiere gefunden werden (Cliff, 1967). Hier wird die Proliferation der proteinsynthetisierenden Zellsysteme mit einer gesteigerten Synthese intercellulärer Substanzen gesehen, die mit zunehmendem Wachstum und Alter der Tiere deutlich zunehmen. In transplantierten und auch Empfängeraorten dürfte es sich im wesentlichen um Reparationsvorgänge handeln, bei denen die glatten Muskelzellen die Aufgabe haben, einen geordneten Stoffwechsel der Intercellulärsubstanz wieder herzustellen.

Die erhöhte Syntheseaktivität ist ähnlich wie bei den glatten Muskelzellen in arteriosklerotischen Plaques ablesbar an einer Proliferation des rauen endoplas-

matischen Reticulum, Vermehrung der Mitochondrien und einer deutlichen Steigerung der Pinocytosetätigkeit. Die kontraktilen Elemente sind peripherwärts verlagert. Es ist anzunehmen, daß die Rarefizierung der Myofibrillen mit einer Einschränkung ihrer kontraktilen Funktionen einhergeht. Die zu beobachtende Abhebung der Basalmembran vom Plasmalemm (Abb. 6) ohne degenerative Veränderungen der glatten Muskelzellen kann als ein weiteres Merkmal sich transformierender glatter Muskelzellen angesehen werden. Es mag als ein Hinweis darauf gelten, daß auch in atherosklerotischen Plaques gefundene Zellen, deren Basalmembran diskontinuierlich verläuft, von glatten Muskelzellen abstammen können, die im Verlauf ihrer Transformation alle wesentlichen Charakteristika glatter Muskelzellen verloren haben.

Abschließend kann festgestellt werden, daß die glatten Muskelzellen unter verschiedenen pathologischen Bedingungen morphologisch unterscheidbare Transformationsstadien durchlaufen, die reversibel sein können oder auch zur Nekrose führen können. Die morphologischen Alterationen sind Ausdruck veränderter metabolischer Funktionen.

Literatur

- Aikawa, M., Koletsky, S.: Arteriosclerosis of the mesenteric arteries of rats with renal hypertension. *Amer. J. Path.* **61**, 293—304 (1970).
- Backwinkel, K.-P., Schmitt, G., Themann, H., Hauss, W.H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Frühveränderungen der Coronararterien bei experimenteller Hypertonie. *Beitr. Path.* **141**, 374—391 (1970).
- Brecht, K., Boucke, H.: Ein neuer Pulsabnehmer für Kleintiere. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **217**, 399 (1953).
- Buck, R.C.: Intimal thickening after ligation of arteries. *Circulat. Res.* **9**, 418—426 (1961).
- Cliff, W.J.: The aortic tunica media in growing rats studied with the electron microscope. *Lab. Invest.* **17**, 599—615 (1967).
- Doerr, W.: Perfusionstheorie der Arteriosklerose. Stuttgart: Georg Thieme 1963.
- Doerr, W.: Allgemeine Pathologie der Organe des Kreislaufes. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. III/4. Die Organe. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970.
- Gardner, D.L., Matthews, M.A.: Ultrastructure of the wall of small arteries in early experimental rat hypertension. *Amer. J. Path.* **97**, 51—62 (1969).
- Geer, J.C., Guidry, M.A.: Cholesteryl ester composition and morphology of human normal intima and fatty streaks. *Exp. molec. Path.* **3**, 485—499 (1964).
- Hauss, W.H.: Die Rolle der Mesenchymzellen in der Pathogenese der Arteriosklerose. *Doc. anatol.* **2**, (1970).
- Hauss, W.H., Junge-Hülsing, G., Gerlach, U.: Die unspezifische Mesenchymreaktion. Stuttgart: Thieme 1968.
- Hauss, W.H., Junge-Hülsing, G., Matthes, K.J., Wirth, W.: Über den Einfluß von Schock und Hyperlipidämie auf den Lipidgehalt, die Lipidsynthese und die Mucopolysaccharidsynthese der Gefäßwand. *J. Atheroscler. Res.* **5**, 451—465 (1965).
- Hauss, W.H., Schmitt, G., Junge-Hülsing, G.: Zur Pathogenese der hypertoniebedingten Gefäßsklerose. *Z. Kreisl.-Forsch.* **58**, 61—79 (1969).
- Hauss, W.H., Schmitt, G., Müller, U.St., Tillmann, P.: Über die gleichförmige Reaktion des hämopoetischen Systems auf heterogene Reize. *Med. Welt* **22**, 627—631 (1971).
- Hoff, H.F.: Studies on the pathogenesis of atherosclerosis with experimental model systems. *Virchows Arch. Abt. A* **348**, 77—88 (1969).
- Hüttner, I., More, R.H., Rona, G.: Fine structural evidence of specific mechanism for increased endothelial permeability in experimental hypertension. *Amer. J. Path.* **61**, 395—404 (1970).
- Jarmolych, J., Daoud, A.S., Landau, J., Fritz, K.E., McElvene, E.: Aortic media explants. Cell proliferation and production of mucopolysaccharides, collagen, and elastic tissue. *Exp. molec. Path.* **9**, 171—188 (1968).

- Jipp, P., Seifert, K.: E. Das Konstruktionsprinzip der Aortenmedia. In: W. Doerr, Perfusionstheorie der Aorta. Stuttgart: Georg Thieme 1963.
- Jurukova, Z., Rohr, H.P.: Beitrag zur Bildung bindegewebiger Matrix in glatten Muskelzellen. *Path. europ.* **3**, 551—570 (1968).
- Kádár, A., Veress, B., Jellinek, H.: Ultrastructural elements in experimental intimal thickening. II. Study of the development of elastic elements in intimal proliferation. *Exp. molec. Path.* **11**, 212—223 (1969).
- Keech, M.K.: Electron microscope study of the normal rat aorta. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 533—538 (1960).
- Knieriem, H.J.: Electron microscopic study of bovine arteriosclerotic lesions. *Amer. J. Path.* **50**, 1035—1065 (1967).
- Knieriem, H.J.: Immunhistochemische Untersuchungen zur Bedeutung der glatten Muskelzellen für die Pathohistogenese der Arteriosklerose des Menschen. *Beitr. Path.* **141**, 4—18 (1970a).
- Knieriem, H.J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Bedeutung der glatten Muskelzellen für die Pathohistogenese der Arteriosklerose. *Beitr. path. Anat.* **140**, 298—332 (1970b).
- McCombs, H.L., Zook, B.C., McGandy, R.B.: Fine structure of spontaneous atherosclerosis of the aorta in the squirrel monkey. *Amer. J. Path.* **323**, 235—252 (1969).
- McGee, W.G., Asworth, C.T.: Fine structure of chronic hyperarteriopathy in the human kidney. *Amer. J. Path.* **42**, 273—299 (1963).
- Page, J.H.: The production of persistent arterial hypertension of cellophane perinephritis. *J. Amer. med. Ass.* **113**, 2046 (1939).
- Schlant, R.C., Galambos, J.T.: Autoradiographic demonstration of ingested cholesterol-4-C¹⁴ in the normal and atheromatous aorta. *Amer. J. Path.* **44**, 877—882 (1964).
- Schmitt, G., Knoche, H., Hauss, W.H.: Über den Einfluß zentralnervöser Reize auf die Aortenwand. *Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-Forsch.* **36**, 336—341 (1970b).
- Schmitt, G., Knoche, H., Junge-Hülsing, G., Koch, R., Hauss, W.H.: Über die Reduplikation von Aortenwandzellen bei arterieller Hypertonie. *Z. Kreisl.-Forsch.* **6**, 481—487 (1970a).
- Still, W.J.S.: An electron microscope study of cholesterol atherosclerosis in the rabbit. *Exp. molec. Path.* **2**, 491—502 (1963).
- Still, W.J.S.: The pathogenesis of the intimal thickenings produced by hypertension in large arteries in rats. *Lab. Invest.* **19**, 84—91 (1968).
- Still, W.J.S., Marriott, P.R.: Comparative morphology of the early atherosclerotic lesion in man and cholesterol atherosclerosis in the rabbit. An electron microscopic study. *J. Atheroscler. Res.* **4**, 373—386 (1964).
- Takebayashi, S.: Ultrastructural studies on arteriolar lesion in experimental hypertension. *J. Electron Microscopy* **19**, 17—31 (1970).
- Takebayashi, S., Kamio, A.: Ultrastructural studies on human arteriosclerosis. Comparison between hypertension and normotensive groups. *Acta path. jap.* **19**, 479—499 (1969).
- Veress, B., Kádár, A., Jellinek, H.: Ultrastructural elements in experimental intimal thickening. I. Electron microscopic study of the development and cellular elements of intimal proliferation. *Exp. molec. Path.* **11**, 200—211 (1969).
- Wellmann, K.E., Volk, B.W.: Experimental atherosclerosis in normal and subdiabetic rabbits. *Amer. J. Path.* **59**, 39a (1970).

Prof. Dr. H. Themann
Institut für Med. Physik
Abt. für Med. Ultrastrukturforschung
der Universität
D-4400 Münster, Westring 3
Bundesrepublik Deutschland