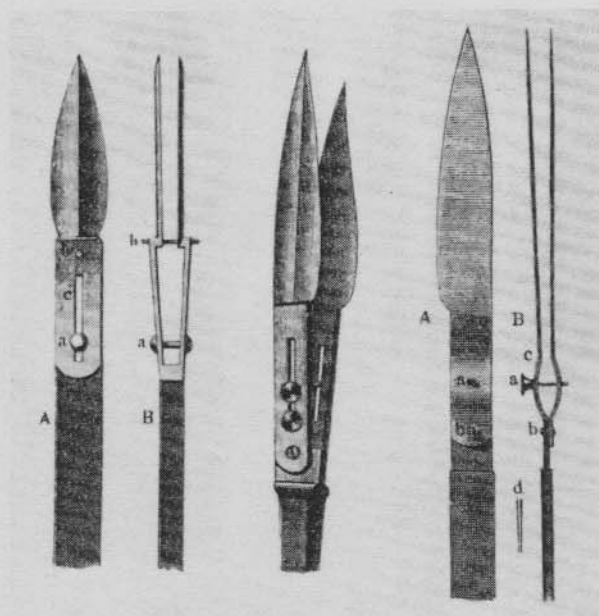


Rückschauend ist heute deutlich erkennbar, daß die mikroskopische Färbetechnik sich nicht hätte weiter entwickeln können, wenn nicht gleichzeitig mit ihrer Einführung auch Hilfsmethoden ausgebildet worden wären, nämlich die Fixation, das heißt die vorsichtige Abtötung von lebendem Material, und die Schneidetechnik. Die Fixierungsmethoden entwickelten sich interessanterweise aus Versuchen, mit verschiedenen chemischen Reagenzien die Zusammensetzung der Gewebe zu erforschen und die Lichtbrechung des im lebenden Organismus durchsichtigen und kaum strukturierten Cytoplasmas so zu ändern, daß Einzelheiten deutlich werden. Zu diesen Untersuchungen wurden z. B. Alkohol, Ammoniak, bestimmte Säuren und mancherlei Salzlösungen benützt.

In ihren Grundzügen hat sich die rein empirisch entstandene Fixationstechnik bis heute wenig geändert, wenn auch jetzt Dutzende von verschiedenen Härtingsflüssigkeiten gebräuchlich sind. Die Erfahrung hat dazu geführt, daß je nach der zu bearbeitenden Frage, der Art des Materials und seiner Beschaffenheit nahezu feststehende Regeln der Fixierung angewendet werden. Daneben wird von verschiedenen Seiten versucht, die Fixa-

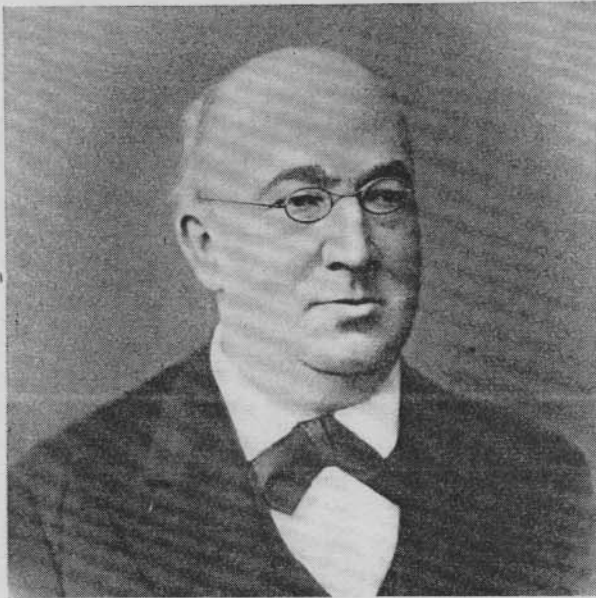
*Doppelmesser verschiedener Konstruktion zur Anfertigung dünner Schnitte von frischen oder gehärteten Organen. Aus: P. Harting, Das Mikroskop, Braunschweig 1859.*



tionstechnik wissenschaftlich zu unterbauen. Auf diese zum Teil sehr komplizierten Zusammenhänge soll hier nicht eingegangen werden.

Nachdem anfänglich nur feine Häutchen oder Zupf- und Quetschpräparate tierischer Gewebe im durchfallenden Lichte untersucht werden konnten, wurde bald der Wunsch rege, auch dünne, durchsichtige Schnitte von Geweben und Organen zu mikroskopieren. Das gelang zunächst nur bei konsistenten Körperbestandteilen, wie Knorpel, entkalktem Knochen oder etwa der Niere, nicht aber bei weichen Organen, z. B. dem Zentralnervensystem. Erst ihre Härtung durch Trocknen, durch Alkohol, Sublimat oder Chromsäure (eingeführt 1832 durch L. L. Jacobson [1783 bis 1843] und 1840 durch A. Hannover [1814 bis 1894]) erlaubte, an tierischem Material Schneidemethoden anzuwenden, die in der Botanik schon seit längerer Zeit üblich waren. Für manche Untersuchungen genügten die Freihandschnitte trotz ihrer wechselnden Dicke. Zur Ausführung umfangreicherer und exakterer Arbeiten wurden aber schon frühzeitig Apparate konstruiert, die ermöglichten, gleichmäßig dünne Schnitte anzufertigen. Nach dem 1838 gemachten Vorschlag des Berner Histologen und Physiologen G. G. Valentin (1810–1883) (s. Abb. S. 3083) verwendete man dazu Doppelmesser mit verstellbarem Klingenabstand (siehe Abbildung); noch besser bewährten sich auf die Dauer die zuerst in der Botanik benutzten Mikrotome. Eines der ältesten Instrumente dieser Art wurde von George Adams (gest. 1786) im Jahre 1770 angefertigt und beschrieben. J. Quekett's Mikrotom (1848) (s. Abb. S. 3083) stimmt im wesentlichen noch damit überein.

Die alten Mikrotome sind im Prinzip alle gleichartig konstruiert: Durch Drehung einer feinen, senkrecht stehenden Schraube wird eine Vorrichtung, in die das Objekt eingeklemmt ist, um ein bestimmtes Maß gehoben. Das zu schneidende Objekt ragt über eine horizontalliegende durchbohrte Platte heraus, von ihm werden mit einem flach darüber hingeführten Messer dünne Scheiben abgeschnitten. Aus der Feinheit des Gewindes und dem Grade der Umdrehung läßt sich die Schnittdicke berechnen.



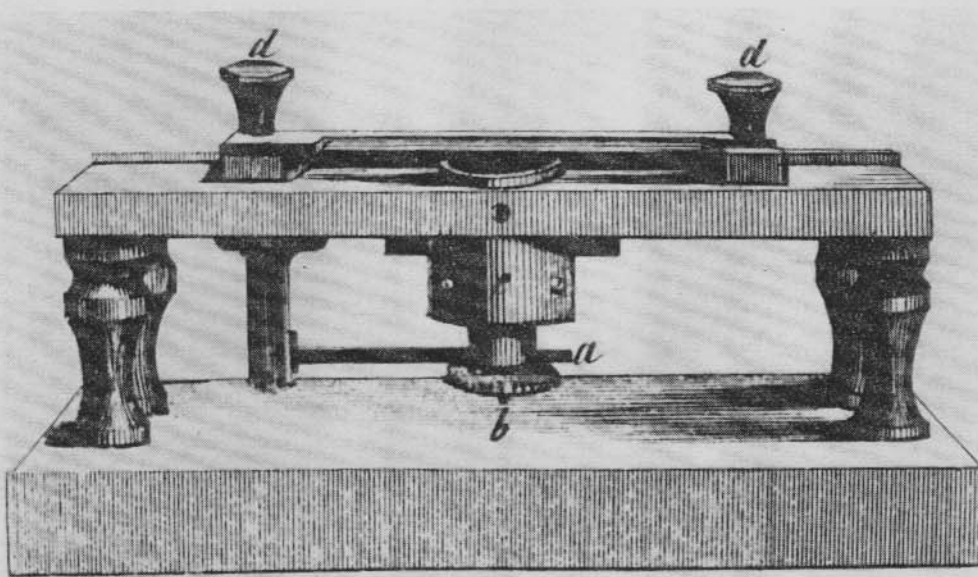
*Gabriel Gustav Valentin (1810-1883), von 1836 an Professor der Physiologie in Bern, Verfasser zahlreicher histologischer Arbeiten und Erfinder des Doppelmessers zur Anfertigung dünner Schnitte von frischen Geweben. Photographie im Besitz der Stadt- und Hochschulbibliothek Bern.*

Das erste für histologische Zwecke gut brauchbare Mikrotom konstruierte der Mechaniker Oschatz im Jahre 1843; es hatte gegenüber den früheren Instrumenten den Vorteil der fixierten Messerführung. Nach weiterer Verbesserung des Mikrotoms durch den Anatomen Hermann Welcker (1822 bis 1897) konnte es seit 1856 auch zur Anfertigung von Schnittserien dienen. An dem Mikrotom von Capanema (1848) findet sich zum ersten Male eine auch heute noch häufig gewählte Anordnung: die Mikrotomschraube bewegt sich horizontal und schiebt die das Objekt tragende Klemmeinrichtung auf einer

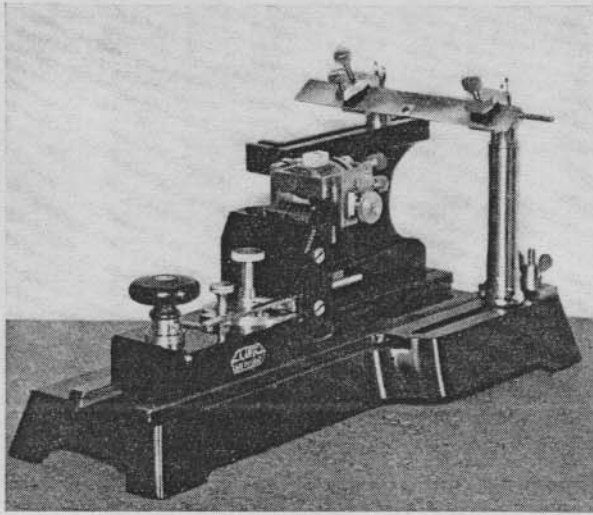
schiefen Ebene aufwärts. Der Grad der Steigung dieser schiefen Ebene bestimmt zusammen mit dem Ausmaß der Gewindeumdrehung die Schnittdicke. Im Grundsätzlichen beruhen die heute verwendeten Mikrotome auf denselben Konstruktionsprinzipien wie die früheren, nur sind sie meist viel schwerer gebaut, um Schwingungen zu vermeiden.

Als eine besondere Art der Schnittgewinnung ist noch die Gefrierschneidemethode zu erwähnen, die zur Konstruktion besonderer Gefriermikrotome geführt hat und heute weit verbreitet ist. Die Gefriermethode wurde 1842 von dem Neurologen Benedict Stilling (1810 bis 1879) eingeführt; das erste Gefriermikrotom schuf der Physiologe W. Rutherford (1832 bis 1899) im Jahre 1871. Um die erforderlichen tiefen Temperaturen zu erzielen, benutzte man anfänglich Kältemischungen oder einen Ätherspray; dann ging man nach dem Vorbild von A. Johne (1897) allgemein zur Verwendung flüssiger Kohlensäure über. Otto Schultz-Brauns kühlte durch eine Abzweigung von der Kohlensäurezuleitung auch das Messer (1931); seine «Tiefkühl-Vorrichtung» hat sich sehr bewährt, sie erlaubt, auch größere Schnittreihen von nativem Material anzufertigen.

Parallel mit den Fortschritten in der Mikrotomie entwickelte sich eine besondere Einbettungstechnik, deren Kenntnis eine notwendige Voraussetzung für die Beurteilung mikroskopischer Präparate ist. Die Einbettung dient vor allem dazu, selbst kleinste Objekte schneidfähig zu machen und in großen Organen die Lage locker gefügter Gewebestandteile unverändert zu erhalten. Mitte des 19. Jahrhunderts empfahl P. Harting,



*Von John Quekett (1815-1861) konstruiertes Mikrotom zur Anfertigung dünner Schnitte von gehärteten Organen. Aus der deutschen, 1850 in Weimar erschienenen Ausgabe von: John Quekett, A Practical Treatise on the Use of the Microscope, 1848.*



Grundschlittenmikrotom der Firma E. Leitz. Auf einer eisernen Grundplatte gleitet ein schwerer Schlitten als Träger des Objektbalters und der Einstellvorrichtung. Automatische Hebung des Präparates durch Drehen des Griffknopfes. Genauigkeit der Schnittdickeneinstellung  $1 \mu = 0,001 \text{ mm}$ .

kleine Objekte in Gummilösung einzuschließen, sie trocknen zu lassen und dann zu schneiden; es scheint, daß diese Methode zuerst von R. Heidenhain angewendet worden ist. S. Stricker (1871) tränkte die entwässerten und in einem ätherischen Öl durchsichtig gemachten Objekte mit einem Gemisch von erwärmtem Wachs und Öl; in entsprechender Weise wurde 1864 von Edwin Klebs (1834–1913) Paraffin als Einbettungsmittel verwendet, eine Technik, die sich besonders nach ihrer Verbesserung durch Paul Mayer (1848–1923) sehr verbreitete. An die Stelle des 1869 von dem Berner Pathologen E. Klebs eingeführten

Glyzerinleimes trat später die Gelatine, wobei die nachfolgende Härtung in einem beliebigen Fixationsmittel erfolgen konnte (Kaiser 1880). Walter Flemming (1843–1905) gab 1875 als durchsichtiges Einbettungsmittel die Transparentseife an; sie ist aber heute vorwiegend durch das 1882 von Paul Schiefferdecker (1849 bis 1931) in die histologische Technik eingeführte Celloidin verdrängt, das auch den 1878 von dem Pariser Lehrer der Medizin Mathias Duval (gest. 1907) angegebenen Gebrauch von Collodium überflüssig gemacht hat.

Alle diese Fixations-, Einbettungs- und Schneidverfahren, die der Färbung der mikroskopischen Präparate meist vorausgehen, verursachen die verschiedenartigsten Veränderungen des natürlichen Objektes. Wasser z. B. löst das Glykogen aus den Zellen heraus; die als Fixationsflüssigkeit viel benutzten Säuren koagulieren das Eiweiß und vermindern den Salzgehalt; Alkohol, Chloroform und Äther lösen die Fette usw. Alle diese Veränderungen, die noch durch Quellungs- oder Schrumpfungsvorgänge vermehrt werden, letztere vor allem bei den mit Erwärmung verbundenen Einbettungsmethoden in Gelatine und in Paraffin, bedingen, daß die Untersuchungstechnik jeweils der besonderen Fragestellung angepaßt werden muß (s. Schema).

Nur unter dieser Voraussetzung lassen sich durch die nachfolgende Färbung der Schnitte mikroskopische Präparate herstellen, die als Studien- und Forschungsobjekte verwendbar sind und bei kritischer Beurteilung zu neuen Erkenntnissen führen können.

Schema der gebräuchlichsten histologischen Einbettungs- und Schneidverfahren.

