

Anatomia della membrana peritoneale

N. Di Paolo e G. Sacchi

Il peritoneo, del tutto simile nell'animale da esperimento che nell'uomo, appare costituito al microscopio ottico da uno strato monocellulare di mesotelio appoggiato su una membrana basale continua sovrastante un tessuto connettivale costituito da fibre collagene disposte a strati ed inoltre da fibroblasti, macrofagi, adi-

pociti e mastociti ed irrorato da vasi sanguigni e linfatici (Fig. 1). La cellula mesoteliale è di morfologia regolare e misura al microscopio ottico dai 20 ai 35 μ ed appare di configurazione tendenzialmente poligonale e forma uno strato continuo con le cellule adiacenti. Il nucleo, ovale è posto al centro della cellula, ma talvolta può essere pro-

minente verso il versante libero e contiene nucleoli ben evidenti (Fig. 2).

Gli organi citoplasmatici sono abbastanza sviluppati, ma è necessario sottolineare che ricordano quelli di una comune cellula di rivestimento allorché si osserva un peritoneo di animale od umano in condizioni di normalità.

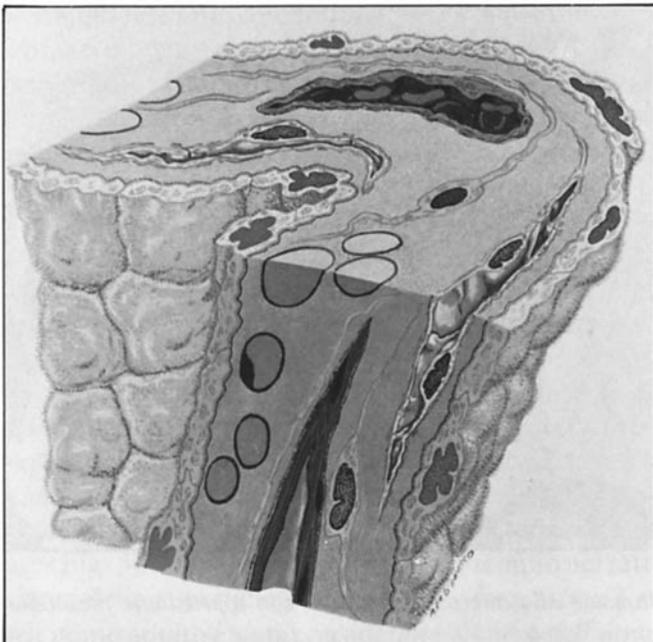


Fig. 1 - Rappresentazione schematica della membrana peritoneale.

Fig. 2 - Le cellule mesoteliali in condizioni di normalità sono cellule piatte.

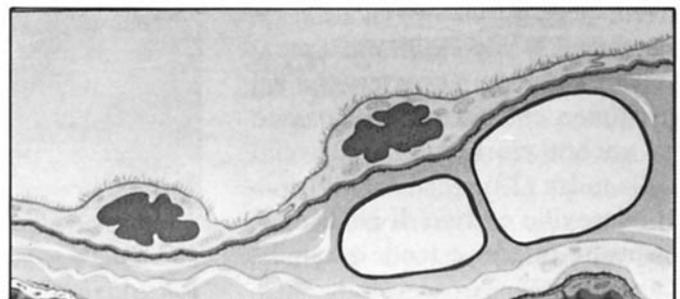




Fig. 3 - *Microvilli mesoteliali peritoneali alla microscopia ottica elettronica a trasmissione.*

Oltre ad organi citoplasmatici la cellula mesoteliale è caratterizzata dalla presenza di vescicole, microvilli e di caratteristiche giunzioni intercellulari.

I microvilli delle cellule mesoteliali sono presenti in tutto il peritoneo, anche se sono state descritte (1) significative differenze nella loro densità in corrispondenza dei vari organi addominali. Ad esempio a livello del peritoneo vescicale vi sono circa 230 microvilli/mm², mentre circa il doppio si osservano nel peritoneo che ricopre lo stomaco ed ancora più numerosi a livello della milza (2).

Il microvillo è privo di particolari strutture interne e tende a ramificarsi (Fig. 3).

Le cellule mesoteliali poggiano su una membrana basale unica e continua al di sotto della quale il tessuto connettivo è caratterizzato dalla presenza di una scarsa popolazione cellulare immersa in una matrice formata da fibre e da un gel contenente macromolecole (13). Sono presenti adipociti (molto numerosi nel peritoneo mesenterico), fibroblasti, mastociti, macrofagi ed occasionalmente monociti (7) (Fig. 1).

Nel connettivo sono presenti a livello superficiale grossi vasi linfatici e più in profondità vasi ematici (questi ultimi almeno a 100 μ dalla membrana basale mesoteliale) (7, 28). I microvasi ematici più rappresentati sono i capillari sanguiferi e le venule postcapillari.

I linfatici attraggono maggiormente l'attenzione per la vasta area che ricoprono (6, 7).

Sono in genere molto grandi (Fig. 4) (fino ad oltre 20 μ), e spesso danno origine a delle lacune linfatiche la cui grandezza arriva fino a 3-6 mm (26), ma presentano un endotelio decisamente fine ed una mem-

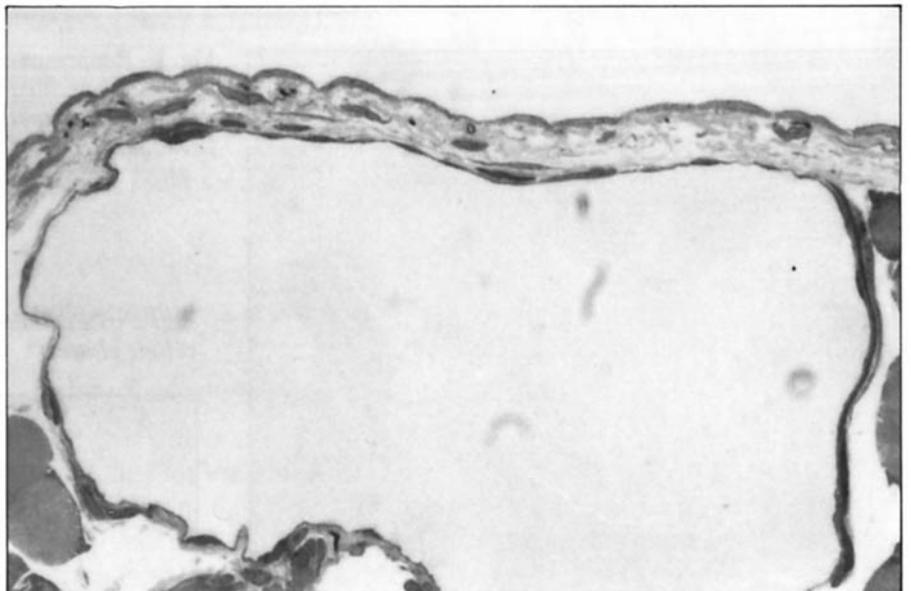


Fig. 4 - *Linfatico peritoneale alla microscopia ottica con soprastante mesotelio piatto di rivestimento.*

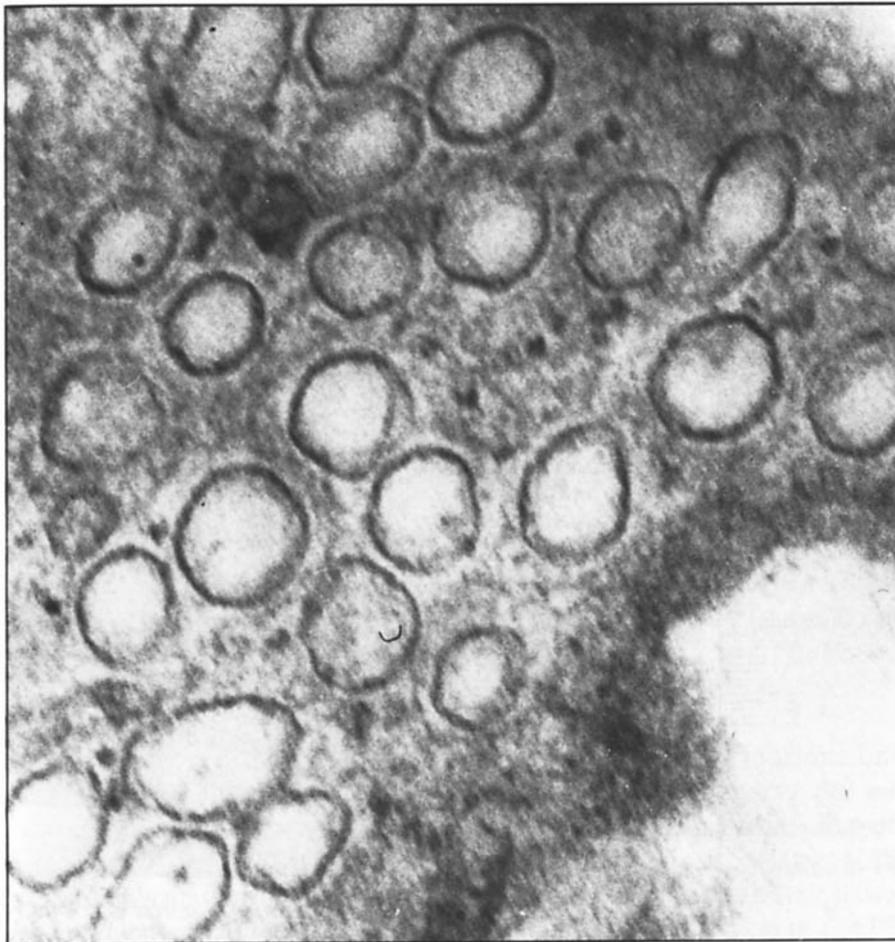


Fig. 5 - Vescicole mesoteliali alla microscopia a trasmissione.

brana basale molto discontinua. Il numero relativamente grande di vasi linfatici, l'ampio calibro, l'assenza di giunzioni di tipo occludente e la discontinuità della membrana basale permettono a questi vasi di svolgere un lavoro di scambio di varie sostanze a livello peritoneale ed è probabile anche un loro ruolo nel trasporto durante la dialisi peritoneale (7). Nel citoplasma dell'endotelio dei vasi sanguigni e linfatici sono presenti numerose vescicole simili a quelle presenti nel mesotelio occupando circa il 7% del volume cellulare (Fig. 5). L'area della superficie peritoneale nell'uomo adulto è stata considera-

ta per lungo tempo variante tra 1.7 e 2.0 m.2 e nel tempo sono state proposte varie formule di calcolo in base al peso corporeo, alla superficie corporea, alla distanza sterno pube ecc) (15). Del tutto recentemente però sono stati effettuati studi nell'animale, nell'uomo e nel bambino (14, 25) che rimettono in discussione questi dati che sembravano ormai assodati. Infatti le aree peritoneali sono state misurate autopticamente su visceri distesi sia degli animali che dell'uomo e sono stati trovati valori sensibilmente differenti. Ad esempio nel ratto la superficie media riscontrata è stata in media di 595 cm² e nell'uomo di 7792 mentre nel

bambino sembra maggiore. Nel coniglio possiamo stimarla di circa 820 cm². Questi dati, specie per quanto riguarda l'uomo, sono decisamente inferiori a quelli ritenuti corretti fino ad oggi, mentre sono superiori negli animali da laboratorio, e quindi l'area della superficie peritoneale non è correlabile con la superficie corporea, con il peso corporeo o la distanza tra lo xifoide e la sinfisi pubica (Fig. 6). Con lo studio delle colture di cellule mesoteliali abbiamo potuto osservare che, allorché a confluenza, conservano *in vitro* le stesse dimensioni e morfologia che *in vivo*. In fiasche di 75 cm² abbiamo 7.500.000 di cellule mesoteliali a confluenza e quindi possiamo anche calcolare con una discreta approssimazione il numero di cellule mesoteliali che ricoprono l'intero peritoneo negli animali e nell'uomo.

Modificazioni istologiche in corso di dialisi peritoneale

Durante la dialisi peritoneale in pazienti che mostravano un peritoneo integro al momento del posizionamento del catetere peritoneale, si possono osservare varie alterazioni che si evidenziano man mano, in rapporto al tempo di dialisi ed al numero degli episodi di peritonite sofferti. Le prime alterazioni sono la scomparsa dei microvilli, l'apertura delle giunzioni cellulari (Fig. 7) e la formazione di una intensa vacuolizzazione alla base delle cellule mesoteliali (Fig. 8) (5, 8-12). Si può affermare che il mesotelio peritoneale subisce durante la dialisi peritoneale un danno continuo. Infatti è ben dimostrabile anche morfologicamente (Fig. 9) un esagerato turnover, con un continuo lavoro di rigenerazione (Fig. 10) delle cellule mesoteliali danneggia-

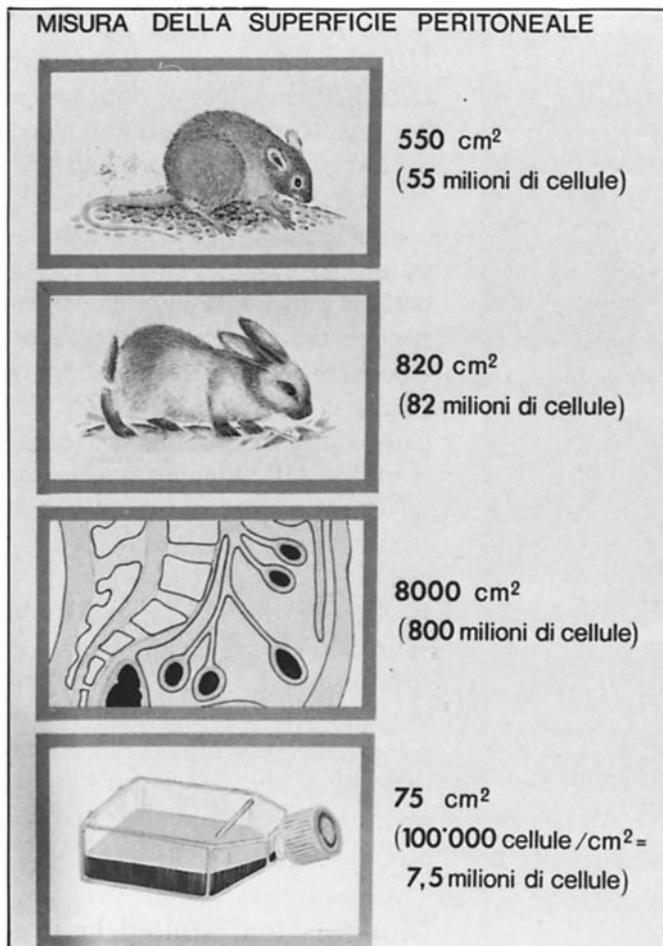


Fig. 6 - Misura della superficie peritoneale secondo recenti acquisizioni.

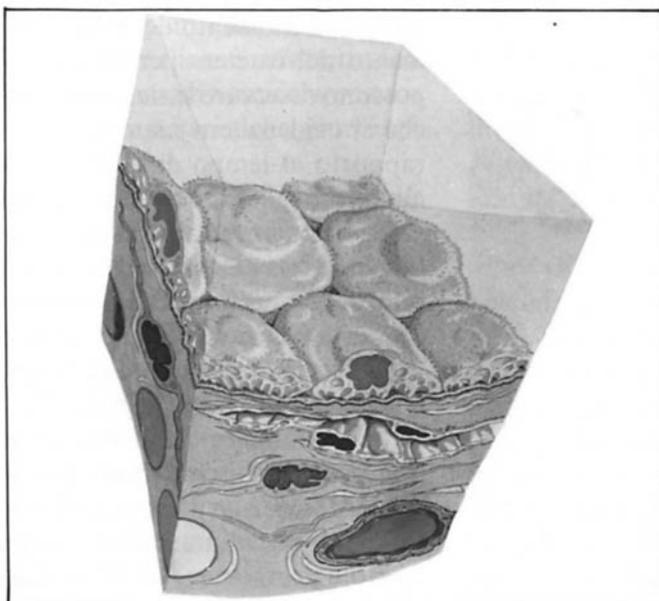


Fig. 7 - Il peritoneo durante la dialisi peritoneale. Alterazioni precoci.

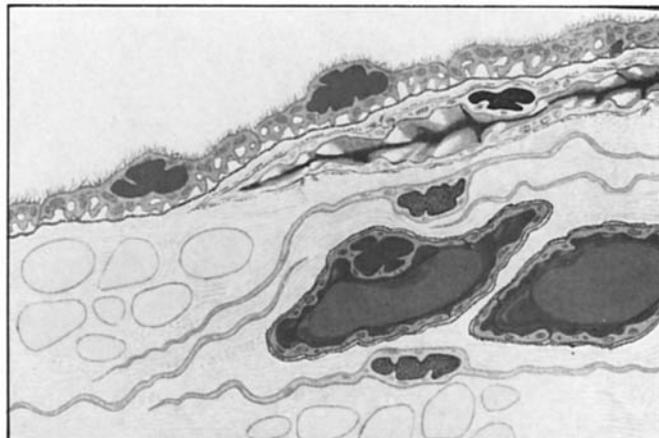


Fig. 8 - Vacuolizzazione intensa alla base cellulare mesoteliale durante la dialisi peritoneale.

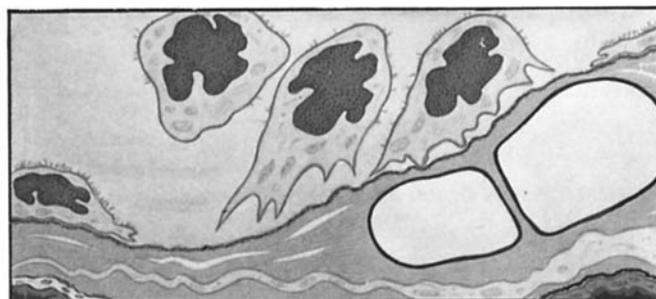


Fig. 9 - Turnover di cellule mesoteliali durante la dialisi peritoneale.

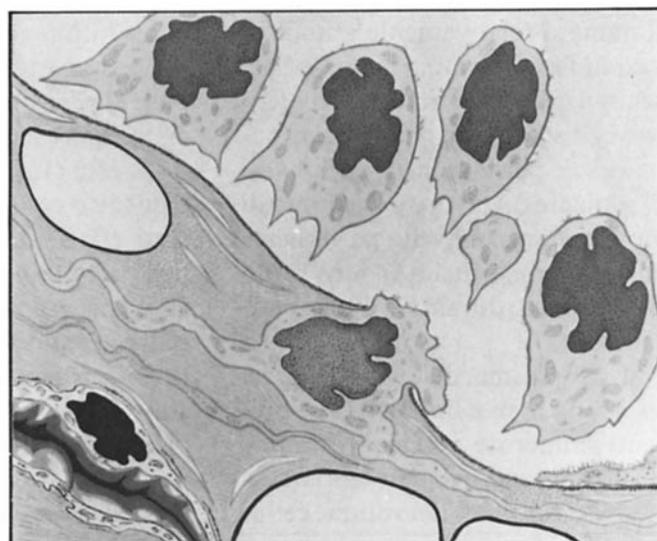


Fig. 10 - Lavoro di rigenerazione mesoteliale peritoneale durante la dialisi peritoneale.



Fig. 11 - *Cellula mesoteliale durante la CAPD. Non è più una cellula di rivestimento, ma una cellula secretiva.*

te dalle soluzioni di dialisi commerciali (15, 23). Nello stesso mesotelio è osservabile fin da pochi giorni di dialisi una intensa attività degli organi citoplasmatici che appaiono estremamente sviluppati tali da rendere irriconoscibili tali cellule rispetto a quelle osservate prima della dialisi peritoneale (Fig. 11). Le modificazioni patologiche osservabili sono progressive e parto-

no da una graduale riduzione fino alla completa scomparsa dei microvilli (Fig. 7), seguita dall'apertura delle giunzioni cellulari (5, 18, 19, 28). La membrana basale mesoteliale dopo alcuni mesi di CAPD mostra evidenti segni di replicazione (Fig. 12) (20, 43). A nostro avviso questo è un segno molto importante di danno iatrogeno provocato dal glucosio delle soluzioni di

dialisi.

La replicazione della membrana basale dei capillari peritoneali, presente durante la dialisi peritoneale (Fig. 13) è stata osservata, oltre che nel diabete, in varie patologie ed anche nell'uremia (12, 17, 21), ma non esistono in letteratura, per quanto ne sappiamo, segnalazioni inerenti la replicazione della membrana basale mesoteliale. Una spiegazione plausibile ci sembra quella che il glucosio delle soluzioni agisca quale stimolo, nella stessa maniera di come agisce in generale nei vasi del paziente diabetico. Nel paziente diabetico dopo alcuni anni di CAPD è osservabile una presenza elevata di ispessimenti di membrane basali dei capillari (Fig. 14). Durante la peritonite i danni più vistosi sono evidenti a livello mesoteliale. La SEM mostra drammaticamente il distacco a lembi del mesotelio lasciando a nudo il sottostante connettivo (9, 10, 12).

Abbiamo osservato a proposito i quadri più vari: distacco della cellula mesoteliale che lascia in situ la membrana di base (Fig. 15), distacco anche di questa ultima con parte di connettivo (Fig. 16), messa a nudo di tutto il connettivo (Fig. 17)



Fig. 12 - *Replicazione della membrana basale mesoteliale durante la CAPD.*

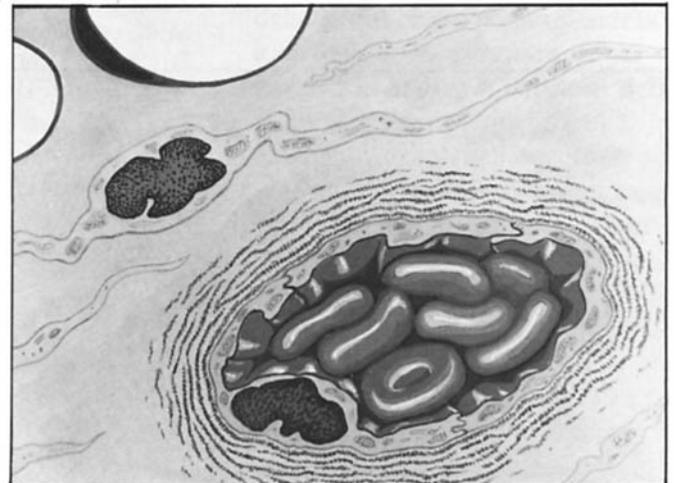


Fig. 13 - *Replicazione della membrana basale capillare durante la CAPD.*



Fig. 14 - *Ispessimento della membrana basale capillare durante la CAPD in un paziente diabetico.*



(Fig. 13).
Se la necrosi del tessuto mesoteliale è l'evidenza più eclatante, non meno appariscenti sono tutte le altre manifestazioni dell'infiammazione (edema del connettivo, infiltrazione cellulare dello stesso, evidente mobilitazione della serie bianca a livello vascolare ematico e linfatico).

Dopo 1-4 mesi dall'episodio peritonitico possono ancora osservarsi danni anatomici: infatti a tratti il mesotelio è assente e sostituito da tessuto fibroso, mentre in alcuni punti il peritoneo è mal valutabile perché coperto da fibrina. Quadri di fibrosi peritoneale (o sclerosi peritoneale) sono osservabili con frequenza dopo alcuni anni

di Dialisi Peritoneale e la loro estensione e gravità è sicuramente in rapporto al numero degli episodi di peritonite sofferti (Fig. 18).

È necessario tuttavia distinguere la fibrosi peritoneale dalla peritonite sclerosante (3, 16), che è un quadro drammatico di proliferazione fibrotica villosa del peritoneo.

La coltura della cellula mesoteliale

La scoperta del potere secernente i fosfolipidi da parte della cellula mesoteliale (12), ha evidenziato la necessità di meglio comprendere la fisiologia del mesotelio: la via più semplice ci sembra quella intrapresa da Alcorni (27) nello studio degli altri mesoteli che si avvale della coltura delle cellule mesoteliali *in vitro*.

Per il prelievo di cellule mesoteliali peritoneali si possono utilizzare due tecniche originali descritte dal nostro gruppo: la prima può essere applicata durante l'inserzione del catetere permanente di Tenckhoff: all'animale anestetizzato, dopo aver effettuato una piccola laparotomia mediana (10 mm) con una pinza anatomica si tira fuori dall'addome un po' di omento (2-3 cm) e dopo aver legato con un dop-

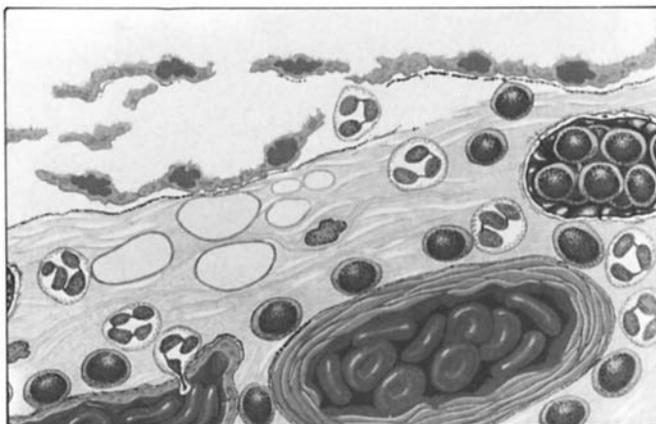


Fig. 15 - *Peritonite in CAPD. Distacco del mesotelio.*



Fig. 16 - *Peritonite durante la CAPD. Distacco del mesotelio e della membrana basale.*

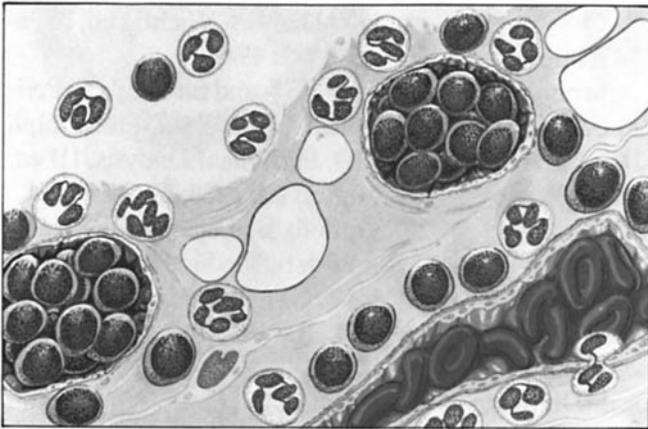


Fig. 17 - Peritonite durante la CAPD. Perdita di tessuto sottomesoteliale.

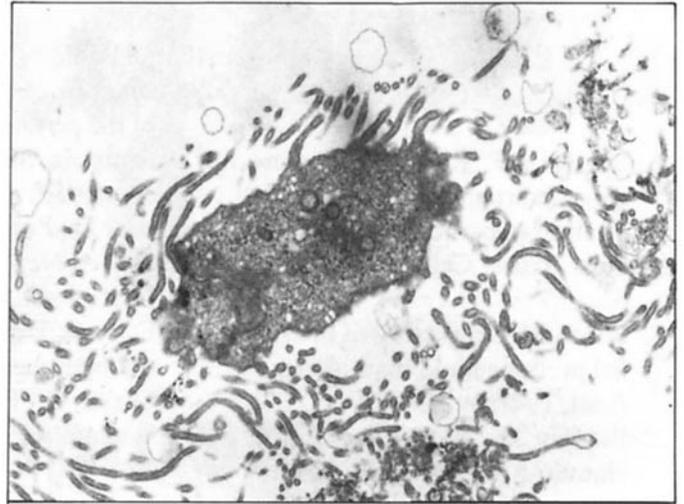


Fig. 19 - Cellula mesoteliale in coltura al microscopio elettronico a trasmissione.

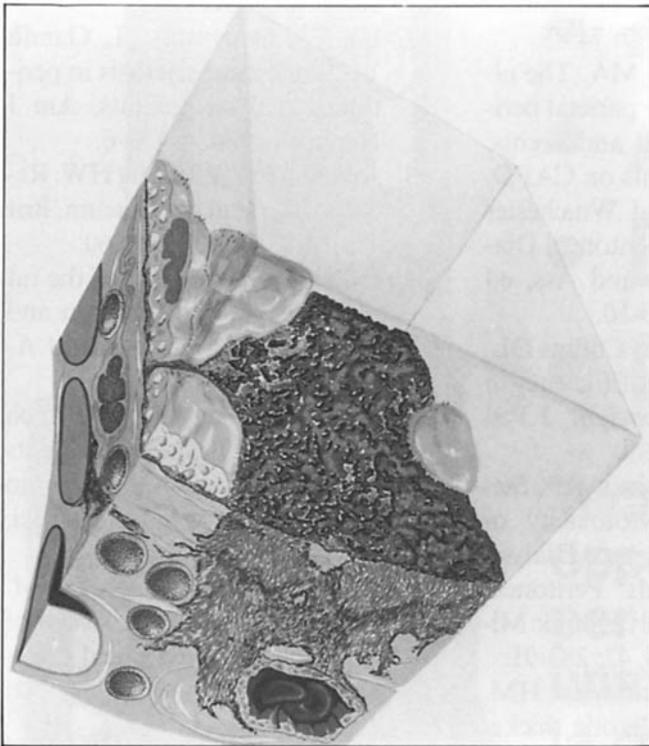


Fig. 18 - Sclerosi peritoneale dopo alcuni anni di CAPD.

pio laccio l'estremità distale si recide l'omento all'altezza delle due legature.

L'omento così recuperato si immerge immediatamente in soluzione di tripsina tamponata all'1% per la durata di 10-12 m'.

La seconda tecnica può essere applicata ad animali che hanno già un catetere peritoneale posizionato introducendo in cavità una soluzione allo 0.1% di tripsina tamponata

per circa 15 m'. Ambedue queste tecniche originali non provocano danni all'animale ed anche la tripsina a queste concentrazioni non ha effetti sistemici.

Nell'uomo è utilizzabile logicamente solo la prima tecnica durante l'inserzione o la rimozione di un catetere peritoneale per via chirurgica.

Le cellule mesoteliali crescono bene in terreni comuni e possono es-

sere riseminate fino ad 8 passaggi, dopodiché le cellule perdono la loro capacità riproduttiva, e dopo l'ottavo passaggio si sono notate anche alterazioni cromosomiche. Si può procedere naturalmente al congelamento delle cellule mesoteliali coltivate.

La caratterizzazione delle cellule mesoteliali che viene fatta ordinariamente con la fluocitometria, con la valutazione morfologica, con la valutazione biochimica (studio del citoscheletro proteico, comprensivo del Fattore VIII come antigene), del contenuto lipidico cellulare, della produzione prostaglandinica e di fosfolipidi permette di per sé già di introdurre il capitolo della fisiologia dei mesoteli umani.

Le cellule mesoteliali in coltura appaiono alla microscopia prima di giungere a confluenza di aspetto simil-fibroblastico, per poi, una volta raggiunta la confluenza (Fig. 19), assumere un aspetto del tutto simile alle cellule mesoteliali più volte descritte *in vivo* durante la dialisi peritoneale (4) e nel liquido di dialisi di deflusso: hanno infatti un citoplasma ricchissimo di organi citoplasmatici e la superficie ricoperta di microvilli.

Bibliografia

1. Baraldi AF, Rao SN: A scanning electron microscope study of mouse peritoneal mesothelium. *Tissue Cell* 1976; 8: 159-62.
2. Baron MA: Structure of intestinal peritoneum in man. *Amer J Anat*, 1941; 69: 439-97.
3. Bradley JA, Mc Whinnie DL, Hamilton DNH, et al. Sclerosing obstructive peritonitis after CAPD. *Lancet*, 1983 i: 113-6.
4. Di Paolo N: CAPD. *Wichtig Ed Milano* 1987, 3-20.
5. Di Paolo N: The morphology of the peritoneal membrane during peritoneal dialysis. In: La Greca G, Chiaromonte S, Fabris A: *Peritoneal dialysis*. *Wichtig Ed.*, 1988, 3-6.
6. Di Paolo N, Alessandrini C, Gerli R, Sacchi G: Trasporto peritoneale e cinetica degli scambi. In: D'Amico G, Vendemmia F, Sorgato G. *Attualità Nefrologiche e Dialitiche*, Il Pensiero Scientifico Ed. Roma, 1979, 79-91.
7. Di Paolo N, Buoncristiani U, Sorrentino AM, Strappaveccia F, Gaggiotti E, Rubegni M: Some aspects of gastrointestinal function in CAPD. In: Gahl GM, Kessel M, Nolph KD: *Advances in Peritoneal Dialysis*. Excerpta Med Ed, Amsterdam, 1981, 244-9.
8. Di Paolo N, Sacchi G: Peritoneal Vascular Changes in CAPD: An *in vivo* model for the study of Diabetic Microangiopathy. *Perit Dialysis Intern*, 1989; 9: 41-5.
9. Di Paolo N, Sacchi G, Buoncristiani U, et al. The morphology of the peritoneal membrane during CAPD. *Nephron* 1986; 44: 204-11.
10. Di Paolo N, Sacchi G, Buoncristiani U, et al. The morphology of the peritoneum in CAPD patients. In Maher JF and Winchester JF, "Frontiers in Peritoneal Dialysis". Field, Rich and Ass, ed New York, 1986; 11-20.
11. Di Paolo N, Sacchi G, Gaggiotti E, et al. Does Dialysis Modify the peritoneal structure? In: La Greca G: *Peritoneal Dialysis*, *Wichtig ed*. Milano, 1988; 11-24.
12. Dobbie JW. Morphology of the Peritoneum in CAPD. *Blood Purification*, 1989; 7: 74-85.
13. Dobbie JW, Zaki MA. The ultrastructure of the parietal peritoneum in normal and uremic man and in patients on CAPD. In: Maher JF and Winchester JF: *Frontiers in Peritoneal Dialysis*. Field, Rich and Ass, ed New York 1986; 3-10.
14. Esperanca MJ and Collins DL. Peritoneal Dialysis Efficiency in relation to body weight. *J Ped Surg*, 1966; 1: 162-9.
15. Gallimore B, Gagnan RF, Stevenson MM. Cytotoxicity of Commercial Peritoneal Dialysis Solutions towards Peritoneal Cells of Chronically Uremic Mice. *Nephron* 1986; 42: 283-91.
16. Gandhi VC, Humayun HM, Todd S, et al. Sclerotic thickening of the peritoneal membrane in maintenance peritoneal dialysis patients. *Arch Int Med*, 1980; 140: 1201-3.
17. Gilchrest BA, Rowe JW, Mihm MC. Clinical and Histological skin changes in chronic renal failure: evidence for a dialysis-resistant, transplant responsive microangiopathy. *Lancet* 1980; ii: 1271-5.
18. Gotloib L. Anatomy of the Peritoneal Membrane. In: La Greca G, Biasoli S, Ronco C. *Peritoneal Dialysis*. *Wichtig ed*, Milano, 1982; 17-30.
19. Gotloib L and Shosttak A. Peritoneal Ultrastructure in Nolph KD. *Peritoneal Dialysis*, III ed. Nijhoff ed. 1989; 67-95.
20. Gotloib L, Digenis GE, Rabinovich S, Medline A, Oreopoulos DG. Ultrastructure of Normal Rabbit Mesentery. *Nephron* 1983; 34: 248-55.
21. Ichimaru K, Horie A. Microangiopathic Changes of Subepidermal Capillaries in End-Stage renal failure. *Nephron*, 1987; 46: 144-9.
22. Ing TS, Daugirdas JT, Gandh VC. Peritoneal sclerosis in peritoneal dialysis patients. *Am J Nephrol*, 1984; 4: 173-6.
23. Johnson FR, Whitting HW. Repair of parietal peritoneum. *Brit J Surg*, 1962; 49: 653-660.
24. Odor R. Observation of the rat mesothelium with electron and phase microscopes. *Amer J Anat*, 1954; 95: 433-441.
25. Rubin BJ, Clawson BS, Planch A and Jones BS. Measurements of Peritoneal Surface area in man and rat. *Amer J of Med Sci*, 1988; 295: 453-8.
26. Schmidt RW, Blumenkrantz M. Peritoneal sclerosis: a sword of Damocles for peritoneal dialysis? *Arch Inter Med*, 1981; 141: 1264-7.
27. Wagner JC, Johnson NF, Brown DG, Wagner MMF. Histology and ultrastructure of serially transplanted rat mesotheliomas. *Brit J Cancer*, 1982; 46: 294-9.
28. Werger C, Brunschvicg O, Le Charpentier Y, Lavergne A, Vantelon J. Structural and ultrastructural peritoneal membrane changes and permeability alterations during CADP. *Proc EDTA*, 1981; 18: 199-205.