



Istituto di Anatomia Patologica
della R. Università di Messina
diretto dal Prof. P. FERRARO

Messina S. S.

ANCORA SULLA FISSAZIONE
DEI
PIGMENTI BILIARI NELLA PLACENTA

RICERCHE ISTOLOGICHE

DEL

Dott. VINCENZO CORDARO

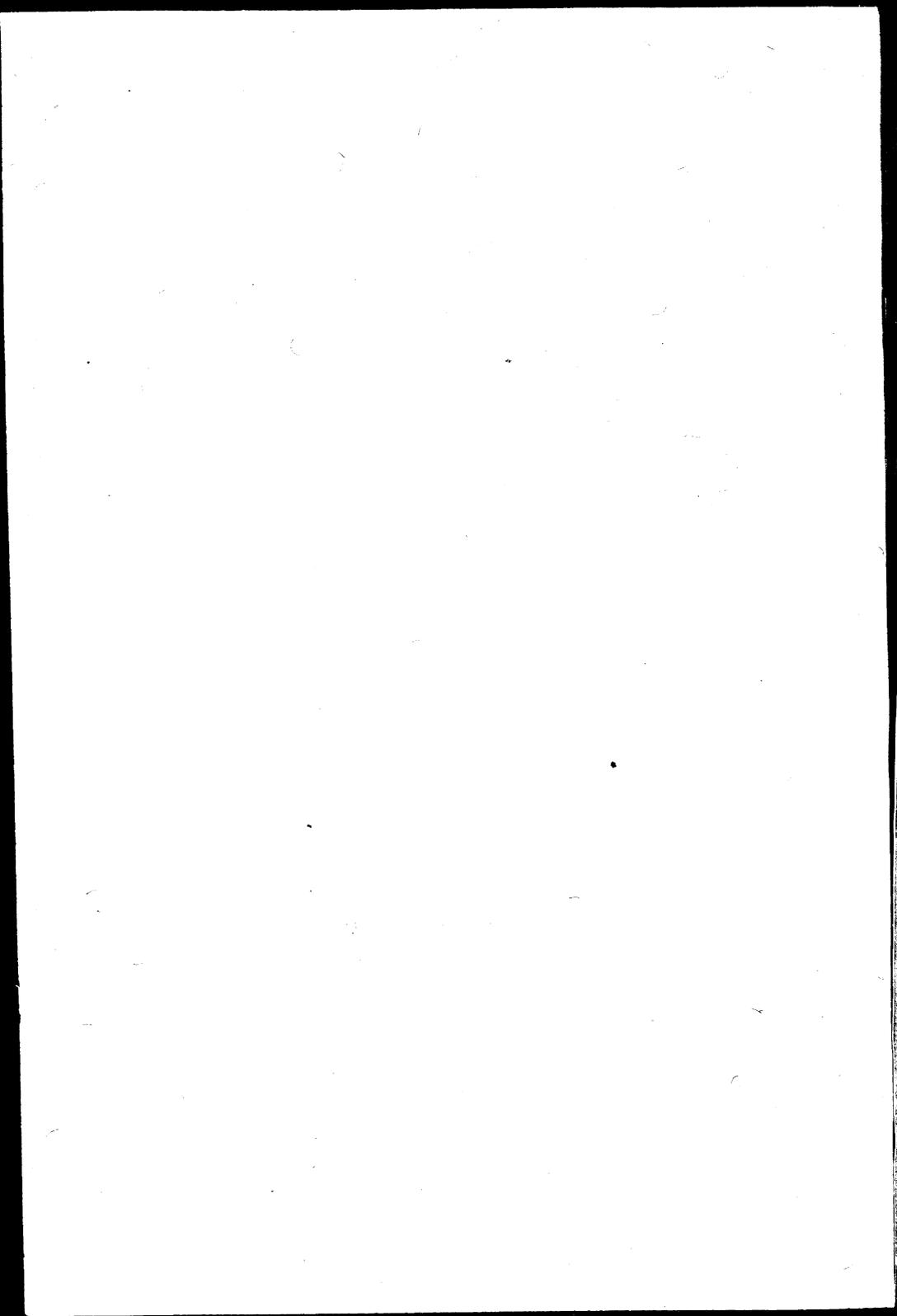
LIBERO DOCENTE DI OSTETRICIA E GINECOLOGIA
NELLA R. UNIVERSITÀ DI MESSINA



MESSINA
TIPOGRAFIA F. NICASTRO

1904





Istituto di Anatomia Patologica
della R. Università di Messina
diretto dal Prof. P. FERRARO

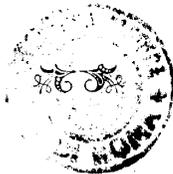
ANCORA SULLA FISSAZIONE
DEI
PIGMENTI BILIARI NELLA PLACENTA

RICERCHE ISTOLOGICHE

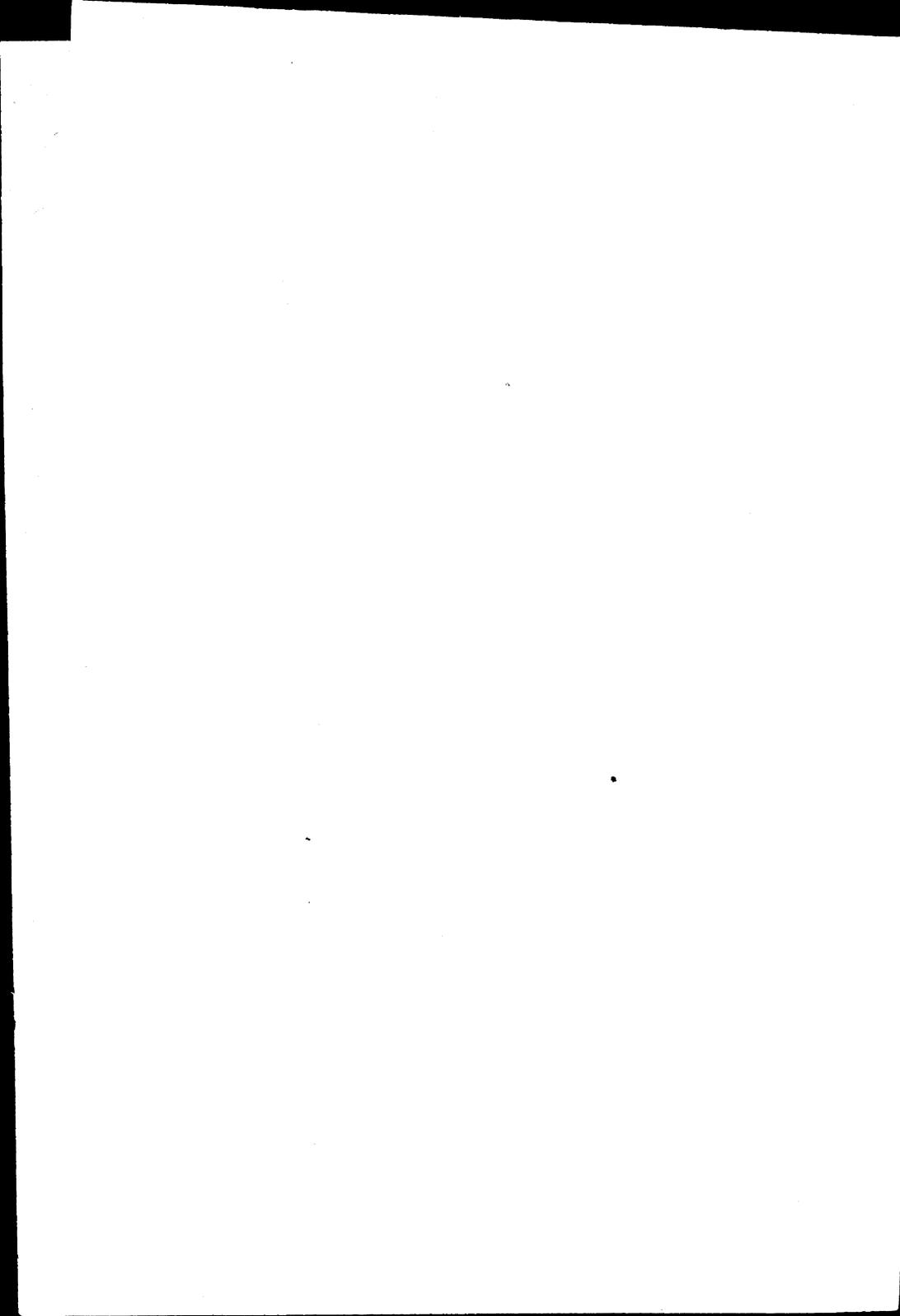
DEL

Dott. VINCENZO CORDARO

LIBERO DOCENTE DI OSTETRICIA E GINECOLOGIA
NELLA R. UNIVERSITÀ DI MESSINA



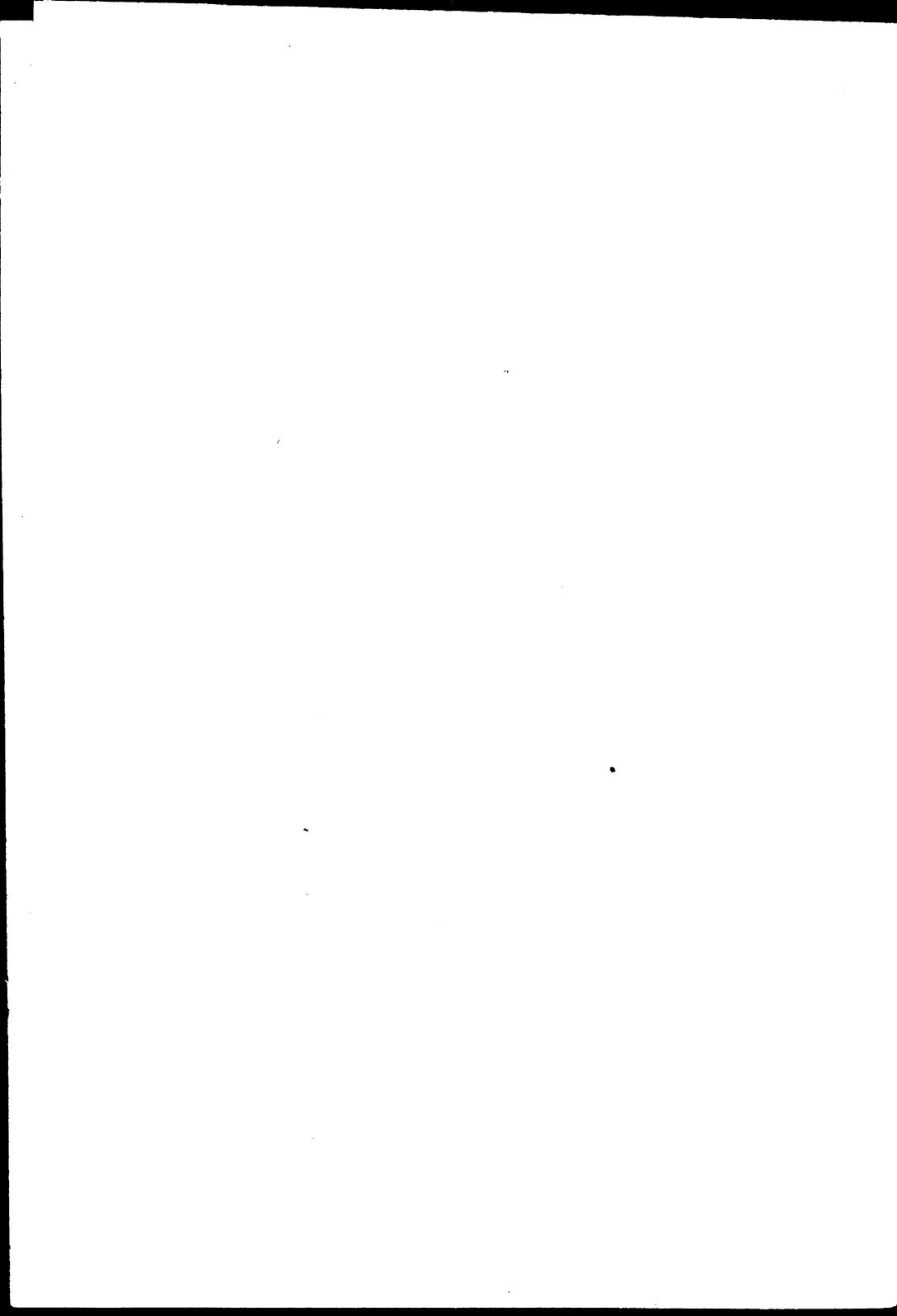
MESSINA
TIPOGRAFIA F. NICASTRO
—
1904



AD ANTONIO ZINCONE

ANATOMISTA INSIGNE

NEL XXV ANNO DEL SUO INSEGNAMENTO





Il fatto, da molti osservato e constatato anche da me più di una volta, che donne itteriche durante lo stato di gravidanza a termine ed al momento del parto, danno quasi costantemente alla luce feti non itterici e con apparenza del tutto normale, m'indusse ad indagare sperimentalmente se i pigmenti della bile vengano effettivamente in totalità trattenuti nel tessuto placentare. Il colorito naturale della pelle e delle mucose visibili dei nati da madri itteriche, e quello verde intenso delle placente relative, giustificava la supposizione che i pigmenti biliari si arrestassero a livello dell'organo placentare, dimostrandola quasi come un fatto reale, senza però escludere il dubbio che la mancanza della itterizia nel feto potesse essere soltanto apparente. Infatti poteva darsi benissimo che dei pigmenti biliari circolanti nel sangue della madre itterica solo una parte passasse per la placenta e per la vena ombelicale nel feto, e che questa parte fosse tanto esigua da non essere sufficiente ad imprimere il colorito giallo caratteristico dei colemici al prodotto del concepimento.

Per chiarire questo dubbio, pensai di praticare, con

i vari metodi chimici che abbiamo a nostra disposizione, la ricerca dei pigmenti biliari nel liquido amniotico e nell'estratto alcoolico ed acquoso dei tessuti di feti provenienti da animali, che in precedenza avevo resi fortemente itterici, mercè la legatura brusca e completa del canale coledoco. Il risultato fu sempre identico e affatto negativo tanto il liquido amniotico quanto i tessuti fetali giammai mostrarono di contenere pigmenti biliari, i quali invece erano costantemente abbondantissimi nell'estratto alcoolico ed acquoso delle relative placenti.

Due placenti umane provenienti da donne gravemente itteriche al momento del parto mi avevano dato identico risultato positivo, nel mentre che affatto normale era il colorito della pelle e delle mucose accessibili di entrambi i feti.

Il dubbio così era eliminato indiscutibilmente, e si poteva affermare di trovarsi in presenza non di fatti illusori, ma di una verità che può formularsi in una proposizione come la seguente: « *i pigmenti biliari circolanti nel sangue di animali itterici ed in istato di gravidanza si arrestano completamente nel tessuto della placenta e non passano nel feto.* » — È stata appunto questa la conclusione alla quale io sono venuto nel mio lavoro, intitolato: *Sulla fissazione dei pigmenti biliari nella placenta durante la gravidanza complicata da itterizia*, il quale venne pubblicato nella *Rassegna di Ostetricia e Ginecologia* del 1903 e che io ho qui riassunto in poche parole. Dai risultati di questo mio lavoro il fatto della fissazione dei pigmenti biliari nella placenta veniva indubbiamente assodato; nondimeno restava da mettere in luce le modalità del fatto istesso; occorreva dimostrare in maniera ugualmente chiara e precisa prima di tutto in quale parte costitutiva del tessuto placentare si verificava l'arresto delle

sostanze coloranti della bile; e poi, qualora fosse stato possibile, stabilire per mezzo di quale meccanismo, o per meglio dire per mezzo di quale processo, aveva luogo l'arresto medesimo. Nel lavoro sopra menzionato io ho fatto cenno di entrambi i quesiti in parola, ma semplicemente in maniera molto superficiale e di sfuggita; poichè, volendo senza indugio comunicare i primi risultati delle ricerche sopra un fatto tanto importante di patologia della gravidanza e fin'ora da nessuno studiato di proposito e con cura, il tempo che avevo allora a mia disposizione era troppo breve. Mi limitai in quanto all'essenza del processo di fissazione a mettere avanti l'ipotesi che esso potesse consistere in una combinazione chimica dei corpi coloranti della bile con i sali di calcio contenuti in abbondanza nell'organo placentare; e circa il punto dove l'arresto avveniva, mi contentai per allora a constatare semplicemente che granuli di pigmento si trovavano nell'interno del corpo di cellule isolate a fresco per dilacerazione dalla superficie uterina della placenta, ed alcune cellule così cariche di pigmento verdastro feci anche rappresentare in maniera schematica nella tavola che accompagna il lavoro. Com'era ben naturale mi riservavo di trattare largamente, e qualora fosse stato possibile in maniera da esaurirla, la questione, non appena ne avessi avuta l'opportunità; mirando sempre ai due argomenti di cui sopra è cenno, per fare di ciascuno di essi oggetto di un lavoro a parte.

L'occasione per intraprendere le ricerche dirette a risolvere il primo quesito, quello cioè del punto di arresto, non tardò a presentarsi.

La signora G. A. L., moglie ad un egregio medico della città, la stessa dell'Osservazione I^a, riferita nel mio primo lavoro sui pigmenti biliari nella placenta di sopra menzionato, rimasta incinta per la seconda volta, nuovamente pre-

sentò colorazione itterica diffusa, ma di grado leggiero solo verso la fine della gravidanza. Questa procedette regolarmente fino al termine, e si espletò in maniera del tutto normale. Il feto vivo e ben conformato presentava la colorazione consueta, nel mentre che la placenta appariva di un colore giallo-verdastro non molto intenso, ma ben evidente. Fatta portare quest'ultima all'Istituto di Anatomia Patologica, stabilii d'iniziare su di essa delle ricerche istologiche accurate, con la speranza di poter vedere a quale categoria appartenessero gli elementi cellulari della placenta che avevano la proprietà d'impedire che i pigmenti biliari circolanti nel sangue materno, passassero da questo nel circolo fetale. Ad intraprendere tali ricerche in questa occasione fui indotto anche dal fatto che il coloramento itterico della placenta in parola era assai tenue; pensai che essendo scarso il pigmento biliare, mi sarebbe stato più agevole determinarne la distribuzione topografica, conoscendo di già per prova che quando la placenta è sovraccarica di bile, come p. es. dopo la legatura del coledoco in un animale gravido, all'osservazione istologica è assolutamente impossibile distinguere non solo la distribuzione del pigmento, ma anche la fine struttura dell'organo, la quale è completamente mascherata dalla presenza del pigmento medesimo.

Dei pezzi di questa placenta parte li misi ad indurire in alcool, e parte in soluzione di formalina al 10 %. I pezzi messi in alcool, com'era da prevedersi, prestissimo si scolorarono del tutto cedendo al liquido fissatore il colore giallo verdastro, mentre gli altri posti in formalina perdettero solo in parte la colorazione primitiva.

Parecchi frammenti, piuttosto grossi, tanto degli uni che degli altri, misi a colorare in massa, parte col carminio litico e parte con l'ematossilina alluminata; e quindi, dopo

averli fatti passare per la serie degli alchools ed in xilolo, l' inclusi in paraffina e li sezionai al microtomo. Dirò subito che nelle sezioni dei pezzi fissati ed induriti fin dal primo momento in alchool e colorati in massa al carminio, nulla mi fu dato di rilevare: dappertutto riscontrai la struttura normale caratteristica della placenta, ma in nessun punto di essa riuscii a scorgere traccia alcuna di pigmento, che potesse anche lontanamente ricordare quelli della bile.

La ragione di questo reperto assolutamente negativo io credo si debba ricercare oltre che nei passaggi ripetuti in alchool, anche nel metodo di colorazione. Questo, com' è noto, richiede, dopo l'uso del colore, il passaggio del pezzo, o della sezione, a seconda che si pratica la colorazione in massa ovvero la frazionata sui tagli singoli, in alchool acidulato con acido cloridrico, ed è quest' ultimo reagente, specie se agisce per un tempo piuttosto lungo, come avviene per l'appunto nella colorazione *in toto*, quello che assai verosimilmente dissolve e fa scomparire quel po' di pigmento che l'alchool semplice non era riuscito a levare via. Questa spiegazione del reperto negativo nei preparati provenienti da pezzi fissati in alchool semplicemente, e colorati al carminio, sebbene ipotetica, non deve essere considerata del tutto arbitraria. In altri preparati infatti provenienti da pezzi ugualmente fissati in alchool fin da principio, ma colorati invece con l'ematossilina, e che perciò non avevano affatto subita l'azione di acido alcuno, il reperto fu alquanto diverso e non del tutto negativo. Come nei primi, anche in questi preparati, le lacune sanguigue materne ed i villi numerosissimi sparsi fra esse, trovai perfettamente di apparenza normale; solo nei secondi riscontrai in qualche punto della membrana *corion* in mezzo e dentro alle

grosse cellule di aspetto deciduale, che formano lo strato più esterno di essa, dal quale si elevano come arborizzazioni i villi coriali, degli accumuli più o meno grandi di pigmento giallo-bruno identico, per aspetto alla bilirubina. E granuli pigmentari dello stesso genere si trovavano anche addossati ai nuclei delle cellule connettivali, costituenti il tessuto di aspetto mucoso, il quale unisce la faccia interna del *corion* stesso con la superficie esterna dell'*amnios*. Questo pigmento dal colore caratteristico della bilirubina e che, almeno per quanto mi risulta, non si riscontra nelle placenti non itteriche, io credo si debba ammettere che provenga dalla bile circolante nel sangue della madre e che sia nè più nè meno che *bilirubina*.

Qualche cosa di più invece ho riscontrato nei preparati ottenuti dai pezzi che avevo trattato con l'ematosilina, previa fissazione in soluzione di formalina al 10 " „. In questi preparati, come in tutti quelli di placenta, si vedevano le grandi lacune vascolari materne in gran parte ripiene di globuli rossi del sangue, spesso fittamente stipati ed addossati fra loro; mentre però nei preparati ordinari di placenta normale i corpuscoli rossi appaiono come piccolissimi dischi incolori, in questi si presentavano alquanto gialli e frammentati a numerosissimi e minuti granuli giallo-verdastri. Nelle anse vasali dei villi, invece, si vedevano i corpuscoli rossi perfettamente scolorati come d'ordinario, e fra essi non si scorgeva pigmento alcuno.

Fra le grosse cellule del *corion* e dentro di esse, nonché nel tessuto di unione fra il *corion* e l'*amnios*, anche in questi ultimi preparati si vedevano granuli giallo-scuri e giallo-verdastri. All'infuori di questi osservati negli elementi del *corion* e del tessuto che unisce questo all'*amnios* in questi preparati di placenta umana non mi fu dato di scor-

gere in nessun punto granuli di pigmento nel corpo di elementi cellulari ; per cui restava ancora senza conferma il reperto dei preparati a fresco ottenuti per dilacerazione di frammenti di tessuto placentare, presi dalla superficie uterina di placentate di animali, ai quali avevo legato ilcoledoco, e che mi avevano fatto vedere delle cellule cariche di granuli di pigmento giallo-verdastro. Stabili perciò di continuare le ricerche sulle placentate degli animali, e scelsi quelle di cagna normale, cioè senza previa legatura delcoledoco. La ragione che mi fece decidere per questa scelta, mi trovo di averla in parte esposta di già nel descrivere il reperto fornitomi dalla placenta umana ; e sta nel fatto che il tessuto placentare sovraccarico di bile mal si presta per le osservazioni istologiche, le quali invece per il mio scopo io pensavo di poterle fare benissimo sulla placenta di cagna che, com'è noto, anche normalmente presenta un discreto deposito di pigmento biliare (biliverdina). (Landois, *Fisiologia*, vol. I, p. 319, trad. it.).

Questo pigmento nella placenta zonata della cagna, come del resto in quella di altri carnivori, non si trova diffuso su tutto l'organo, ma limitato quasi esclusivamente alle parti marginali di esso, in maniera da formare due anelli di colore verde, i quali, considerando la placenta in sito nel corno uterino, si possono chiamare uno superiore e l'altro inferiore, ed in mezzo a questi se ne trova un altro più largo, più grosso e più carnoso di colorito roseo. In corrispondenza di questi anelli verdi il tessuto placentare (*ectoblasta fetale*) e la superficie uterina invece di accollarsi, restano allontanati l'uno dall'altra, e nello spazio che risulta dal loro allontanamento si accumula del sangue materno, il quale forma una massa in cui stanno immerse le villosità coriali della regione corrispondente ; a questo spa-

zio ripieno di sangue si può dare il nome di « *seno laterale* » (Prenant, *Embriologie*, vol. I, p. 405, Paris, 1891). Questa parte colorata in verde della placenta dei carnivori, secondo alcuni autori (v. Prenant, l. c.), sarebbe destinata soprattutto alla nutrizione del feto, mentre la porzione centrale di colorito roseo eserciterebbe di preferenza la funzione respiratoria degli scambi gassosi fra il sangue materno e quello fetale.

Anche nelle cagne operate di legatura del coledoco, come in quelle normali, la colorazione verde nella placenta restò sempre limitata alle porzioni marginali dell'organo corrispondenti, come abbiamo visto, al cosiddetto seno laterale; le quali porzioni marginali però in questo caso si presentavano di un colore molto più accentuato che normalmente. La biliverdina circolante nel sangue della cagna, adunque, sia quale che si voglia la sua quantità, si fissa sempre nello stesso punto della placenta e per conseguenza mi pare che sia perfettamente logico il pensare che qualora io fossi riuscito a stabilire in quali elementi placentari questo pigmento in condizioni perfettamente normali si soffermi, mi sarei trovato ad avere al tempo istesso implicitamente determinato ancora quali siano gli elementi che nella placenta lo arrestano in condizioni patologiche, impedendogli di giungere al feto.

Frammenti di placenta di cagna normale, dopo essere stati fissati in soluzione di formalina al 10 %, ed induriti in alcool, vennero colorati in massa col carminio litico alcuni, ed altri con l'ematosilina alluminata, inclusi in paraffina e sezionati al microtomo in maniera che una sezione comprendesse quasi tutta la parte colorata in verde della placenta, ed un buon tratto della parte mediana di colorito roseo. Con l'osservazione microscopica nei preparati ottenuti

da questi pezzi si vedevano i villi coriali sporgenti nel seno laterale, e specialmente le loro ramificazioni più superficiali, quasi completamente rivestiti, o per meglio dire intonacati d'una sostanza granulosa verde-scura quasi nera, la quale trovavasi parimenti sparsa od a cumuli negli spazi compresi tra un villo e l'altro, e fra le ramificazioni di uno stesso villo. Questa sostanza pigmentaria sui villi in parola era generalmente così abbondante da rendere poco o niente visibile l'epitelio di rivestimento dei villi medesimi. Spostando il preparato in maniera da procedere con l'osservazione verso l'interno più verso il corion basale ed in prossimità del limite tra la zona pigmentata in verde e quella rosea, si poteva vedere che la sostanza pigmentaria diventava mano mano più scarsa e di colore più verde-chiaro, in modo tale che in qualche punto lasciava nettamente vedere i villi coi loro vasi ripieni di corpuscoli rossi del sangue perfettamente scolorati, nel mentre che le cellule dell'epitelio di rivestimento dei villi medesimi mostravansi col protoplasma di colore verde chiaro sparso di fini granuli parimenti verdi, e col nucleo ben distinto e perfettamente colorato in rosso od in bleu, a seconda che il preparato era stato trattato col carminio o con l'ematossilina.

I corpi di queste cellule si presentavano spesso con i contorni assai netti e ben distinti, ed all'infuori che in essi, in nessun altro punto dei villi si scorgeva traccia, anche minima, di pigmenti biliari, i quali invece si trovavano abbondantissimi assieme a corpuscoli rossi, formando con essi dei grandi ammassi, nell'interno delle lacune vascolari materne comprese fra i villi. Due di questi punti, or ora succintamente descritti, ho fatto fedelmente ritrarre nelle figure 1.^a e 2.^a, le quali forniscono un'idea molto più chiara e

netta del fatto osservato, di quello che possa qualsiasi descrizione per quanto minuziosa ed accurata.

L'osservazione della placenta di cagna normale per conseguenza conferma e completa i risultati di quella della placenta umana leggermente itterica, di cui la figura 3.^a presenta un tratto molto limitato, ma riprodotto in maniera precisa. In questa infatti vediamo il pigmento proveniente dalla bile sparso fra i corpuscoli rossi contenuti nell'interno delle lacune vascolari materne; in quella lo troviamo, oltre che nelle lacune medesime, anche nel protoplasma costituente il corpo delle cellule epiteliali, che rivestono esternamente i villi del corion, e che sono per le lacune vascolari in parola quello che gli elementi cellulari dell'endotelio rappresentano per i vasi: tanto nell'una placenta quanto nell'altra lo stroma dei villi ed i vasi fetali in essi villi contenuti, non presentano tracce di pigmento alcuno.

Riassumendo brevemente quello che fin qui ho esposto, dirò che in una placenta di feto a termine e perfettamente normale proveniente da una donna sofferente, durante gli ultimi mesi della gravidanza, di leggiera itterizia catarrale, con l'osservazione istologica ho potuto rilevare fra gli elementi corpuscolari del sangue materno la presenza di numerosissimi e finissimi granuli di pigmento giallo verdastro, il quale mancava assolutamente nel tessuto e nell'interno dei vasi dei villi. Piccoli e scarsi depositi di pigmenti gialloscuro ho trovati ancora sparsi qua e là fra gli elementi del corion basale.

In placente zonate appartenenti a cagne normali, ho riscontrato estesi depositi di pigmento verde parimenti nelle lacune vascolari materne, e presenza di granuli verdi nelle cellule epiteliali che rivestono queste lacune, nel mentre che

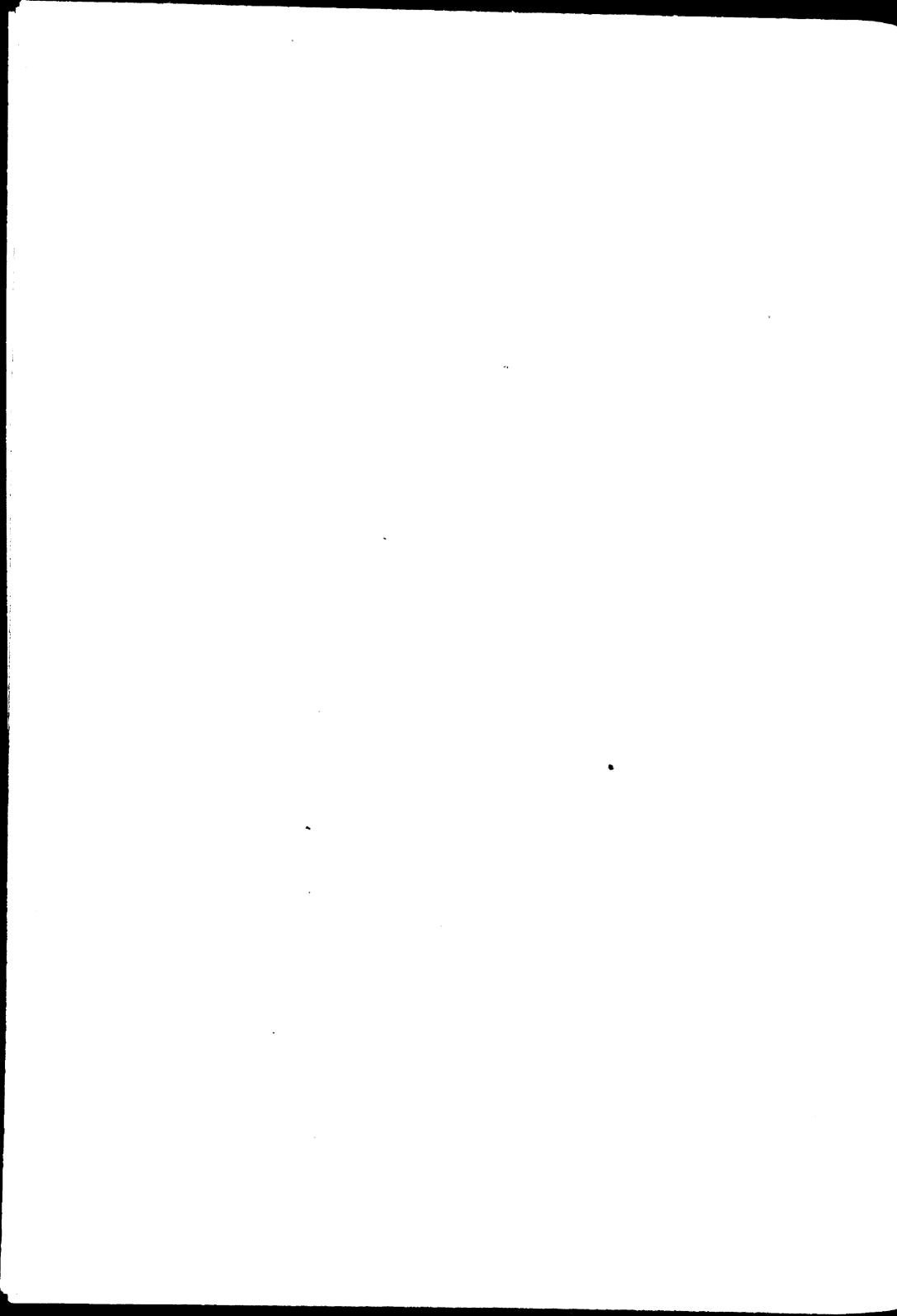
perfettamente liberi di pigmento si presentavano il tessuto dei villi ed i vasi fetali.

CONCLUSIONE — Da queste mie osservazioni io credo di poter concludere che nella placenta di soggetti itterici, i pigmenti biliari precipitano fra i corpuscoli del sangue materno e nel plasma liquido di esso, e sono impediti di giungere nei vasi ombelicali e quindi al feto dall'epitelio di rivestimento degli spazi vascolari materni, il quale epitelio forma lo strato più esterno dei villi placentari.

Con altre ricerche di genere differente e che presto mi auguro di poter condurre a termine e rendere di pubblica ragione, spero mettere in evidenza il processo chimico per il quale i pigmenti biliari precipitano e si depositano nella placenta.



27756



SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

FIG. 1.^a Placenta di cagna

- a)* grossi vasi fetali
- b)* ammassi di pigmento nelle lacune vascolari materne
- l)* lacune vascolari materne
- r)* villi coriali rivestiti da epitelio col protoplasma colorato in verde.

Hartnack Oc. 3 Ob. 4

FIG. 2.^a Placenta di cagna

- a)* vasi fetali
- r)* villi coriali
- e)* epitelio dei villi
- b)* pigmento nelle lacune materne

Hartnack. Oc. 3 Ob. 5

FIG. 3.^a Placenta umana

- a)* vasi fetali
- b)* corpuscoli del sangue e pigmento raccolto nelle lacune vascolari materne
- l)* lacune vascolari materne
- r)* villi

Hartnack. Oc. 3 Ob. 5

