







Морфологічне, імунно- та лектиногістохімічне оцінювання лімфоїдного апарату червоподібного відростка плода людини

М. Л. Таврог *^{1,B-F}, В. К. Сирцов ^{1,A,E}, Ю. І. Попович ^{2,C-D},
О. А. Григор'єва ^{1,E-F}, Н. Р. Попович ^{3,E}, Г. А. Зідрашко ^{3,E}

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²Івано-Франківський національний медичний університет, Україна,
³КНП «Обласна клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради», Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті;
F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – встановити морфологічні особливості лімфоїдних утворень червоподібного відростка людини в пізньому пренатальному періоді онтогенезу.

Матеріали та методи. Дослідили червоподібні відростки 42 плодів обох статей без аномалій, патологій шлунково-кишкового тракту, імунної системи і кровотворення. Застосували гістологічні, лектиногістохімічні (PNA+, SBA+), імуногістохімічні (експресія маркерів CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD34+, CD68+, Ki-67, каспаза 3+), морфометричні методи дослідження, здійснили статистичний аналіз результатів.

Результати. Поодинокі лімфоцити у слизовій оболонці червоподібного відростка плодів людини виявляли біля венул із 16–18 тижнів розвитку, їхні скупчення, з яких пізніше утворюються периваскулярні лімфоїдні вузлики, визначали з 25 тижня. Останні склалися з малих, середніх лімфоцитів, макрофагів, клітин у стадії апоптозу (каспаза 3+) та проліферації (Ki-67+), сітчастих клітин. З 28 тижня внутрішньоутробного періоду виявляли лімфоепітеліальні вузлики, які за складом клітин нагадували периваскулярні. В субепітеліальній і периферичній зонах вузликів були лімфоцити, що мали рецептори до CD3, PNA, а в центральній зоні – до CD20, SBA, макрофаги (CD68+/PNA+/SBA+), клітини в стадії проліферації (Ki-67+) та апоптозу (каспаза 3+). До кінця плідного періоду в лімфоїдних вузликах червоподібного відростка людини спостерігали зменшення відсотка T-лімфоцитів (CD3+), збільшення вмісту B-лімфоцитів (CD20+) й макрофагів (CD68+), які локалізувалися передусім у центральній зоні, але зародкові центри не сформовані.

Висновки. У процесі становлення лімфоїдної тканини червоподібного відростка під час пренатального періоду онтогенезу визначили критичні періоди: 16–18 тижнів – поява лімфоцитів у власній пластинці, 25 тижнів – формування периваскулярних вузликів біля венул, 28 тижнів – виникнення лімфоепітеліальних вузликів. З віком у лімфоїдних вузликах вміст T-лімфоцитів (CD3+) зменшується, а B-лімфоцитів (CD20+) й макрофагів (CD68+) зростає.

Ключові слова:

червоподібний відросток, лімфоїдні утворення, пренатальний період онтогенезу.

Запорізький медичний журнал.
2022. Т. 24, № 2(131).
С. 205-211

*E-mail:
mariannatavrog@gmail.com

Morphological, immuno- and lectinohistochemical evaluation of the lymphoid apparatus of the human fetal appendix

M. L. Tavroh, V. K. Syrtsov, Yu. I. Popovych, O. A. Hryhorieva,
N. R. Popovych, H. A. Zidrashko

Aim. To identify the morphological and functional features of the human appendix lymphoid formations in the late period of prenatal ontogenesis.

Materials and methods. The vermiform appendices from 42 human fetuses of both sexes without anomalies, diseases of the gastrointestinal tract, immune system and hematopoiesis were examined. Histological, lectinohistochemical (PNA+, SBA+), immunohistochemical (expression of markers CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD34+, CD68+, Ki-67, caspase 3+), morphometric methods of examination were used with statistical analysis of the obtained results.

Results. Single lymphocytes are seen near venules in the mucous membrane of the human fetal vermiform appendix at 16–18 weeks' gestation; the lymphocytes are aggregated to form the lymphoid follicles at the 25th week. The lymphoid follicles are populated by small- and medium-sized lymphocytes, macrophages, cells at the stages of apoptosis (Caspase 3+) and proliferation (Ki-67+), reticular cells. From the 28th week of the prenatal period, lymphoepithelial nodules are detected compositionally resembling perivascular ones. In the subepithelial and peripheral zones of the nodules, there are lymphocytes expressing CD3 and PNA receptors, in the central zone – CD20 and SBA receptors, macrophages (CD68+/PNA+/SBA+), cells at the stage of proliferation (Ki-67+) and apoptosis (caspase 3+). By the end of the fetal period, the lymphoid follicles of the human appendix contain fewer T-lymphocytes (CD3+) and an increased number of B-lymphocytes (CD20+) and macrophages (CD68+), which are localized mainly in the central zone, however, the germinal centers are not yet formed.

Conclusions. In the developmental process of the vermiform appendix lymphoid tissue during the prenatal period of ontogenesis, the following critical periods were noted: the 16th–18th weeks – the appearance of lymphocytes in the lamina propria, the 25th week – the formation of perivascular lymphoid follicles near venules, the 28th week – the appearance of lymphoepithelial nodules. The number of T-lymphocytes (CD3+) was decreased in the lymphoid follicles, while the number of B-lymphocytes (CD20+) and macrophages (CD68+) was increased with age.

Key words:

appendix, lymphoid formations, prenatal period of ontogenesis.

Zaporozhye medical journal
2022; 24 (2), 205-211

Важливе значення в забезпеченні постійного контролю антигенного гомеостазу має лімфоїдна тканина, асоційована з кишкою загалом і червоподібним відростком (ЧВ) людини зокрема [3, 10, 17, 18, 21, 22, 24, 27, 29]. Лімфоїдний апарат ЧВ – важливий елемент імунної системи [15, 18, 21, 22, 30], оскільки відіграє роль у формуванні В-зон органів імунної системи в онтогенезі [5, 9, 24], а також потрібен для продукції речовини, яка частково заміщує дію тимозину.

Вивчення будь-якого органа чи системи у віковому аспекті дає змогу визначити критичні вікові періоди морфофункціонального дозрівання структур і виявити поетапне становлення органа [2]. Імунна функція ЧВ пов'язана з умовами його розвитку та становлення системи імунного генезу в пренатальному періоді онтогенезу людини та тварин [2, 8, 25, 26]. Саме пренатальний період в онтогенезі людини пропонують вважати переломною фазою [12, 13, 16], коли розвивається механізм розпізнавання своїх і сторонніх антигенів, а також з'являються та циркулюють різні лімфоцити [7]. Навіть нормальні неінфіковані зародки людини можуть продукувати антитіла й імуносупресивні білки щодо антигенів матері [28], які через плаценту потрапляють у кровотік матері.

Відомості щодо морфофункціональних особливостей лімфоїдних структур ЧВ людини в пренатальному періоді онтогенезу нечисленні та потребують продовження вивчення [4, 24]. Важливий аспект – знання щодо розподілу лімфоцитів із різним фенотипом у лімфоепітеліальних структурах, який досі вивчали у тварин і зовсім не досліджували в людей.

Мета роботи

Встановити морфофункціональні особливості лімфоїдних утворень червоподібного відростка людини в пізньому пренатальному періоді онтогенезу.

Матеріали і методи дослідження

Матеріал для дослідження – шматочки ЧВ 42 плодів (8–40 тижні) без зовнішніх ознак анатомічних відхилень або аномалій, виключаючи патології шлунково-кишкового тракту, імунної системи та кровотворення. Вік ембріонів і плодів визначали шляхом вимірювання тим'яно-куприкової довжини за А. Шульцом. Матеріал брали впродовж першої доби на базі міського патологоанатомічного відділення КНП «Міська дитяча лікарня № 5» ЗМР і КНП «Запорізька обласна клінічна дитяча лікарня» ЗОР, а також КУ «Запорізьке обласне бюро судово-медичної експертизи» ЗОР.

На зрізах, забарвлених гематоксилином і еозином, підраховували кількість клітин на 1 мм² площі лімфатичного вузлика червоподібного відростка за методом С. Б. Стефанова (1988): визначали відсотковий вміст малих, середніх лімфоцитів, лімфобластів, макрофагів, плазмоцитів, клітин строми сполучної тканини у стадії проліферації та апоптозу.

Для морфофункціональної характеристики різних популяцій імунних клітин використовували специфічні лектини: арахісу (PNA-тропні до залишків β-D-галактози) та сої (SBA, що зв'язуються із залишками N-ацетил-D-галактозаміну). Застосовували стандартні

набори лектинів НБК «Лектинтест» (м. Львів). Рецептори до лектину арахісу (PNA) на мембранах містять Т-лімфоцити у різних стадіях диференціювання [20], до лектину сої (SBA) – В, Т, Т_γ і Т_μ лімфоцити. Рецептори до обох лектинів (PNA і SBA) мають В-лімфоцити, які не завершили процеси диференціації в центральних органах імунної системи, та функціонально активні макрофаги.

Імуногістохімічні дослідження здійснили на серійних зрізах завтовшки 3 μ з використанням моноклональних антитіл *Mo a-Hu*: 1) *Ki-67 Antigen, Clone MIB-1* маркера клітинної проліферації Ki-67; 2) *CD20, Clone L26* (SBA) маркера В-лімфоцитів; 3) *CD8, T-Cell, Clone C8/144B* – Т-кілерів («DAKO», США); 4) *CD3, Clone SP7* – Т-лімфоцитів; 5) *CD4 Ab-8, Clone 4B12* – Т-хелперів; 6) *CD68 (KP1): SC-20060* – маркера диференціювання макрофагів; 7) *Caspase 3 Ab-3, Clone 3CSP03* проти апоптозоспецифічної протеїнази каспаза-3 («NeoMarkers», США), *CD34, Clone QBEnd/10* проти ендотеліальних клітин; застосували систему візуалізації UltraVision LP («Thermo Scientific LabVision», США). Після появи результатів імуногістохімічних реакцій зрізи дозбарвлювали гематоксилином Маєра і поміщали у бальзам.

Розміри вузликів визначали окуляр-мікрометром. Площу обчислювали за формулою $S = \pi/4 \times (a \times b)$, де S – абсолютна площа лімфоїдних вузликів у мкм², $\pi = 3,14$; a і b – найменший і найбільший діаметри лімфоїдних утворень [1].

Статистично результати опрацювали на персональному комп'ютері, використали програму Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Обчислювали середнє значення (M), стандартну помилку репрезентативності середнього значення (m), розраховували 95 % довірчий інтервал середнього значення, що є загальноприйнятим для біологічних і медичних досліджень ($p < 0,05$).

Результати

Лімфоцити (Лф) у власній пластинці слизової оболонки ЧВ виявляли з 16–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку людини. Вони локалізувалися біля венул. Лектингістохімічно серед них виявляли клітини з глікокон'югатами лектину арахісу (PNA+), імуногістохімічно – CD3+ клітини, що ідентифіковані як Т-лімфоцити (Т-Лф). Крім лімфоцитів, виявляли PNA+ і CD68+ макрофаги (рис. 1а).

З віком вміст Лф у сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки збільшується. Протягом 18–20 тижнів з'являлися скупчення лімфоцитів (рис. 2а) передусім під епітелієм слизової оболонки. У складі лімфоїдних скупчень визначали малі, середні Лф, а імуногістохімічно – Т-Лф (CD3+ і PNA+). Частина клітин перебували на різних стадіях мітозу, імуногістохімічно вони мали експресію Ki-67+, тобто відповідали стану проліферації.

Упродовж 22–24 тижнів внутрішньоутробного розвитку плоду людини скупчення малих Т-Лф (CD3+, PNA+) збільшувалися за розмірами, у їхньому складі виявляли капілярні, тому їх визначали як периваскулярні лімфоїдні вузлики (ПЛВ). На периферії останніх концентрично розміщені колагенові волокна, що разом із фібробластами та кровоносними судинами формували сполучнотканинну капсулу. Кількість ПЛВ на поперечному зрізі ЧВ становила $2,30 \pm 0,26$. Вони мали кулясту чи овоїдну форму, середній діаметр – $342,4 \pm 8,2$ мкм (рис. 1б).

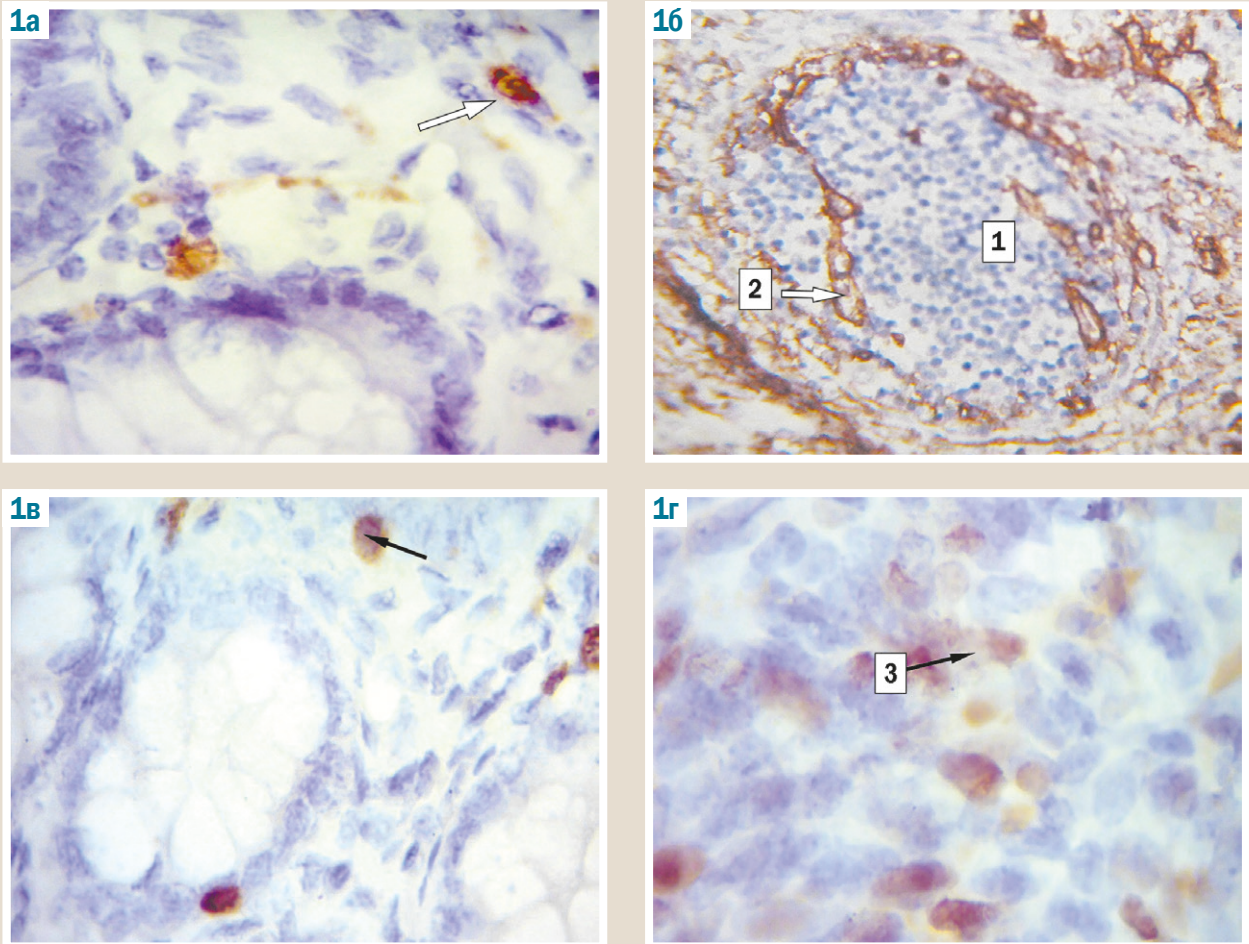


Рис. 1. Позитивна експресія CD68+ макрофагів (а,↑), CD3+ лімфоцитів (б,↑) у сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки, CD34+ ендотеліоцитів (б) і каспаза 3+ клітин (г) у лімфоїдному вузлик червоподібного відростка 18- тижневих (а) і 24-тижневих (б, в, г) плодів людини. Імуногістохімічна реакція: а – з CD68 Antigen, Clone SP-7; б – з CD 34+ Antigen, Clone SP-7; в – з CD 3+; г – з каспаза 3 Antigen, Clone MIB – 1, усі з хромогеном DAB і дозабарвленням гематоксиліном. Зб: а, в, г – ок. 10, об. 100; б – ок. 10, об. 20. 1 – лімфоїдний вузлик; 2 – венула; 3 – клітина з явищами апоптозу (каспаза 3+).

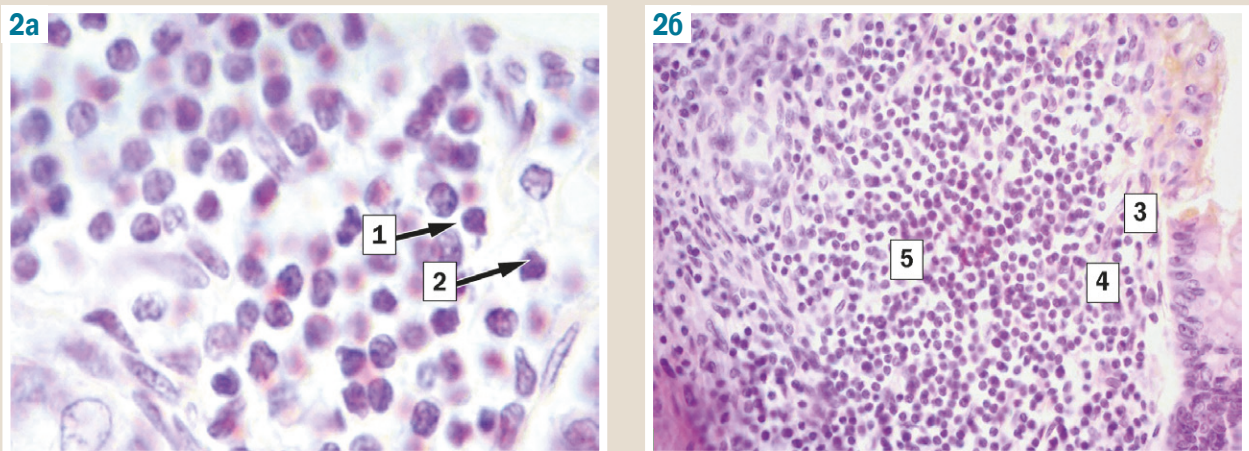


Рис. 2. Скупчення лімфоцитів слизової оболонки червоподібного відростка 20-тижневого плода людини (а) і лімфоепітеліальний вузлик червоподібного відростка 40-тижневого плода людини (б). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: ок. 10, об. 100. 1 – малий Лф; 2 – середній Лф; 3 – стовпчастий епітелій; 4 – субепітеліальна зона; 5 – центральна зона.

У ПЛВ найчисленніша клітинна популяція – малі Лф з розмірами 4,5–6,0 мкм, відсотковий вміст яких на одиницю площі становив $80,0 \pm 3,0$ %. Ядра в них щільні, а цитоплазма світла, у вигляді вузького обідка.

Лектино- й імуногістохімічно більшість із них становлять Т-Лф (PNA+ та CD3+), лише деякі клітини – В-Лф (CD20+ та SBA+). Виявили також середні Лф з розмірами 7,0–10,0 мкм, що за кількісними показниками

посідали проміжне місце між малими та великими; вони становили 15,7 ± 1,3 %. Ядро за формою нагадує таке в малих Лф, але менш базофільне; цитоплазма порівняно з ними більш виражена. Лектиногістохімічно вони споріднені з лектинами PNA і SBA, а імуногістохімічно виявляли позитивну реакцію з антитілами CD3, CD20. Крім клітин лімфоцитарного ряду, в лімфоїдних вузликах (ЛВ) виявляли макрофаги (Мф) (1,2 ± 0,3 %) з позитивною експресією CD68, PNA, SBA. Для них характерні великі розміри (15,0–18,0 мкм), округла, витягнута або неправильна форми. У ЛВ визначали також сітчасті клітини – 3,0 ± 0,2 %, клітини в стані апоптозу (каспаза 3+) (рис. 1е) та проліферації (Ki-67+).

Між ЛВ у проміжку між криптами слизової оболонки відростка розміщена сполучна тканина, в складі якої дифузно локалізуються поодинокі середні й малі Лф, передусім Т-Лф (CD 3+) (рис. 1е) і PNA, а також Мф (CD68, PNA+, SBA+).

Серед клітин епітелію ЧВ людини впродовж 22–24 тижнів виявляли Лф, що мігрували з підлеглого нижнього шару сполучної тканини. Гістологічно вони належали до малих Т-Лф, (CD3+, PNA+). На 100 клітин епітеліального шару над ЛВ нараховували 3,14 ± 0,36 Лф.

Упродовж 25–26 тижнів на основі скупчень Лф, що локалізувалися біля венул власної пластинки слизової оболонки ЧВ плода людини, утворювалися ПЛВ, у яких розрізняли центральну (ЦЗ) й периферичну зони (ПЗ). Остання за клітинним складом і вмістом не відрізнялася від ПЛВ у попередньому терміні. Імуногістохімічно серед виявлених Т-Лф переважали Т-хелпери (CD4+), що домінували над Т-супресорами (CD8+).

У центральній зоні ПЛВ гістологічно вміст малих Лф і макрофагів дещо зменшувався, а середніх Лф – збільшувалася щодо попереднього терміну ($p > 0,05$). Гістохімічно тут визначали В-Лф (SBA+, CD20+), а також клітини в стані апоптозу (каспаза 3+) й проліферації (Ki-67+). Центр розмноження в ПЛВ у цьому періоді не виявили.

Із 28 тижня ембріонального розвитку ЛВ завдяки збільшенню розмірів досягали епітелію слизової оболонки й перетворювалися на лімфоепітеліальні вузлики (ЛЕВ). Вони мали форму конуса, верхівка якого спрямована до епітелію; умовно розрізняли три зони: суб-епітеліальну (СЗ), центральну й периферичну (рис. 2б). Вузлики розділені сполучнотканинною капсулою.

Під епітелієм над вузликами, що представлений кубічними клітинами, розташована СЗ, котра, як й інші зони, репрезентована малими й середніми лімфоцитами, макрофагами (CD68+, PNA+, SBA+), сітчастими клітинами. Їхня кількість у ПЗ і ЦЗ майже не відрізнялася від такої у плодів віком 25–26 тижнів. Однак Лф СЗ і ПЗ функціонально належать до Т-Лф (CD3+, PNA+), а в центральній представлені В-Лф (CD 20+, SBA+), клітинами в стадії проліферації (Ki-67+) й апоптозу (каспаза 3+).

У 30–33-тижневому віці в ЛЕВ були добре помітні Т- і В-клітинні зони. В-лімфоцити локалізувалися передовсім у ЦЗ вузликів, а Т-лімфоцити формували СЗ і ПЗ, у незначній кількості помітні в центральній зоні. У складі ЛЕВ ЧВ людини у цьому віковому періоді переважали малі лімфоцити, але збільшувалася кількість середніх і макрофагів. Лімфоцити, що розташовані ближче до епітеліальної вистилки ЧВ, – Т-лімфоцити (CD3+ і PNA+), з-поміж них домінували Т-хелпери (CD4+). ПЛВ і ЛЕВ

на периферії мали сполучнотканинну капсулу, в складі якої виявлено елементи мікроциркуляторного русла: артеріоли, венули й капіляри.

У власній пластинці слизової оболонки істотно частіше (в 3,27 % випадків) порівняно з лімфатичними вузликами виявляли макрофаги (CD68+ і PNA+), а їхня кількість була майже втричі більшою, ніж у ЛВ. Прикметно, що макрофаги розміщені поблизу епітеліального пласта слизової оболонки.

Протягом 36–40 тижнів внутрішньоутробного періоду відсоток малих Лф у слизовій оболонці ЧВ людини зменшувався до мінімального, але вміст середніх Лф і Мф зростає в обох зонах до найбільших величин порівняно з іншими термінами спостереження, а кількість сітчастих клітин майже не змінювалася (табл. 1). У ЦЗ з'являлися лімфобласти (1,20 ± 0,03 %). Порівняно з 28–32 тижнями тут збільшувалася вміст В-Лф (CD20+ і SBA+), Мф (CD68, PNA, SBA), клітин у стадії проліферації (Ki-67+) й апоптозу (каспаза 3+), зменшувалася відсоткове співвідношення Т-лімфоцитів (CD3+) і рецепторів лектину арахісу (PNA+). У периферичній зоні ПЛВ збільшувалася кількість Т-лімфоцитів (CD3+, PNA+).

У цьому терміні відбувалися також зміни ЛЕВ ЧВ людини. Їхні розміри збільшені, а в клітинному складі вузликів з'являлися лімфобласти. СЗ і ЦЗ розширювалися. Морфометричний аналіз в усіх зонах ЛЕВ показав зменшення кількості малих Лф, яке досягло найменших величин порівняно з попередніми термінами в ЦЗ (до 61,8 ± 2,6 %) та ПЗ (до 65,1 ± 3,0 %) ($p < 0,05$). Натомість кількість середніх Лф і Мф зростала, більш виражено – у ЦЗ і ПЗ, досягла максимальних показників щодо попередніх термінів: Лф – до 22,3 ± 3,0 % і 21,4 ± 3,1 %; Мф – до 11,5 ± 1,0 % і 10,1 ± 0,9 % відповідно. Імуно- та лектиногістохімічно у СЗ і ПЗ виявляли переважно Т-Лф (CD3+, PNA+), у СЗ – CD68+, SBA+, PNA+ макрофаги, у ЦЗ – CD20+, SBA+ В-лімфоцити, CD 68+, SBA+, PNA+ макрофаги, клітини в стані проліферації (каспаза 3+) й апоптозу (Ki-67+).

У пухкій волокнистій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки ЧВ плодів людини 36–40 тижнів під покривним епітелієм і навколо крипт збільшувалася вміст малих лімфоцитів (CD 3+) і клітин, що експонують на поверхні рецептори лектину арахісу (PNA+). У стромі пухкої сполучної тканини частіше виявляли артеріоли, капіляри, менше – венули.

Обговорення

За нашими відомостями, Лф у власній пластинці слизової оболонки ЧВ починають виявляти у терміні 16–18 тижнів пренатального онтогенезу людини. Це підтверджено в інших дослідженнях [5,9], де наявність Лф або їхніх невеликих скупчень у сполучній тканині визначали, починаючи з 14–15 тижнів розвитку плода. Серед Лф лектиногістохімічно визначили клітини з рецепторами до лектину арахісу (PNA+), імуногістохімічно – Т-Лф (CD3+).

У плодів 20–25 тижнів розвитку у власній пластинці слизової оболонки ЧВ дифузно розташовані поодинокі середні й малі Лф, передусім Т-клітини (CD3+ і PNA), а також Мф (CD68+, PNA+, SBA+). Починаючи з 23 тижня, біля венул помітні скупчення малих і середніх Т-Лф (CD 3+, PNA+). Поруч із Т-клітинами у лімфоїдних скупченнях

Таблиця 1. Середній вміст клітин в 1 мм² площі в складі лімфоїдних вузликів слизової оболонки червоподібного відростка людини в пізньому пренатальному періоді онтогенезу (%).

Вид клітин	Термін										
	ПЛВ 20–24 тижні	ПЛВ 28–32 тижні		ЛЕВ 28–32 тижні			ЛЕВ 36 тиждень			ПЛВ 36 тиждень	
		ЦЗ	ПЗ	ЦЗ	ПЗ	СЗ	ЦЗ	ПЗ	СЗ	ЦЗ	ПЗ
Малі лімфоцити	80,0 ± 3,0	74,5 ± 2,9	77,6 ± 3,1	70,7 ± 2,7*	73,2 ± 2,8	76,1 ± 3,1	61,8 ± 2,6*	65,1 ± 3,0*	73,6 ± 2,7	65,5 ± 2,9	68,8 ± 3,1
Середні лімфоцити	15,7 ± 1,3	18,4 ± 2,2	16,0 ± 1,4	19,0 ± 2,3	18,2 ± 2,3	16,2 ± 1,1	22,3 ± 3,0	21,4 ± 3,1	18,3 ± 1,8	20,8 ± 3,2	19,6 ± 2,6
Лімфобласти	–	–	–	–	–	–	1,5 ± 0,3	–	–	1,20 ± 0,03	–
Макрофаги	1,2 ± 0,3	4,0 ± 0,3	3,4 ± 0,3	7,2 ± 0,5	5,6 ± 0,3	6,5 ± 0,4	11,5 ± 1,0	10,1 ± 0,9	5,3 ± 0,3	9,8 ± 0,7	8,5 ± 0,6
Сітчасті клітини	3,0 ± 0,2	3,1 ± 0,3	3,0 ± 0,1	3,1 ± 0,3	3,0 ± 0,3	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,1	3,4 ± 0,3	2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,3	3,1 ± 0,1

ПЛВ: периваскулярний вузлик; ЛЕВ: лімфоепітеліальний вузлик; ЦЗ: центральна зона; ПЗ: периферична зона; СЗ: субепітеліальна зона; *: $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном.

упродовж 25–26 тижнів виявляли В-Лф (CD20+ SBA+) і Мф (CD68+, PNA+, SBA+). У цей же термін поблизу кровоносних судин утворюються ПЛВ, що складаються з малих і середніх Лф, репрезентованих Т-Лф (CD3+, PNA+), а також Мф (CD68+, PNA+, SBA+). Відомості про утворення ЛВ біля судин наведені в інших роботах [4,5,8,25], але ми вперше визначили чіткі терміни їхнього формування.

У ПЛВ за клітинним складом розрізняємо ЦЗ і ПЗ. У обох зонах переважали малі й середні Лф, рідше виявляли Мф і сітчасті клітини. Імуногістохімічно у периферичній зоні ПЛВ ЧВ плодів людини визначали Т-Лф (CD3+, PNA+), здебільшого Т-хелпери (CD4+), які переважають над Т-супресорами/цитотоксичними (CD8+). У центральній зоні виявляли В-Лф (CD20+, SBA+), а також клітини у стадії апоптозу (каспаза 3+) і проліферації (Ki-67+). На периферії вузликів розташовані артеріоли, вени та капіляри. Окремі капіляри і вени визначили у складі вузликів; це збігається з даними інших авторів [8,11,25]. Так, деякі дослідники у слизових оболонках трубчастих органів розрізняють два види вузликів [6,13]: одні оточують стінки мікросудин, інші контактують з покритим епітелієм. Центр розмноження в периваскулярних вузликах у цьому віці ми не виявили, що відповідає відомостям фахової літератури [5].

З 28 тижня спостерігали збільшення розмірів ПЛВ слизової оболонки ЧВ людини. Вони досягають епітелію та перетворюються на ЛЕВ, в яких розрізняють СЗ, ЦЗ і ПЗ. Структурна основа появи ЛЕВ – консолідація міжклітинних взаємодій клітин кубічного епітелію, сполучно-тканинних елементів власної пластинки та фібрилярної строми, в якій виявляють мікросудини капілярного типу та клітини різного походження з переважанням лімфоїдних елементів.

Епітелій інфільтрований Т-Лф (CD3+, PNA+). ЛЕВ здебільшого представлені малими та середніми Лф, які у СЗ і ПЗ функціонально є Т-Лф, а в ЦЗ – В-Лф (CD20+, SBA+), клітинами у стадії проліферації з позитивною експресією (Ki-67+) та апоптозу з позитивною експресією (каспаза 3+). Найвні також Мф (CD68+, PNA+, SBA) і сітчасті клітини. У СЗ частіше, ніж у ПЗ та, особливо, у ЦЗ виявляли малі Лф, рідше – середні Лф. Вміст Мф найбільший у ЦЗ, найнижчий – у ПЗ. Навколо макрофагів спостерігали скупчення малих лімфоцитів у вигляді «розеток». Виявлені особливості структурно не відрізняються від складу ЛЕВ інших відділів товстої кишки [14,19,21,24].

З 29 тижня і до кінця внутрішньоутробного періоду в епітелії визначали міжепітеліальні Лф. У доступній

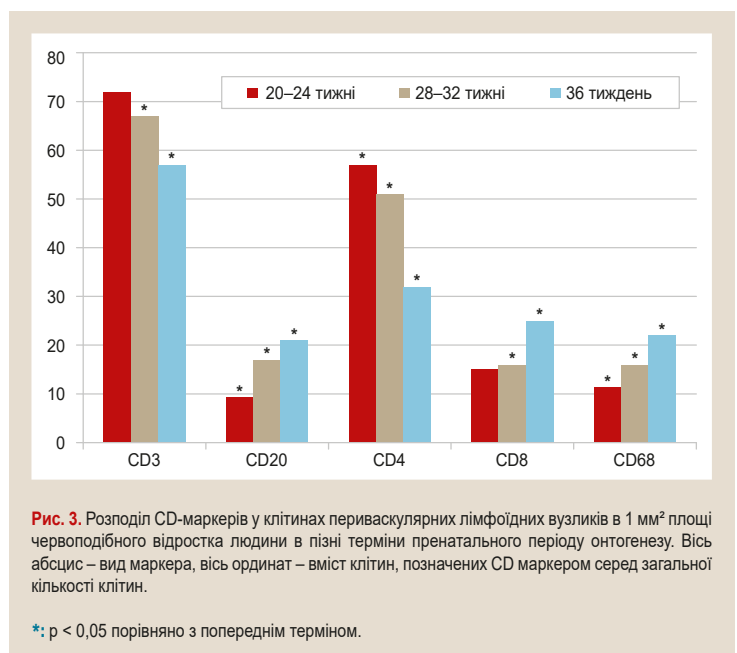


Рис. 3. Розподіл CD-маркерів у клітинах периваскулярних лімфоїдних вузликів в 1 мм² площі червоподібного відростка людини в пізні терміни пренатального періоду онтогенезу. Вісь абсцис – вид маркера, вісь ординат – вміст клітин, позначених CD маркером серед загальної кількості клітин.

*: $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном.

фаховій літературі не знайшли відомості щодо наявності та кількості міжепітеліальних лімфоцитів у ЧВ людини в пізньому пренатальному періоді. Але відомо: починаючи з 20 тижня ембріонального розвитку, відбувається міграція лімфоцитів в епітеліальний пласт [5]. Головна причина цього – дія антигенів, які, припускають, починає поглинати епітелій із просвіту ЧВ при всмоктуванні амніотичної рідини [23].

Морфометричний аналіз складу клітин лімфоїдних вузликів показав: до 36–40 тижнів і в ЛЕВ, і у ПЛВ ЧВ людини спостерігають зменшення відсотка малих Лф і збільшення кількості середніх Лф і Мф порівняно з попередніми термінами. До кінця пренатального періоду завдяки збільшенню кількості середніх Лф збільшується ЦЗ, з'являються лімфобласти. Імуногістохімічно та лектингістохімічно визначили, що Лф належать до В-клітин (CD20+, SBA+), а також виявили CD68+, SBA+ і PNA+ макрофаги.

Субепітеліальна й периферична зони ПЛВ і ЛЕВ слизової оболонки ЧВ людини представлені насамперед малими Лф, які імуногістохімічно ідентифікуються як Т-Лф (CD3+), а лектингістохімічно – PNA+. З віком їхній відсоток зменшується, а кількість Мф (CD68+, PNA+, SBA+) збільшується (рис. 3). Популяція, що переважає серед Т-Лф, – Т-хелпери (CD4+), їхня кількість із віком зменшується, а кількість Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD8+) збільшується.

У ЦЗ спостерігали найпомітніше зменшення кількості малих Лф і найістотніше збільшення середніх Лф і Мф, виявили клітини у стадії проліферації (Ki-67+) та апоптозу (каспаза 3+). До кінця внутрішньоутробного періоду у ЛВ ЧВ людини спостерігали тенденцію до збільшення вмісту В-Лф (CD20+, SBA+), Мф (CD68+, PNA+ і SBA+) та появу лімфобластів.

Висновки

1. Лімфоцити у складі власної пластинки слизової оболонки червоподібного відростка виявляють з 16–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку людини, вони локалізуються біля венул. Лектиногістохімічно серед цих лімфоцитів виявляють PNA+, імуногістохімічно – CD3+. Крім лімфоцитів визначають макрофаги (PNA+, CD68+).

2. Формування ПЛВ на основі лімфоїдних скупчень у слизовій оболонці ЧВ починається з 25 тижня внутрішньоутробного розвитку людини. У їхньому складі малі лімфоцити становлять $80,90 \pm 3,00$ %, середні лімфоцити – $15,70 \pm 1,30$ %, макрофаги – $0,30 \pm 0,03$ %, інші клітини – $3,10 \pm 0,03$ %. У вузликах виявляють клітини з рецепторами до лектинів арахісу та сої (PNA+, SBA+), а також клітини з позитивною експресією CD3, CD20, CD68, Ki-67 та каспаза 3.

3. З 25–29 тижнів внутрішньоутробного розвитку в слизовій оболонці ЧВ людини виявляють ЛЕВ. У їхньому складі малі лімфоцити становлять $78,1 \pm 3,0$ %, середні лімфоцити – $17,5 \pm 3,0$ %, що мають рецептори CD3, PNA, CD20 і SBA, макрофаги – $1,30 \pm 0,3$ % (CD68+/PNA+/SBA+), клітини у стані проліферації (Ki-67+) та апоптозу (каспаза 3+).

4. До кінця внутрішньоутробного періоду в лімфоїдних вузликах ЧВ людини спостерігали тенденцію збільшення вмісту В-лімфоцитів (CD20+), макрофагів (CD68+), зниження відсотка Т-лімфоцитів (CD3+).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 06.08.2021

Після доопрацювання / Revised: 08.10.2021

Прийнято до друку / Accepted: 24.11.2021

Відомості про авторів:

Таврог М. Л., канд. мед. наук, доцент каф. гістології, цитології та ембріології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5120-8544](https://orcid.org/0000-0002-5120-8544)

Сирцов В. К., д-р мед. наук, професор каф. гістології, цитології та ембріології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-1855-4936](https://orcid.org/0000-0003-1855-4936)

Попович Ю. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. клінічної анатомії та оперативної хірургії, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-2401-4699](https://orcid.org/0000-0002-2401-4699)

Григор'єва О. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-6101-8322](https://orcid.org/0000-0002-6101-8322)

Попович Н. Р., лікар-дієтолог, КНП «Обласна клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради», Україна.

ORCID ID: [0000-0002-7802-3443](https://orcid.org/0000-0002-7802-3443)

Зідрашко Г. А., канд. мед. наук, доцент каф. гістології, цитології та ембріології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-2813-0520](https://orcid.org/0000-0003-2813-0520)

Information about authors:

Tavroh M. L., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Syrtsov V. K., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Popovych Yu. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Anatomy and Operative Surgery, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Hryhorieva O. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Popovych N. R., MD, Nutritionist, CNE "Regional Clinical Hospital of Ivano-Frankivsk Regional Council", Ukraine.

Zidrashko H. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] The vermiform appendix: A review / A. Barlow et al. *Clinical Anatomy*. 2013. Vol. 26. Issue 7. P. 833-842. <https://doi.org/10.1002/ca.22269>
- [2] Anatomy, Abdomen and Pelvis, Large Intestine / P. Kahai, P. Mandiga, C. J. Wehrle, S. Lobo. In StatPearls. StatPearls Publishing, 2021.
- [3] Степанов Ю. М., Сирда І. Ю., Петішко О. П. Хвороби органів травлення – актуальна проблема клінічної медицини. *Гастроентерологія*. 2019. Т. 53. № 1-6. <https://doi.org/10.22141/2308-2097.53.1.2019.163450>
- [4] Increased regulatory T cells in pediatric acute appendicitis / L. Susic et al. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2018. Vol. 29. Issue 1. P. 104-108. <https://doi.org/10.1111/pai.12797>
- [5] Антонюк О. П. Особливості органогенезу травної системи людини. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 4. Т. 1. С. 279-284.
- [6] The Place of Atopy in the Aetiology of Acute Appendicitis in Children / M. N. Cevizci et al. *West Indian Medical Journal*. 2016. Vol. 65. Issue 2. P. 287-290. <https://doi.org/10.7727/wimj.2015.005>
- [7] Гринь В. Г. Морфофункціональна характеристика окремих органів травної системи людини. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. Т. 6. № 5. С. 9-15. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.05.009>
- [8] Концепція антигенно-структурного гомеостазу і проблема гістогенезу / В. К. Сырцов и др. *Світ медицини та біології*. 2006. № 2. С. 120-124.
- [9] Лімфоїдний апарат червоподібного відростка в пренатальному і постнатальному періодах онтогенезу / Ю. І. Попович, В. К. Сирцов, М. Л. Таврог, О. Г. Алієва. *Івано-Франківськ – Запоріжжя*, 2018. 204 с.
- [10] Лімфоїдна тканина слизової оболонки червоподібного відростка при апендициті (огляд літератури) / Ю. І. Попович та ін. *Патологія*. 2020. Т. 17. № 3. С. 408-415. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.3.221880>
- [11] Takabatake K., Imanishi T., Yoshikawa T. Acute eosinophilic appendicitis simulating uncomplicated appendicitis. *BMJ Case Reports*. 2018. Vol. 11. Issue 1. P. e227178. <https://doi.org/10.1136/bcr-2018-227178>
- [12] A Th2 Cytokine Profile in Appendicular Lavage Fluid Suggests Allergy as a Possible Etiology for Acute Appendicitis / N. Carvalho et al. *Mediators of Inflammation*. 2019. Vol. 2019. P. 8146257. <https://doi.org/10.1155/2019/8146257>
- [13] Таврог М. Л. Гистологические и гистохимические особенности эпителия и лимфоидных структур слизистой оболочки червеобразного отростка человека в период новорожденности. *Вісник проблем біології і медицини*. 2011. Т. 2. Вип. 2. С. 264-266.
- [14] Lymphoid Hyperplasia of the Appendix: A Potential Pitfall in the Sonographic Diagnosis of Appendicitis / Y. Xu, R. B. Jeffrey, M. A. DiMaio, E. W. Olcott. *American Journal of Roentgenology*. 2016. Vol. 206. Issue 1. P. 189-194. <https://doi.org/10.2214/AJR.15.14846>
- [15] Acute Eosinophilic Appendicitis after Generalized Skin Reaction Due to Unknown Cause in a Child: Case Report and Literature Review / M. Aggelidou et al. *Clinics and Practice*. 2019. Vol. 9. Issue 3. P. 1177. <https://doi.org/10.4081/cp.2019.1177>
- [16] Spatiotemporal analysis of human intestinal development at single-cell resolution / D. Fawcner-Corbett et al. *Cell*. 2021. Vol. 184. Issue 3. P. 810-826.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.016>
- [17] Immune Profiling of Human Gut-Associated Lymphoid Tissue Identifies a Role for Isolated Lymphoid Follicles in Priming of Region-Specific Immunity / T. M. Fenton et al. *Immunity*. 2020. Vol. 52. Issue 3. P. 557-570.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.02.001>
- [18] The immunological functions of the Appendix: An example of redundancy? / M. Girard-Madoux et al. *Seminars in Immunology*. 2018. Vol. 36. P. 31-44. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2018.02.005>

- [19] Different distribution of mucosal-associated invariant T cells within the human cecum and colon / I. Hama et al. *Central European Journal of Immunology*. 2019. Vol. 44. Issue 1. P. 75-83. <https://doi.org/10.5114/cej.2019.84020>
- [20] Handbook of Mucosal Immunology / eds. P. L. Ogra et al. 1st ed. Academic Press, 1994. 766 p.
- [21] Identification, isolation and analysis of human gut-associated lymphoid tissues / P. B. Jørgensen et al. *Nature Protocols*. 2021. Vol. 16. Issue 4. P. 2051-2067. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-00482-1>
- [22] The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature / I. A. Kooij et al. *Clinical and Experimental Immunology*. 2016. Vol. 186. Issue 1. P. 1-9. <https://doi.org/10.1111/cei.12821>
- [23] Developmental Histogenesis of Human Foetal Vermiform Appendix at Different Gestational Ages / R. Mohammad, M. V. Kumar, S. Sreelatha, S. D. Velichety. *Anatomy & Physiology*. 2018. Vol. 8. Issue 4. P. 303. <https://doi.org/10.4172/2161-0940.1000303>
- [24] Human gut-associated lymphoid tissues (GALT): diversity, structure, and function / U. M. Mörbe et al. *Mucosal Immunology*. 2021. Vol. 14. Issue 4. P. 793-802. <https://doi.org/10.1038/s41385-021-00389-4>
- [25] Prechl J. A generalized quantitative antibody homeostasis model: antigen saturation, natural antibodies and a quantitative antibody network. *Clinical & Translational Immunology*. 2017. Vol. 6. Issue 2. P. e131. <https://doi.org/10.1038/cti.2016.90>
- [26] Rabi S., Indrasingh I. Follicular dendritic cells in normal and infected human appendix. *European Journal of Anatomy*. 2017. Vol. 21. Issue 1. P. 31-35. URL: <https://www.eurjanat.com/data/pdf/eja.160367sr.pdf>
- [27] CD11c immunopositive cells in the human fetal vermiform appendix / G. Radenkovic et al. *Vojnosanitetski Pregled*. 2021. Vol. 78. Issue 8. P. 882-886. <https://doi.org/10.2298/vsp.191126148r>
- [28] Microanatomical dissection of human intestinal T-cell immunity reveals site-specific changes in gut-associated lymphoid tissues over life / T. Senda et al. *Mucosal Immunology*. 2019. Vol. 12. Issue 2. P. 378-389. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0110-8>
- [29] Simon A. K., Hollander G. A., McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2015. Vol. 282. Issue 1821. P. 20143085. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3085>
- [30] Vitetta L., Chen J., Clarke S. The vermiform appendix: an immunological organ sustaining a microbiome inoculum. *Clinical Science*. 2019. Vol. 133. Issue 1. P. 1-8. <https://doi.org/10.1042/CS20180956>
- [12] Carvalho, N., Barros, A., Coelho, H. O., Moita, C. F., Neves-Costa, A., Pedrosa, D., Borges, F. C., Moita, L. F., & Costa, P. M. (2019). A Th2 Cytokine Profile in Appendicular Lavage Fluid Suggests Allergy as a Possible Etiology for Acute Appendicitis. *Mediators of Inflammation*, 2019, Article 8146257. <https://doi.org/10.1155/2019/8146257>
- [13] Tavrov, M. L. (2011). Gistologicheskie i gistokhimicheskie osobennosti epiteliya i limfoidnykh struktur slizistoi obolochki cherveobraznogo otrostka cheloveka v period novorozhdenosti [Histological and gistokhimicheskie features of epithelium and limfoidnykh structures of mucous membrane of vermicular appendix of human in the period of new-bornness]. *Vistnyk problem biologii i medytyn*, 2(2), 264-266. [in Russian].
- [14] Xu, Y., Jeffrey, R. B., DiMaio, M. A., & Olcott, E. W. (2016). Lymphoid Hyperplasia of the Appendix: A Potential Pitfall in the Sonographic Diagnosis of Appendicitis. *American Journal of Roentgenology*, 206(1), 189-194. <https://doi.org/10.2214/AJR.15.14846>
- [15] Aggelidou, M., Kambouri, K., Kouroupi, M., Cassimos, D., Foutzitz, S., & Deftereos, S. (2019). Acute Eosinophilic Appendicitis after Generalized Skin Reaction Due to Unknown Cause in a Child: Case Report and Literature Review. *Clinics and Practice*, 9(3), Article 1177. <https://doi.org/10.4081/cp.2019.1177>
- [16] Fawcner-Corbett, D., Antanaviciute, A., Parikh, K., Jagielowicz, M., Gerós, A. S., Gupta, T., Ashley, N., Khamis, D., Fowler, D., Morrissey, E., Cunningham, C., Johnson, P., Koohy, H., & Simmons, A. (2021). Spatiotemporal analysis of human intestinal development at single-cell resolution. *Cell*, 184(3), 810-826.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.016>
- [17] Fenton, T. M., Jørgensen, P. B., Niss, K., Rubin, S., Mörbe, U. M., Riis, L. B., Da Silva, C., Plumb, A., Vandamme, J., Jakobsen, H. L., Brunak, S., Habtezion, A., Nielsen, O. H., Johansson-Lindbom, B., & Agace, W. W. (2020). Immune Profiling of Human Gut-Associated Lymphoid Tissue Identifies a Role for Isolated Lymphoid Follicles in Priming of Region-Specific Immunity. *Immunity*, 52(3), 557-570.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.02.001>
- [18] Girard-Madoux, M., Gomez de Agüero, M., Ganai-Vonarburg, S. C., Mooser, C., Belz, G. T., Macpherson, A. J., & Vivier, E. (2018). The immunological functions of the Appendix: An example of redundancy? *Seminars in Immunology*, 36, 31-44. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2018.02.005>
- [19] Hama, I., Tominaga, K., Yamagiwa, S., Setsu, T., Kimura, N., Kamimura, H., Wakai, T., & Terai, S. (2019). Different distribution of mucosal-associated invariant T cells within the human cecum and colon. *Central European Journal of Immunology*, 44(1), 75-83. <https://doi.org/10.5114/cej.2019.84020>
- [20] Ogra, P. L., Mestecky, J., Lamm, M. E., Strober, W., McGhee, J. R., & Bienenstock, J. (Eds.). (1994). *Handbook of Mucosal Immunology* (1st ed.). Academic Press.
- [21] Jørgensen, P. B., Fenton, T. M., Mörbe, U. M., Riis, L. B., Jakobsen, H. L., Nielsen, O. H., & Agace, W. W. (2021). Identification, isolation and analysis of human gut-associated lymphoid tissues. *Nature Protocols*, 16(4), 2051-2067. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-00482-1>
- [22] Kooij, I. A., Sahami, S., Meijer, S. L., Buskens, C. J., & Te Velde, A. A. (2016). The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature. *Clinical and Experimental Immunology*, 186(1), 1-9. <https://doi.org/10.1111/cei.12821>
- [23] Mohammad, R., Kumar, M. V., Sreelatha, S., & Velichety, S. D. (2018). Developmental Histogenesis of Human Foetal Vermiform Appendix at Different Gestational Ages. *Anatomy & Physiology*, 8(4), Article 303. <https://doi.org/10.4172/2161-0940.1000303>
- [24] Mörbe, U. M., Jørgensen, P. B., Fenton, T. M., von Burg, N., Riis, L. B., Spencer, J., & Agace, W. W. (2021). Human gut-associated lymphoid tissues (GALT): diversity, structure, and function. *Mucosal Immunology*, 14(4), 793-802. <https://doi.org/10.1038/s41385-021-00389-4>
- [25] Prechl, J. (2017). A generalized quantitative antibody homeostasis model: antigen saturation, natural antibodies and a quantitative antibody network. *Clinical & Translational Immunology*, 6(2), Article e131. <https://doi.org/10.1038/cti.2016.90>
- [26] Rabi, S., & Indrasingh, I. (2017). Follicular dendritic cells in normal and infected human appendix. *European Journal of Anatomy*, 21(1), 31-35. <https://www.eurjanat.com/data/pdf/eja.160367sr.pdf>
- [27] Radenkovic, G., Petrovic, V., Nedin-Rankovic, G., Dencic, T., Zivkovic, V., & Jovic, M. (2021). CD11c immunopositive cells in the human fetal vermiform appendix. *Vojnosanitetski Pregled*, 78(8), 882-886. <https://doi.org/10.2298/vsp.191126148r>
- [28] Senda, T., Dogra, P., Granot, T., Furuhashi, K., Snyder, M. E., Carpenter, D. J., Szabo, P. A., Thapa, P., Miron, M., & Farber, D. L. (2019). Microanatomical dissection of human intestinal T-cell immunity reveals site-specific changes in gut-associated lymphoid tissues over life. *Mucosal Immunology*, 12(2), 378-389. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0110-8>
- [29] Simon, A. K., Hollander, G. A., & McMichael, A. (2015). Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1821), Article 20143085. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3085>
- [30] Vitetta, L., Chen, J., & Clarke, S. (2019). The vermiform appendix: an immunological organ sustaining a microbiome inoculum. *Clinical Science*, 133(1), 1-8. <https://doi.org/10.1042/CS20180956>