

LIMFNO TKIVO APENDIKSA U PRENATALNOM I ADULTNOM PERIODU ŽIVOTA ČOVEKA – MORFOMETRIJSKA ANALIZA

Vladimir Živković¹, Predrag Mandić², Dane Krtinić¹, Jelena Milošević¹ i Dejan Zdravković¹

Istraživanja su obavljena na prenatalnom materijalu (od 18. do 32. nedelje) i na adultnom materijalu (20. do 25. g., 45. do 50.g. i 65. do 70.g.) kod čoveka. Tkivni preseči su histološki obrađeni, bojeni HE metodom, a morfometrijska analiza sprovedena je testnim sistemom M42. Na fetalnom materijalu određivan je broj limfocita na jedinici površine (mm²) u podsluzokoži apendiksa. Na adultnom materijalu određivana je prosečna area zida i prosečna area limfnih folikula u zidu apendiksa, a iz ova dva parametra izračunavan procentualni udeo limfnih folikula u zidu. Histološkim pregledom na našim tkivnim uzorcima nije utvrđeno da se formiraju limfni folikuli, ali se visoko statistički značajno povećava broj limfocita u podsluzokoži. Na adultnom materijalu se procentualni udeo limfnog tkiva koje formira folikule sa starenjem smanjeno, ali ne i statistički značajno. *Acta Medica Medianae* 2007;46(2):16-20.

Ključne reči: apendiks, limfno tkivo, morfometrija

Katedra za anatomiju Medicinskog fakulteta u Nišu¹
Katedra za anatomiju Medicinskog fakulteta u Kosovskoj Mitrovici²

Kontakt: Vladimir Živković
Katedra za anatomiju Medicinskog fakulteta
Bulevar dr Zorana Đinđića 81
18000 Niš, Srbija
Tel: .018/53-70-53
E-mail: zvladimirni@sbb.co.yu;
vladimir@medfak.ni.ac.yu

Uvod

Crvuljak (*apendix vermiformis*) ili apendiks je tubularna, izvijugana struktura koja pripada slepom crevu (*caecum*), odnosno deo je debelog creva digestivnog trakta čoveka. Najčešće polazi od zadnje-unutrašnje strane cekuma oko 2 cm ispod ilealnog otvora (*ostium ileale*) (1). Što se tiče embrionalnog razvoja, apendiks se najpre razvija kao mali, veoma kratak pupoljak na cekumu; u toj fazi cekum se nalazi visoko ispod jetre, a sa rastom kolona i formiranjem njegovog ascendentnog dela spušta se u desnu bedrenu jamu; zajedno sa njim spušta se i apendiks (2,3,4).

Dužina apendiksa varira od 2 do 20 cm sa prosekom oko 9 cm, mada se ističe da je kod dece njegova dužina veća, a posle srednjeg životnog doba pokazuje atrofiju i smanjenje veličine. U starijem životnom dobu, njegov lumen često obluterira (5,3). U zvaničnim udžbenicima anatomije, kao i u literaturi ističu se njegovi različiti položaji, a mnogi autori su na velikom broju autopsijskih uzoraka, koji su se kretali od 1232 do 4680, prikazali različite procentualne vrednosti pozicione zastupljenosti apendiksa, što ukazuje na moguće demografske razlike, s obzi-

rom da se radilo o populacijama ispitanika iz različitih geografskih područja (3).

Struktura zida apendiksa, sa manjim razlikama, podleže opštoj šemi građe kao u drugim delovima debelog creva digestivnog trakta. U submukozi se nalaze mnogobrojni pojedinačni ili agregati limfnih folikula (što uslovljavaju da je mukoza isturena u lumen, naborana i neravna). Sluzokoža je sastavljena od cilindričnih ćelija koje sadrže antigen-transportne «M» ćelije, a žlezde su slične žlezdama u ostalom delu debelog creva, manje su zastupljene i penetriraju duboko u limfno tkivo lamine proprije (634).

Pored inkapsuliranog limfnog tkiva (u limfnim žlezdama, timusu, slezini), mnogobrojni limfni folikuli su nekapsulirani i vezani su za sluzokožu digestivnog i respiratornog sistema, a označavaju se kao MALT (mucosa-associated lymphoid tissue). U sluzokoži i podsluzokoži digestivnog trakta (počev od usne duplje do analnog kanala) prisutni su limfni folikuli, pojedinačni ili grupisani u agregate. Ovo limfno tkivo označava se kao GALT (gut-associated lymphoid tissue), a s obzirom da stoji na granici prema spoljašnjoj sredini, ističe se njegova uloga u imunitetu (7,5,8,9,10,4).

O ulozi apendiksa i danas su oprečna i kontraverzna mišljenja, od toga da je potpuno afunkcionalan embriološki zaostatak, do toga da ima veoma bitnu ulogu u imunitetu. Činjenica je da apendiks ima veliki klinički značaj zbog moguće česte upale predominantno u dečijoj dobi, mada se javlja i kod odraslih (5,11,12).

Na osnovu napred izloženih osnovnih podataka o apendiksu postavljen je cilj istraživanja, ispitati šta se dešava sa količinom limfnog tkiva u njegovom zidu u toku fetalnog i postnatalnog perioda života kod čoveka. Primenom morfo-

metrijskih metoda određena je prosečna area zida i prosečna area limfnih folikula u adultnom periodu života čoveka, što je omogućilo da se odredi procenat limfnog tkiva u zidu tokom starenja. U fetalnom periodu praćena je infiltracija podsluzokože limfocitima i formiranje limfnih folikula; određen je broj limfocita na jedinici površine (mm^2) u zidu apendiksa.

Materijal i metode

Kao materijal, korišćeni su fetusi iz zbirke Instituta za anatomiju Medicinskog fakulteta u Nišu i gotovi preseki apendiksa adultnih osoba iz kolekcije doc. dr P. Mandića sa Medicinskog fakulteta u Kosovskoj Mitrovici.

Fetusi su sadržali tri grupe: I (TT – dužina od 16 do 17 cm, odnosno starost 18 do 19 nedelja), II (TT – dužina od 20 do 22 cm, odnosno starosti 20 do 23 nedelje) i III (TT – dužina od 28 do 30 cm, odnosno starosti 28 do 32 nedelje po Patten-u (12)). U svakoj grupi analizirano je po tri apendiksa fetusa. Apendiks je odstranjen u celini, a za histološku analizu uziman uzorak iz srednjeg dela (između vrha i otvora u cekum).

Uzorcima kod odraslih takođe su podeljeni i tri starosne grupe: I (20 – 25 godina), II (45 – 50 godina) i III (65 – 70 godina). U svakoj grupi analizirano je po tri uzorka.

Metode koje su primenjene su histološka obrada tkivnih uzoraka i morfometrijska analiza.

Tkivni uzorci (prenatalni materijal i adultni materijal) su klasično kalupljeni, sećeni u preseke debljine $5\mu\text{m}$ i bojani hematoksilin eozin metodom (HE).

Za morfometrijsku analizu korišćen je testni sistem «M₄₂» koji je postavljan u okular mikroskopa i objektivnim mikrometrom kalibriran za povećanja koja su korišćena, odnosno određen je razmak «d» između dve uzastopne tačke testnog sistema. Iz broja tačaka koje padaju na zid i limfne folikule apendiksa, a poznavanja površine koja pripada jednoj tački testnog sistema određena je prosečna area (A_z) zida i prosečna area limfnih folikula (A_{ly}). Brojanje tačaka koje padaju na zid kod fetalnog materijala vršeno je na povećanju 400x, a za adultni materijal na lupi (50x). Na navedenim povećanjima površina testnog sistema koja pripada jednoj tački, «a», za povećanje 50x je $0,14 \text{ mm}^2$, a površina testnog sistema A_t za povećanje 400x je $0,058 \text{ mm}^2$. Pomeranjem testnog sistema pokrivena je cela površina preseka (13).

Dobijeni kvantifikacioni podaci su statistički obrađeni (određivana je srednja vrednost, standardna devijacija, a statistička značajnost testirana je t-testom), tabelirani i grafički prikazani pomoću Microsoft Excel-a.

Rezultati

Istraživanja su sprovedena u dve celine, na prenatalnom materijalu (fetusi) i na adultnom materijalu (Tabela 1). Iz tabele se vidi da su u svakoj grupi bila po tri tkivna uzorka; TT dužina, a samim tim i starost fetusa bila je ujednačena,

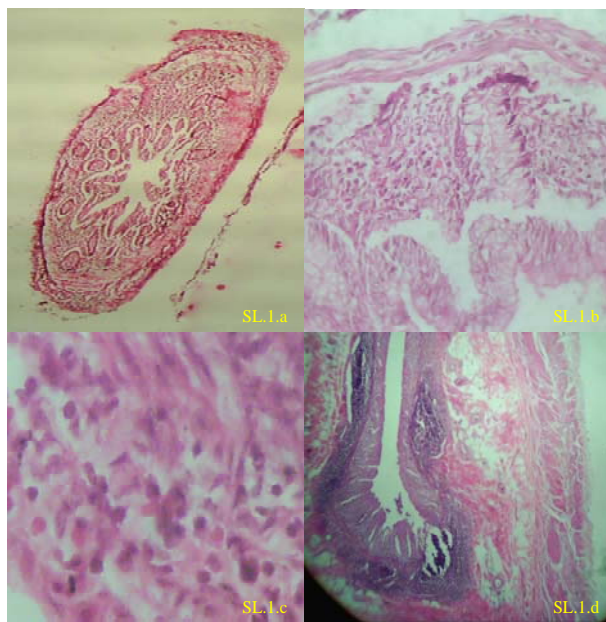
kao i starost kod adultnih uzoraka, što se iz navedene tabele može zapaziti.

Tabela 1. Starosne grupe u prenatalnom i adultnom periodu

grupe	prenatalni period			adultni period
	TT-dužina u cm	Starost u nedeljama	Starost u mesecima	Godine starosti
I	16-17	18-19	4-5	20-25
II	20-22	22-23	5-6	45-50
III	28-31	28-32	7-8	60-65

Histološka analiza

Histološkom analizom tkivnih uzoraka fetalnog materijala nije zapaženo formiranje limfnih folikula, samo se intenzitet limfocitne infiltracije pojačavao; zapaža se i grupisanje limfocita, ali ne i formiranje folikula. Pored limfocita, prisutne su i druge ćelije, monociti, plazma ćelije, granulirani leukociti (Slike 1a, 1b i 1c).



Slika 1. Apendiks u prenatalnom i postnatalnom periodu
1a. presek apendiksa fetusa, 18. nedelja, HE, 50X
1b. zid apendiksa fetusa (19. nedelja), HE, 100X
1c. zid apendiksa fetusa (19. nedelja), HE, 400X
1d. zid apendiksa odraslih (65 godina), HE, 50X

Histološkom analizom tkivnih uzoraka adultnog materijala uočavaju se limfni folikuli u podsluzokoži sa okolnim perifolikularnim infiltratom (Slika 1d).

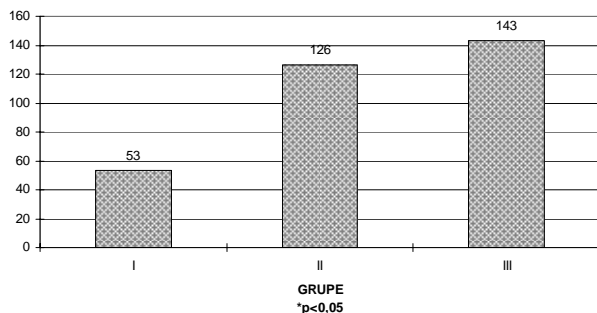
Morfometrijska analiza

Na Tabeli 2 i Grafikonu 1 prikazan je broj limfocita na mm^2 u tri razvojna perioda kod fetusa, a evidentira se značajan ($p < 0,001$) porast broja limfocita, od 53 u prvoj do 143 u trećoj razvojnoj grupi.

Tabela 2. Broj limfocita na 1 mm² u submukozi zida apendiksa u prenatalnom periodu

grupe	N	broj limfocita na 1 mm ²	
		\bar{X}	$\pm SD$
I	3	53	6.03
II	3	126*	7.55
III	3	143*	7.77

*p<0.001

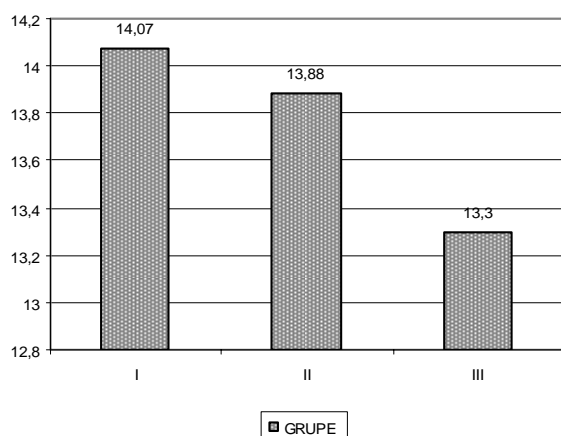
Grafikon 1. Broj limfocita na 1 mm² u submukozi zida apendiksa u prenatalnom periodu

Na Tabeli 3 i Grafikonu 2 prikazana je prosečna area zida i limfnih folikula izražena u mm² kod odraslih. Area zida opada prema trećoj starosnoj grupi sa statističkom značajnošću (p<0,05). Prosečna area limfnih folikula takođe opada od 2,1 mm² do 1,49 mm² što je statistički značajno (p<0,05).

Tabela 3. Prosečna area zida i limfnih folikula apendiksa kod adultnih izražena u mm²

grupe	N	A _z	A _{ly}
I	3	\bar{X} 14.93 $\pm SD=1.436848$	\bar{X} 2.10 $\pm SD=0.370405$
II	3	\bar{X} 15.49 $\pm SD=0.565803$	\bar{X} 2.15 $\pm SD=0.352326$
III	3	\bar{X} 11.20* $\pm SD=1.220492$	\bar{X} 1.49* $\pm SD=0.352326$

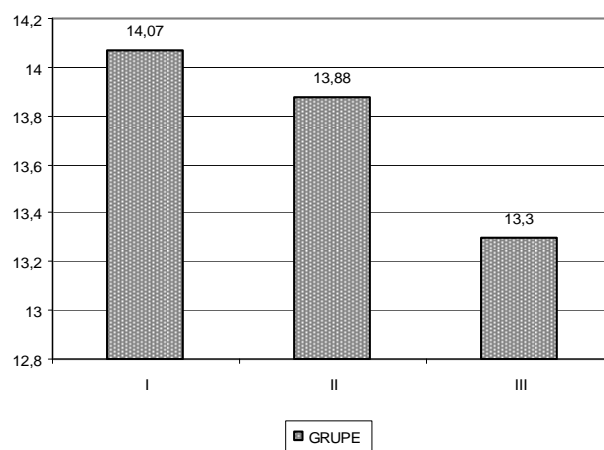
*p<0.05

Grafikon 2. Prosečna area zida i limfnih folikula apendiksa kod adultnih, izražena u mm²

Na Tabeli 4 i Grafikonu 3 prikazan je procentualni udeo limfnih folikula u zidu apendiksa kod odraslih; udeo limfnih folikula u zidu opada od 14,01% u prvoj do 13,30% u trećoj starosnoj grupi.

Tabela 4. Prikaz udela limfnog tkiva u zidu apendiksa kod odraslih izražen u mm²

grupe	N	%
I	3	14.07
II	3	13.88
III	3	13.3

Grafikon 3. Prikaz udela limfnog tkiva u zidu apendiksa kod odraslih izražen u mm²

Diskusija

Histološkom analizom, kako je u rezultatima istaknuto, limfocitne infiltracije podsluzokože zida apendiksa, zapažaju se limfociti i druge ćelije (plazma, monociti, eozinofili) čiji se intenzitet pojačava od 19. do 32. nedelje, a što i morfometrijska istraživanja pokazuju (broj limfocita na mm² – Tabela 2 i Grafikon 1). Osim mesta sa intenzivnijom akumulacijom limfocita u trećoj starosnoj grupi, u našim istraživanjima nismo uočili formiranje limfnih folikula (6,14,3). U nama dostupnoj literaturi, kao i u ličnom kontaktu sa profesorom embriologije dr I. Nikolićem, imamo podatke koji pokazuju da formiranje limfnih folikula počinje od 19. nedelje u tankom i debelom crevu, a kada se to formiranje dešava u apendiksu nema podataka. To što u našim uzorcima nema folikula ne znači da se oni ne formiraju, jer kako je napred istaknuto, naši uzorci su iz srednjeg dela apendiksa; da bi se moglo tvrditi da li i kada počinje formiranje folikula treba analizirati serijskim preseccima celu dužinu apendiksa, što će biti učinjeno u našim budućim istraživanjima.

Kod adultnog perioda tipični limfni folikuli su redovno prisutni, a kako se to u literaturi ističe, sastavljeni su od B i T limfocita i sa germinalnim centrom. Ovi folikuli najčešće su pojedinačni ili spojeni, u obliku agregata (7,15,3). Oko njih se u vezivnom tkivu submukoze zapažaju i

druge ćelije kao što su plazma ćelije, mastociti, eozinofili i slobodni limfociti, tako da sačinjavaju fibrocelularni retikulum ili parafo-likularno tkivo (Slika 1d). Uloga ovog limfnog tkiva predstavlja lokalnu odbranu prema uticajima iz spoljašnje sredine, odnosno iz crevnog lumena (4,3). Ovo limfno tkivo je analogno Fabricijevoj burzi kod ptica koja ima ulogu u sticanju imunokompetentnih limfocita. Kao i neke druge strukture, limfno tkivo sa starenjem podleže regresiji (3). Da li je to tako i kod apendiksa? Naša morfometrijska analiza i procentualna procena udela folikula u zidu apendiksa (Tabela 3 i 4) pokazuju da se prosečna area zida i limfnog tkiva smanjuje sa starenjem (od I prema III starosnoj grupi), ali ne i statistički značajno. Činjenica je da apendiks ima veliki klinički značaj zbog moguće česte upale, akutne (*apendicitis acuta*) i hronične (*apendicitis chronica*), kao i nekih drugih oboljenja (16). Uloga apendiksa i danas je diskutabilna; zapaljenje apendiksa je češće kod dece i adolescenata, ali sreće se, ne tako retko, i u srednjoj i staroj životnoj dobi, što može biti u skladu sa našim istraživanjima, da je i u dubokoj starosti limfno

tkivo prisutno (8, 9, 11). Radi pouzdanih zaključaka potrebno je uraditi istraživanje na većem broju pojedinačnih slučajeva, kao i analizirati apendiks u celini, pravljenjem serijskih preseka, što će biti predmet naših budućih istraživanja.

Zaključak

1. Na osnovu histološke analize uzorka iz srednjeg dela zida apendiksa u fetalnom periodu nije zapaženo formiranje limfnih folikula; prisutna je intenzivna limfocitna infiltracija podsluzokože.

2. Broj limfocita na jedinici površine (mm^2) se statistički značajno ($p < 0.001$) povećava u drugoj i trećoj starosnoj grupi u odnosu na prvu.

3. U adultnom periodu, prosečna area zida i limfnih folikula u apendiksu statistički značajno ($p < 0,05$) opada u trećoj starosnoj grupi u odnosu na prvu.

Procentualni udeo limfnih folikula u zidu apendiksa u adultnom periodu smanjuje se od 14,07% u prvoj starosnoj grupi, do 13,30% u trećoj, ali bez statističke značajnosti.

Literatura

1. Čukuranović R. Anatomija čoveka-Abdomen. Sveti Sava Gnjilane 2002: 127-34.
2. Nikolić I, Rančić G, Radenković G, Lačković V, Todorović V, Mitić D. Embriologija čoveka Data Status Beograd 2006:116-20.
3. Standing Susan, Gray, s anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice; Thirty ninth edition, Elsever Churchill Livingstone, Edinburg - London - New York - Oxford - Philadelphia - St Louis - Sydney - Toronto 2005: 1173-74.
4. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister HL. Gray, s anatomy Thirty seventh edition, Churchill Livingstone Edinburg London Melbourne and New York 1989.
5. Aminova GG, Grigorenko DE, Rusina AK, Erofeeva LM Morphological characteristics of the lymphoid tissues in the newborn children Morfologija. 2000;118(6):53-6.
6. Anđelković Z, Somer Lj, Perović M, Avramović V, Milenkova Lj, Kostovska N, Petrović A. Histološka građa organa. Bonafides Niš 2001: 49-53.
7. Aminova GG. The cecum lymphoid structure in preterm and full term newborns Morfologija. 2000;118(5):42-5.
8. Kovalchuk AL, Kishimoto T, Jans S. Lymph nodes and Peyer's patches of IL-6 transgenic BALB/c mice harbor T(12;15) translocated plasma cells that contain illegitimate exchanges between the immunoglobulin heavy-chain mu locus at c-myc Leukemia. 2000;14(6):1127-35.
9. Malla BK. A study on 'Veriform Appendix'- a caecal appendage in common laboratory mammals Kathmandu Univ Med J (KUMJ). 2003;1(4):272-5.
10. Nonaka S, Naito T, Chen H, Yamamoto M, Moro K, Kiyono H, et al. Intestinal $\gamma\delta$ T Cells Develop in Mice Lacking Thymus, All Lymph Nodes, Peyer's Patches, and Isolated Lymphoid Follicles The Journal of Immunology. 2004.
11. Nikolidis P., Hwang MC., Miller HF., Papanicolau N. The Nonvisualized Appendix: Incidence of Acute Appendicitis When Secondary Inflammatory Changes Are Absent AJR. 2004;183:889-92.
12. Patten M Bradley, Human Embryology. The Blakiston Company Philadelphia, Toronto 1948: 184.
13. Kališnik M. Temelji stereologije Acta Stereologica 1985; 4(1): 1-148.
14. Hanani M. Multiple myenteric networks in the human appendix Autonomic Neuroscience. 2004; (1):49-54.
15. Aminova GG. Lymphoid structures and their cellular content in the cecum in 1-3 years old children (early childhood) Morfologija. 2001;119(1):51-4.
16. Rubin Emanuel, John L. Farber, Pathology J. B. Lippincott Company Philadelphia 1988: 714-1715.

LYMPHOID TISSUE OF THE APPENDIX IN THE PRENATAL AND ADULT PERIOD OF HUMAN LIFE – MORPHOMETRIC ANALYSIS

Vladimir Zivkovic, Predrag Mandic, Dane Krtinic, Jelena Milosevic and Dejan Zdravkovic

Our research was performed on both prenatal (from 18th to 32nd week) and adult human material (20-25, 45-50, and 65-70 years old). Tissue sections of the appendix were routinely histologically processed, stained by HE method, and a morphometric analysis was performed by M42 test system. The number of lymphocytes per unit area (mm^2) within the submucosa of the appendix was determined on the fetal material. Both average area of the appendix wall and average area of the lymph follicles within the appendix wall were determined on the adult material and the percentage of lymph follicles within the appendix wall was estimated using these two parameters. During histological examination of our tissue samples, we did not determine the formation of lymph follicles, but the number of lymphocytes within the submucosa significantly increased. On the adult material, our morphometric analysis and percentage evaluation of follicle area of the appendix wall showed that the mean area of the wall and lymphoid tissue decreases with aging (from 1st to 3rd age category), but was not statistically significant. *Acta Medica Medianae* 2007;46(2):16-20.

Key words: *appendix, lymphoid tissue, morphometry*