

Original researches

Lymphatic supply and architectonics of intranodal lymphatic channel of lymph nodes of domestic pig

P. M. Gavrilin, A. O. Kolesnyk

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 11 August 2019
Revised: 28 August 2019
Accepted: 16 September 2019

Dnipro State Agrarian and Economic
University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro,
49600, Ukraine

Tel.: +38-097-454-51-97
E-mail: morfologagro@gmail.com
anya.kolesnik92@gmail.com

Cite this article: Gavrilin, P. M., & Kolesnyk, A. O. (2019). Lymphatic supply and architectonics of intranodal lymphatic channel of lymph nodes of domestic pig. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 7(3), 158–162. doi: 10.32819/2019.71028

Abstract. The peculiarities of lymphatic supply of individual somatic lymph nodes and the architectonics of their intranodal lymphatic channel in the domestic pig are analyzed. The method of indirect interstitial injection of lymphatic vessels with a fine-disperse contrast mass (black mascara suspension in 5 % gelatin gel solution) was used. The dynamics of gradual distribution of contrast mass from the interstice to the afferent lymphatic vessels and lymphatic collectors of the lymph nodes, as well as in the sinuses of the parenchyma of the organs until the appearance of the mass in the efferent lymphatic vessels were investigated by the method of anatomical preparation. Each subunit of the somatic lymph node conglomerate receives lymph from one afferent lymphatic vessel. The afferent lymphatic vessels flow into the intra-trabecular lymphatic cisterns, which are the major intranodal lymph node collectors. The number of intra-trabecular lymphatic cisterns in lymph nodes of domestic pigs corresponds to the number of subunits that form the corresponding nodule conglomerates. Intra-tubular cisterns are connected with all the sinuses of the parenchyma of the lymph nodes through the numerous lymphatic channels. The intensity of lymph flow from the cavity of the lymphatic cistern to the sinuses of the parenchyma nodes is greater in the direction from the top of the trabecula (cistern) to the central (middle) area of the lymphoid tissue. Contrast mass sequentially fills afferent lymphatic vessels, intra-trabecular lymphatic cisterns, central sites of parenchyma of nodes, peripheral sites of the parenchyma of nodes, including marginal and portal sinuses, efferent lymphatic vessels. The efferent lymphatic vessels are localized at the hilus of the subunits of the nodes together with the neurovascular bundles. The afferent vessels are located separately at the opposite pole of the subunits. In general, lymph nodes of the domestic pig are characterized by the usual, rather than the «reverse» type of intranodal lymphodynamics. As peculiarities of the structure of the intranodal lymphatic channel are: localization of the intranodal lymphatic collector in the middle of the highly developed capsular trabeculae, reminiscent of the structure of additional hilus of the nodes, but does not contain neurovascular fascicles; preferably a «centrifugal» type of distribution of the lymph in the sinus parenchyma of the lymph nodes from apex of the cistern, and, accordingly, from the deep layers of the lymphoid parenchyma to the marginal and portal sinuses. The established type of lymphatic supply of the lymph nodes of domestic pig probably provides a more effective immune response in consequence of the rapid and simultaneous entry of antigens into different, both superficial and deep layers of the lymphoid tissue of the organs.

Keywords: lymphatic vessels; lymph collectors; sinuses of parenchyma of lymph nodes; intranodal lymphodynamics.

Лімфопостачання та архітектоніка лімфатичного русла лімфатичних вузлів у свині свійської

П. М. Гаврилін., А. О. Колесник

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Анотація. Проаналізовано особливості лімфопостачання окремих соматичних лімфатичних вузлів та архітектоніку їх внутрішньовузлового лімфатичного русла у свині свійської. Застосували методику непрямої інтерстиціальної ін'єкції лімфатичних судин дрібнодисперсною контрастною масою (суспензія чорної туші на 5 % розчині желатинового гелю). Методом анатомічного препарування досліджували динаміку поступового поширення контрастної маси від інтерстицію до аферентних лімфатичних судин та лімфатичних колекторів лімфатичних вузлів, а також у синусах паренхіми органів до моменту появи маси в еферентних лімфатичних судинах. Кожна субодиниця конгломерату соматичних лімфатичних вузлів отримує лімфу з однієї аферентної лімфатичної судини. Аферентні лімфатичні судини впадають у внутрішньотрабекулярні лімфатичні цистерни, які являють собою основні внутрішньовузлові колектори лімфи. Кількість внутрішньотрабекулярних лімфатичних цистерн у лімфатичних вузлах свині свійської відповідає кількості субодиниць, які формують відповідні конгломерати вузлів. Інтра-трабекулярні цистерни через численні лімфатичні канали сполучаються зі всіма синусами паренхіми лімфатичних вузлів. Інтенсивність лімфоток з порожнини лімфатичної цистерни до синусів паренхіми вузлів більша в напрямку від верхівки трабекули (цистерни) до центральної (серединної) ділянки лімфоїдної тканини. Контрастна маса послідовно заповнює аферентні лімфатичні судини, внутрішньотрабекулярні лімфатичні цистерни, центральні ділянки паренхі-

ми вузлів, периферичні ділянки паренхіми вузлів, в тому числі крайовий та ворітний синуси, еферентні лімфатичні судини. Еферентні лімфатичні судини локалізовані у воротах субодниць вузлів разом із судинно-нервовими пучками, аферентні судини розташовані окремим на протилежному полюсі субодниць. У цілому для лімфатичних вузлів свині характерний звичайний, а не «реверсний» тип внутрішньовузлової лімфодинаміки. Особливості будови внутрішньовузлового лімфатичного русла такі: локалізація внутрішньовузлового лімфатичного колектора всередині сильно розвиненої капсулярної трабекули, яка нагадує будовою додаткові ворота вузлів, але не містить у своєму складі судинно-нервових пучків; переважно «центробіжний» тип розповсюдження лімфи в синусах паренхіми лімфатичних вузлів від верхівки цистерни, та, відповідно, глибоких шарів лімфоїдної паренхіми до крайового та ворітного синусів. Установлений тип лімфопостачання паренхіми лімфатичних вузлів свині свійської, імовірно, забезпечує більш ефективну імунну відповідь внаслідок швидкого та одночасного потрапляння антигенів в різні, як поверхневі так й глибокі, шари лімфоїдної тканини органів.

Ключові слова: лімфатичні судини; колектори лімфи; синуси паренхіми лімфатичних вузлів; внутрішньовузлова лімфодинаміка.

Вступ

Наразі остаточно з'ясовано, що паренхіма лімфатичних вузлів у ссавців має дискретну (часточкову) будову (Kelly, 1975; Gretz et al., 1997; Willard-Mack, 2006). Часточки паренхіми лімфатичних вузлів універсальні за гістоархітектонікою та складаються з окремих клітинних зон, ступінь розвитку яких у межах часточок залежить від багатьох факторів: виду, віку тварин, інтенсивності та характеру антигенного впливу. Відомо, що в лімфатичних вузлах із класичним типом будови внутрішньоорганного лімфатичного русла часточки паренхіми розташовані ланцюгом між двома внутрішньовузловими лімфатичними колекторами – крайовим та ворітним синусами (Gavrilin et al., 2017). При цьому кількість часточок, як правило, відповідає числу аферентних лімфатичних судин, до устя яких часточки максимально наближені та в басейні яких вони формуються (Sainte-Marie, 2010).

Часточкова будова паренхіми лімфатичних вузлів із класичним типом будови внутрішньоорганного лімфатичного русла наразі досліджена у відповідних органах людини та лабораторних тварин (Vyrenkov et al., 1995), а також бика свійського (Gavrilin et al., 2017a; Gavrilin et al., 2018).

У той же час відомо, що у деяких видів ссавців, а саме верблюдів, носорогів, слонів та свиней внутрішньовузлові колектори лімфи локалізуються всередині капсулярних трабекул у вигляді інтратрабекулярних цистерн, а відповідні підкапсулярні лімфатичні колектори (крайовий та ворітний синуси) слабо виражені. За даними Hoshi et al., 1986, інтратрабекулярні цистерни в лімфатичних вузлах свиней за допомогою численних лімфатичних каналів сполучаються з усіма іншими внутрішньовузловими синусами, а саме перитрабекулярними, субкапсулярними та синусами кори.

Крім цього, лімфатичні вузли у свині являють собою конгрегати частково зрошених вузлів, які розташовані без чіткої просторової орієнтації. Відомо також, що кожен окремий вузол конгрегату має основну інтратрабекулярну цистерну з однією аферентною та кількома еферентними лімфатичними судинами, останні з яких починаються з протилежного полюса вузла (Gavrilin et al., 2014). Імовірно, однією з основних структурно-функціональних характеристик лімфатичних вузлів у верблюдів, слонів, свиней тощо постає особливий тип будови внутрішньовузлового лімфатичного русла та відповідної внутрішньовузлової лімфодинаміки, які визначають характер локалізації лімфоїдних часточок у паренхімі, що потребує дослідження цього аспекту різними методами і на різних рівнях структурної організації.

Метою наших досліджень на першому етапі було встановити особливості лімфопостачання лімфатичних вузлів з цистернами інтратрабекулярного типу на прикладі відповідних органів у свині свійської, визначити динаміку лімфопостачання окремих вузлів конгрегатів та характер розподілу лімфи всередині паренхіми вузлів від внутрішньотрабекулярної цистерни до еферентних лімфатичних судин.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконані на кафедрі нормальної і патологічної анатомії сільськогосподарських тварин та в лабораторії гістології, імуноцитохімії та патоморфології науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Матеріалом для досліджень були трупи свині свійської (поросята 2–4-місячного віку) у кількості 20 голів.

Для дослідження особливостей лімфопостачання компартментів лімфатичних вузлів проводили непряму інтерстиціальну ін'єкцію дрібнодисперсною контрастною масою (суспензією чорної туші на 5 % розчині желатинового гелю) окремих лімфатичних вузлів (дорсальний поверхневий шийний лімфатичний вузол, пахвовий лімфатичний вузол 1-го ребра, поверхневий пахвинний та підколінний лімфатичні вузли) (Kostjuk, 2008).

Основним компонентом для приготування 5 % розчину желатинового гелю був сухий гранульований желатин, який спочатку заливали водою кімнатної температури на одну годину, після чого нагрівали на водяній бані до повного розчинення. До теплового желатину додавали 3 мл туші чорного кольору (перед додаванням до желатину туш розчиняли у 1 мл теплої води). Отриману суміш туші та желатину ретельно перемішували та підігрівали на водяній бані за температури 36–40 °С. Цей розчин вводили інтерстиціально в підшкірну клітковину в ділянці голови (губи, верхівка носа) й пальцеві м'якуші грудних та тазових кінцівок. Проводили препарування лімфатичних судин, вищевказаних лімфатичних вузлів, досліджували динаміку розповсюдження контрастної маси на серединних сегментальних розрізах субодниць вузлів на різних етапах уведення контрастної маси, від заповнення масою інтерстиціальних та аферентних лімфатичних судин до її появи в еферентних лімфатичних судинах. Фотопротокол процесу дослідження здійснювали за допомогою цифрової фотокамери «Olympus – 420».

Результати

Дослідженням зовнішніх макроскопічних характеристик соматичних лімфатичних вузлів встановлено, що дорсальний поверхневий шийний вузол складається з 4–6 субодниць, які частково зростаються, пахвовий лімфатичний вузол 1-го ребра з 2–4 субодниць, межі між якими виражені нечітко, поверхневий пахвинний та підколінний з 11–13 та 4–7 субодниць відповідно. Кожна окрема субодниця досліджених лімфатичних вузлів має зовнішню опуклу поверхню із центральним втисненням, відносно відокремлену, та внутрішню, що спрямована всередину конгломерату та зростається з відповідними ділянками інших субодниць. В цілому лімфатичні вузли свині свійської макроскопічно нагадують нирку великої рогати худоби борозенчастого багатососочкового типу.

Установлено, що аферентні лімфатичні судини соматичних лімфатичних вузлів свині свійської, представлені численними окремими гілочками, які формуються внаслідок розгалуження

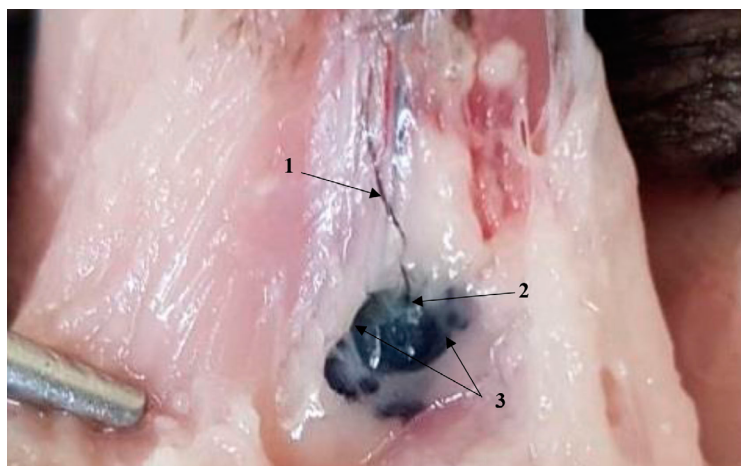


Рис. 1. Аферентна лімфатична судина (1), що входить до втиснення (капсулярної трабекули з лімфатичною цистерною) (2) на поверхні субодиниці (3) підколінного лімфатичного вузла.

2–4 передвузлових лімфатичних судин, кожна з яких входить до втиснення на поверхні кожної окремої субодиниці вузлів (рис. 1).

Втиснення на поверхні субодиниць вузлів утворюються внаслідок відходження в цьому місці від капсули органів усередину їх паренхіми великих трабекул, що містять лімфатичні колектори (інтратрабекулярні цистерни), товщину яких значно перевищує товщини самої капсули. Таким чином, кількості приносних лімфатичних судин у соматичних лімфатичних вузлах свині свійської відповідає кількість субодиниць конгломератів. Еферентні лімфатичні судини виходять з протилежного полюса субодиниць вузлів. При цьому кількість виносних лімфатичних судин в окремих субодиницях варіює від однієї до декількох залежно від розмірів відповідних субодиниць.

Під час дослідження характеру та динаміки розповсюдження контрастної маси всередині соматичних лімфатичних вузлів встановлено, що на першому етапі відбувається наповнення контрастними масами центральних зон субодиниць у ділянці втиснення паренхіми, що являє собою місце розташування основної капсулярної трабекули, всередині якої міститься основний лімфатичний колектор, або інтратрабекулярна цистерна. Таким чином в лімфатичних вузлах з інтра-трабекулярними цистернами аферентна лімфа спочатку «концентрується» всередині капсулярних трабекул, внаслідок

чого конгрегати лімфатичних вузлів набувають крапчастого вигляду. Характерно, що контрастна маса в конгрегатах соматичних лімфатичних вузлів розподіляється відносно нерівномірно, переважна її частина потрапляє в найбільш розвинені одиниці конгрегатів, які розташовані в їх центральних зонах.

На другому етапі контрастна маса починає виходити за межі внутрішньотрабекулярних лімфатичних цистерн із наступним розповсюдженням всередині паренхіми органів. Установлено, що спочатку специфічне чорне забарвлення з'являється в паренхімі, розташованій на межі з верхівками капсулярних трабекул. У результаті в паренхімі соматичних лімфатичних вузлів свині на сегментальних розрізах формуються зони чорного забарвлення, які локалізуються всередині лімфоїдної тканини. Далі контрастна маса починає одночасно розповсюджуватися як усередину паренхіми, так і в напрямку крайового синуса.

На третьому етапі контрастна маса заповнює всі без винятку синуси субодиниць лімфатичних вузлів, як кіркові перитрабекулярні, так і мозкові та субкапсулярні. В результаті всі субодиниці вузлів набувають чорного забарвлення. З паренхіми субодиниць контрастні маси переміщуються в еферентні лімфатичні судини, які також починають візуалізуватися. Характерно, що, на відміну від аферентних лімфатичних судин, коли одній субодиниці відповідає одна приносна судина,

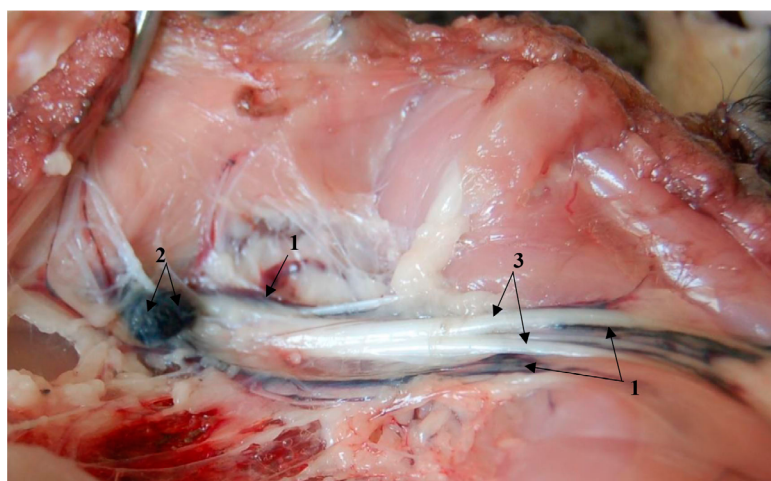


Рис. 2. Еферентні лімфатичні судини (1) пахвового лімфатичного вузла 1-го ребра (2) у складі судинно-нервового пучка (3).

кількість еферентних судин у субодинаціях варіює від однієї до 3–4 залежно від їх розмірів. За межами конгрегатів лімфатичних вузлів еферентні судини об'єднуються у 2–3 великі судини, які, як правило, розташовані у складі судинно-нервових пучків (рис. 2). При цьому аферентні лімфатичні судини завжди поодинокі й не супроводжуються кровоносними судинами.

Обговорення

Отримані результати свідчать, що лімфопостачання лімфатичних вузлів свині свійської в цілому відповідає загальним принципам лімфодинаміки в цих органах тварин класу ссавців. Як й у інших видів ссавців, аферентні лімфатичні судини у свині свійської входять до паренхіми лімфатичних вузлів із боку, протилежного від воріт, з їх опуклої поверхні. При цьому особливим будови соматичних вузлів свині свійської полягає у наявності в їх складі окремих субодинацій, що частково зростаються, тому зовнішня їх поверхня горбиста та нагадує нирки окремих видів жуйних тварин. Слід також зазначити, що у свині свійської кількість аферентних лімфатичних судин відповідає кількості одиниць когломерату, аферентні лімфатичні судини входять до субодинацій когломерату у «фіксованих точках» – місцях локалізації великих капсулярних трабекул, всередині яких є лімфатичний колектор або лімфатична цистерна, що вперше було описано у праці Hoshi et al., 1986.

Характерно також, що аферентна лімфа з відповідних судин безпосередньо до паренхіми вузлів не потрапляє, вона накопичується в трабекулярному колекторі, з якого розподіляється в межах паренхіми вузла вкрай нерівномірно.

Деякі дослідники вважають трабекулярний колектор за ворота вузлів (Nickel et al., 1976; Banks, 1981). Але така думка не обґрунтована з точки зору загальноприйнятої концепції кровопостачання цих органів у ссавців. Воротами лімфатичних вузлів вважається втиснення на їх поверхні, де локалізовані не тільки лімфатичні, а й кровоносні судини (як артерії, так і вени) та нерви. Крім того, лімфатичні судини воріт вузлів завжди належать до виносних або еферентних. Отож лімфатичні трабекулярні цистерни не можна вважати за ворота органа. Вони сполучаються тільки з приносними лімфатичними судинами, є їх похідними та різновидом лімфатичних колекторів, до яких у лімфатичних вузлах ссавців класичного типу належить крайовий синус.

Особливість внутрішньовузлової лімфодинаміки в лімфатичних вузлах свині полягає також у дуже специфічній будові внутрішньовузлового лімфатичного колектора, на що також вказується у працях Hoshi et al., 1986. Внаслідок того, що основний колектор лімфи в лімфатичних вузлах свині свійської розташований всередині великих капсулярних трабекул, контрастна маса спочатку заповнює саме трабекулярний синус, що глибоко проникає всередину паренхіми, після цього маса заповнює глибокі шари паренхіми субодинацій вузлів і потім з'являється у крайовому синусі, а на останньому етапі – в мозковій речовині вузлів, яка у свиней слабо виражена та має специфічну дифузну будову.

Саме такий характер розповсюдження контрастної маси з «порожнини» великої капсулярної трабекули, що нагадує ворітне потовщення капсули лімфатичних вузлів, до їх кіркової та мозкової речовини, імовірно, був основною причиною формування помилкового уявлення про те, що аферентні лімфатичні судини в лімфатичних вузлах свині свійської входять через їх ворота, а виходять із протилежної поверхні, де потовщення капсули майже не виражене, а лімфодинаміка в цілому відбувається за «реверсним» типом. Необхідно також зазначити, що «реверсний» тип лімфодинаміки в лімфатичних вузлах ссавців відповідно до сучасного уявлення про функцію цих органів абсолютно неможливий. Лімфа, яка насичена антигенами та антигенпрезентуючими клітинами, і кров у кровоносних судинах, що містить імунокомпонентні клітини, мають переміщуватися в зустрічних, а не паралельних «по-

токах», а їх контакт відбувається саме всередині паренхіми вузлів, де локалізовані численні судини мікроциркулярного русла, насамперед, венули з високим ендотелієм, через стінки яких імунокомпонентні клітини потрапляють у лімфоїдну тканину вузлів (De Bruyn & Cho, 1990; Andrian & Mempel, 2003).

У цілому для лімфатичних вузлів свині свійської властивий відцентровий тип розповсюдження лімфи всередині паренхіми та одночасний її «контакт» із різними зонами лімфоїдної тканини, що, можливо, забезпечує рівномірний одномоментний розподіл антигенів усередині лімфатичного вузла та може свідчити про більш високі функціональні характеристики даних органів у цього виду ссавців.

Внутрішньотрабекулярний тип внутрішньовузлових лімфатичних колекторів також характерний для лімфатичних вузлів низки інших видів ссавців. Можна зробити припущення, що саме такий тип лімфопостачання паренхіми лімфатичних вузлів забезпечує більш ефективну імунну відповідь внаслідок одночасного потрапляння антигенів у глибокі та поверхневі шари паренхіми та зумовлює специфічну гістоархітектоніку лімфатичних вузлів у цілому.

Висновок

Для лімфатичних вузлів свині, що мають вигляд когломерату окремих субодинацій унаслідок їх часткового зростання, властивий «звичайний», а не «реверсний» тип внутрішньовузлової лімфодинаміки з низкою певних структурно-функціональних особливостей.

У свині основний лімфатичний колектор, що приймає лімфу з аферентних судин, міститься за межами паренхіми вузлів усередині найбільш розвинених капсулярних трабекул у вигляді інтратрабекулярної лімфатичної цистерни, до якої входить одна аферентна лімфатична судина.

Кожна субодинація когломерату лімфатичних вузлів свині має одну інтратрабекулярну лімфатичну цистерну. Лімфа з порожнини інтратрабекулярної цистерни через численні лімфатичні канали одночасно потрапляє у всі основні лімфатичні синуси паренхіми вузлів, а інтенсивність лімфоток стаче більшою в напрямку центральної або середньої ділянки паренхіми, що оточує верхівку капсулярної трабекули.

Переважаю «відцентровий» тип розповсюдження лімфи в паренхімі лімфатичних вузлів свині може визначити специфічну гістоархітектоніку лімфоїдної тканини та особливий характер локалізації її структурно-функціональних одиниць (лімфоїдних часточок).

Подальші дослідження будуть спрямовані на визначення особливостей часточкової структури паренхіми лімфатичних вузлів свині свійської у зв'язку зі специфікою внутрішньовузлової лімфодинаміки.

References

- Andrian, U. H., & Mempel, T. R. (2003). Homing and cellular traffic in lymph nodes. *Nature Reviews Immunology*, 3, 867–878.
- Banks, W. J. (1981). *Applied veterinary histology*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- De Bruyn, P. P. H., & Cho, Y. (1990). Structure and function of high endothelial postcapillary venules in lymphocyte circulation. *Reaction Patterns of the Lymph Node*, 85–101.
- Gavrilin, P. N., Gavrilina, E. G., & Evert, V. V. (2017). Histoarchitectonics of the parenchyma of lymph nodes of mammals: this different structure of intranodal lymphatic channel. *Ukraine Journal of Ecology*, 7 (3), 96–107.
- Gavrilin, P. N., Gavrilina, O. G., & Kravtsova, M. V. (2017a). The compartments of the parenchyma of the lymph nodes in the newborn domestic bull (*Bos taurus*). *Regulatory mechanisms in biosystems*, 8 (2), 169–178.

- Gavrilin, P. N., Lieshchova, M. A., Gavrilina, O. G., & Boldyreva, T. F. (2018). Prenatal morphogenesis of compartments of the parenchyma of the lymph nodes of domestic cattle (*Bos taurus*). *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(1), 95–104.
- Gavrilin, P. N., Masjuk, M. O., & Tishkina, N. N. (2014). Osoblivosti makroskopichnoi strukturi limfatichnih vuzliv svini sviyskoi [Features of macroscopic structure of lymph nodes of the pig of a domestic]. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 2(1), 32–37 (in Ukrainian).
- Gretz, J. E., Anderson, C. C., & Shaw, S. (1997). Cords, channels, corridors and conduits, critical architectural facilitating cell interactions in the lymph node cortex. *Immunological Reviews*, 156, 11–24.
- Hoshi, N., Hashimoto, Y., Kitagawa, H., Kon, Y., & Kudo, N. (1986). Histological and immunohistochemical studies on the architecture of lymph nodes in pig. *Japan Journal Veterinary Science*, 48 (6), 1097–1107.
- Keelly, R. H. (1975). Functional anatomy of lymph nodes. The paracortical cords. *International Archives of Allergy and Immunology*, 48 (6), 836–849.
- Nickel, R., Schummer, A., & Seiferle, E. (1976). *Lehrbuch der anatomie der haustiere*, Bd. 3. Verlag Paul Parey, Berlin u Hamburg.
- Sainte-Marie, G. (2010). The lymph node revisited: Development, morphology, functioning, and role in triggering primary immune responses. *The Anatomical Record*, 293(2), 32–37.
- Vyrenkov, Y. E., Shishlo, V. K., Antropova, J. G., & Ryzhova, A. V. (1995). Sovremennye dannye o strukturno-funkcional'noj organizacii limfaticeskogo uzla [Modern data on the structural and functional organization of the lymph node]. *Morphology*, 103 (3), 34–40 (in Russian).
- Willard-Mack, C. L. (2006). Normal structure, function, and histology of lymph nodes. *Toxicologic Pathology*, 34(5), 409–424.