

## Kernohan index for splenic vessels of cold-blooded animals

O.F. Dunaievskaya

*Zhytomyr National Agroecological University  
Zhytomyr, Ukraine*

*E-mail: [Oksana\\_fd@ukr.net](mailto:Oksana_fd@ukr.net), Tel.: +38 050 447 82 28, ORCID:0000-0002-8999-8211*

The article presents the results of the determination of the Kernohan index in vessels of the spleen at cold-blooded animals. The index was calculated for the arteries of the white pulp, in particular, the central artery of a lymphoid nodule and lymphoid sheaths near the vessels. This selection is based on the performance of white pulp filtration and immune functions. The study of the spleen conducted in the phase of morphological and functional maturity of the organ in the wells catfish (age 2 years), the lake frogs (age 24-26 months), and the green lizards (aged 23-25 months). The slices of material were fixed in 10-12 % chilled neutral formalin solution, liquid Carnoy, for microscopic studies; then they were embedded in paraffin. Histological sections have a thickness not exceeding 6 micrometers. Then there are dyeing by hematoxylin and eosin according to Van-Gison technology. Morphometric study of the spleen was performed under light microscopy using a microscope Biolam-Lomo and Micros MC-50. The microphotography of histological preparations was carried out with CAM V 200 video camera. It is mounted on a microscope Micros MC-50. The Kernohan index belongs to the indices which characterizing the functional immunomorphology in the spleen and is used to develop test criteria on in biomonitoring.

The wall thickness of the central artery lymphoid nodule is the smallest in the fish ( $3.4 \pm 1.11$  micrometers) and the largest in the frog ( $20.47 \pm 4.46$  micrometers), of a lizard, it is of  $6.96 \pm 1.62$  micrometers. The inner diameter is the smallest in lizards ( $4.32 \pm 2.44$  micrometers) and the largest – in the frog ( $21.03 \pm 3.76$  micrometers), in the fish is of  $6.48 \pm 2.31$  micrometers. The frog wall thickness of the central artery of lymphoid nodule and arteries lymphoid sheaths near the vessels are the highest ( $11.25 \pm 1.25$  micrometers and  $31.25 \pm 6.25$  micrometers, respectively) among the studied animals. The fish's wall thickness of inner diameter of the artery and arteries lymphoid sheaths near the vessels is  $6.25 \pm 1.12$  micrometers and  $16.01 \pm 2.55$  micrometers; in the lizards –  $6.22 \pm 1.06$  micrometers and was  $3.56 \pm 0.53$  micrometers, respectively. The Kernohan index of arteries lymphoid nodule is the larger than arteries lymphoid sheaths near the vessels by 1.35 times (in fish), by 2.69 times (in frog), and less than by 1.08 times (in lizard). The highest value of Kernohan index was registered for lizard:  $3.2 \pm 0.61$  of artery lymphoid nodule and  $3.49 \pm 0.59$  for arteries lymphoid sheaths near the vessels.

**Key words:** Kernohan index; spleen; fish; frog; lizard; arteries of lymphoid nodule and lymphoid sheaths near the vessels

---

## Визначення індексу Керногана для судин селезінки пойкілотермних тварин

О.Ф. Дунаєвська

*Житомирський національний агроєкологічний університет  
м. Житомир, Україна*

*E-mail: [Oksana\\_fd@ukr.net](mailto:Oksana_fd@ukr.net), тел.: +38 050 447 82 28, ORCID:0000-0002-8999-8211*

В статті наведені результати визначення індексу Керногана судин селезінки у представників пойкилотермних тварин. Обчислення індексу проводили для артерій білої пульпи, зокрема, центральної артерії лімфоїдного вузлика та періартеріальних лімфоїдних піхв. Цей вибір ґрунтується на виконанні білою пульпою фільтраційної та імунної функцій. Проводили вивчення селезінки у фазі морфофункціональної зрілості органу сома звичайного (вік 2 роки), жаби озерної (вік 24-26 місяців), ящірки зеленої (вік 23-25 місяців). Індекс Керногана належить до показників, що характеризують функціональну імуноморфологію селезінки і використовується для розробки тест-критерію органу у біомоніторингу. Товщина стінки центральної артерії лімфоїдного вузлика найменша у риби ( $3,4 \pm 1,11$  мкм) та найбільша у жаби ( $20,47 \pm 4,46$  мкм), у ящірки вона становить  $6,96 \pm 1,62$  мкм. Внутрішній діаметр найменший у ящірки ( $4,32 \pm 2,44$  мкм) і

найбільший у жаби ( $21,03 \pm 3,76$  мкм), у риби складає  $6,48 \pm 2,31$  мкм. У жаби товщина стінки центральної артерії лімфоїдного вузлика та артерій періартеріальних лімфоїдних піхв найбільші ( $11,25 \pm 1,25$  мкм та  $31,25 \pm 6,25$  мкм відповідно) серед досліджуваних тварин. У риби товщина стінки, внутрішній діаметр артерії періартеріальних лімфоїдних піхв становлять  $6,25 \pm 1,12$  мкм та  $16,01 \pm 2,55$  мкм, у ящірки  $6,22 \pm 1,06$  мкм та  $3,56 \pm 0,53$  мкм відповідно. Індекс Керногана артерій лімфоїдного вузлика більший, ніж артерій періартеріальних лімфоїдних піхв у 1,35 рази (риба), 2,69 рази (жаба) та менший у 1,08 разів (ящірка). Найбільші значення індексу Керногана встановлено у ящірки:  $3,22 \pm 0,61$  для артерії лімфоїдного вузлика і  $3,49 \pm 0,59$  для артерій періартеріальних лімфоїдних піхв

**Ключові слова:** індекс Керногана; селезінка; риба; жаба; ящірка; артерії лімфоїдного вузлика і періартеріальної лімфоїдної піхви

## Вступ

Селезінка – периферичний лімфоїдний орган, розташований за напрямком руху кровеносних судин, який виконує фільтраційну, очисну, імунну, кровотворну, депонуючу функції, та зустрічається у всіх хребетних. Це єдиний орган імунної системи, що знаходиться на шляху кровотоку з аорти в систему воротньої вени, через який регулярно протікає значна кількість крові, що дає підстави дослідникам називати її фільтром кровеносної системи. Морфологи, імунологи і лімфологи стверджують, що найважливішими функціями селезінки є гемопоетична (проліферація і накопичення лімфоцитів), імунопоетична (антитілоутворення), і забезпечення рециркуляції пулу лімфоцитів шляхом міграції через стінки посткапілярних венул і синусів. Селезінці належить вагомий внесок в розвиток і підтримку клітинної і гуморальної імунної відповіді, вродженого і набутого імунітету, кількісний і якісний склад імунітетів крові. Селезінка здійснює екстрамедулярний гемопоєз при умовах дефіциту медулярного (Vishnevskaya, 2015; Bronte et al., 2013). Головна функція селезінки – формування генералізованої імунної відповіді на дію різних чинників, підтримка імунного гомеостазу, необхідного рівня адаптаційного потенціалу організму. Проте взаємозв'язок імунологічних процесів з структурною організацією селезінки вивчений недостатньо (Vishnevskaya, 2015; Volkov, 2015). В.П. Волков (Volkov, 2015) запропонував комплексний алгоритм вивчення імуноморфології селезінки, більшість показників визначається науковцями, проте індекс Керногана (ІК) судин селезінки не вивчався. ІК для пойкилотермних тварин буде розраховано вперше, для птахів і ссавців ми його визначили у попередніх дослідженнях (Dunaievskaya, 2017).

Найчастіше індекс Керногана розраховується для аорти (Fomenko, 2016), оскільки він дозволяє оцінити пропускну спроможність судини. Так, вивчені зміни морфометричних параметрів при систолі і діастолі, при кровотраті, зменшення ІК в черевній частині аорти в порівнянні з грудною, що свідчить про зниження пропускну спроможності аорти цього відділу (Slavov et al., 2014). ІК використовується також для оцінки функціонального стану судин, тому в наукових дослідження останніх років його вираховують для характеристики судинного русла привушної залози (Levkiv, 2014), різних за калібром судин в залежності від автономної регуляції серцевого ритму (Demus, 2013), судин шлунково-кишкового тракту (Shulgay et al., 2013). Встановлено, що ІК венозних судин паренхіматозних органів (легені, серце) залежить від віку людини (Nickel et al., 2016). ІК плечової артерії збільшується при лімфомі Ходжкіна, вираженість змін залежить від стадії хвороби (Koptev et al., 2011).

**Мета дослідження** – виявити морфофункціональні особливості судинного апарату селезінки представників класів холоднокровних тварин, з'ясувати морфометричні показники судин та на основі отриманих даних розрахувати ІК для розробки тест-критеріїв органу в нормі. Вони будуть в подальшому використовуватися у патоморфології, при вивченні впливу фармакологічних препаратів, екологічних чинників, умов утримання та годівлі тварин, профілактики захворювань, ефективного лікування, отримання високоякісних продуктів харчування. Встановлення значень ІК є важливим для вивчення фільтраційної спроможності селезінки та мікроциркуляції органу.

## Матеріали та методи

Виконане дослідження є частиною наукової тематики кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроекологічного університету «Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології», державний реєстраційний № 0113V000900.

Для дослідження здійснювали відбір селезінки в стадії морфофункціональної зрілості у клінічно здорових статевозрілих тварин обох статей у співвідношенні 1:1: совів звичайних *Siluris glanis* L. (вік 2 роки), жаб озерних *Rana ridibunda* P. (вік 24-26 місяців), ящірок зелених *Lacerta viridis* L. (вік 23-25 місяців) у кількості 20-38 особин з Житомирського району. Для мікроскопічних досліджень шматочки матеріалу фіксували в 10-12 %-му охоложеному розчині нейтрального формаліну, рідини Карнуа, які в подальшому заливали в парафін. Гістологічні зрізи виготовляли на санному мікромомі МС-2, товщиною не більше 6 мкм. Для вивчення морфології клітин і тканин при світловій мікроскопії застосовували фарбування гематоксилином та еозином, за Ван-Гізона. Морфометричні дослідження селезінки проводили при світловій мікроскопії за допомогою мікроскопу Биолам-Ломо та Micros МС-50. Визначали товщину стінки центральної артерії лімфоїдного вузлика та її внутрішній діаметр, аналогічні показники вимірювали для артерій періартеріальних лімфоїдних піхв. Мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали відеокамерою CAM V 200, вмонтованої в мікроскоп Micros МС-50. Всі перераховані методи, а також статистична обробка результатів, що були використані при дослідженні, використовувались відповідно до описаних в посібнику Горальського Л.П. зі співавторами (2005).

ІК вираховували за формулою:

$$IK = \frac{2L}{D},$$

де L – це товщина стінки центральної артерії лімфоїдного вузлика селезінки, D – її внутрішній діаметр. Дану формулу для судин селезінки запропонував В.П. Волков (Volkov, (2015).

Уся експериментальна частина дослідження була проведена згідно з вимогами міжнародних принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.) та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3446-IV від 21.02.2006 р., м. Київ).

## Результати та їх обговорення

У риб, амфібій та рептилій селезінка є органом кровотворення. Вона складається з пульпи та сполучної основи. Пульпа поділяється на білу і червону. Біла пульпа селезінки виконує імунну функцію. Її основними структурами є лімфоїдні вузлики (ЛВ) та періартеріальні лімфоїдні піхви (ПАЛП), які розташовуються навколо судин. Це дозволяє виконувати фільтраційну, очисну та захисну функції. У пойкилотермних тварин, як і у птахів в ЛВ виділяється лише періартеріальна зона, на відміну від ссавців, у яких ще диференціюється світлий центр, мантийна та маргінальна зони. Саме періартеріальна зона, яка утворена фіксованими макрофагами і Т-лімфоцитами, фагоцитуює антиген і представляє його Т-лімфоцитам. Т-лімфоцити під впливом антигену диференціюються в ефекторні клітини. Поблизу стінки артерій ПАЛП локалізуються В-лімфоцити і плазмоцити, Т-лімфоцити, макрофаги.

У досліджених гістологічних препаратах селезінки чітко виявлялись судини ЛВ і ПАЛП (рис. 1, 2). Центральна артерія ЛВ частіше розташовувалась ексцентрично, нерідко на периферії ЛВ. ПАЛП рідко мали правильну округлу форму, частіше були овально-витягнутими. Артерії ЛВ і ПАЛП належать до судин м'язового типу. Інтима цих артерій складається з ендотеліальних та підендотеліального шарів. Ендотеліальний шар утворений ендотеліоцитами, підендотеліальний – пухкою волокнистою сполучною тканиною з колагеновими, еластичними і ретикулярними волокнами. Зустрічались малодиференційовані сполучнотканинні зірчасті клітини і гладкі м'язові клітини. Медію утворювала переважно гладка м'язова тканина, пучки якої розташовувались спірально. Між пучками знаходилися прошарки волокнистої сполучної тканини. Важливою особливістю є еластичний каркас стінки артерії, який надає їй пружності і завдяки чому просвіт постійно відкритий. Адвентиція побудована з пухкої сполучної тканини.

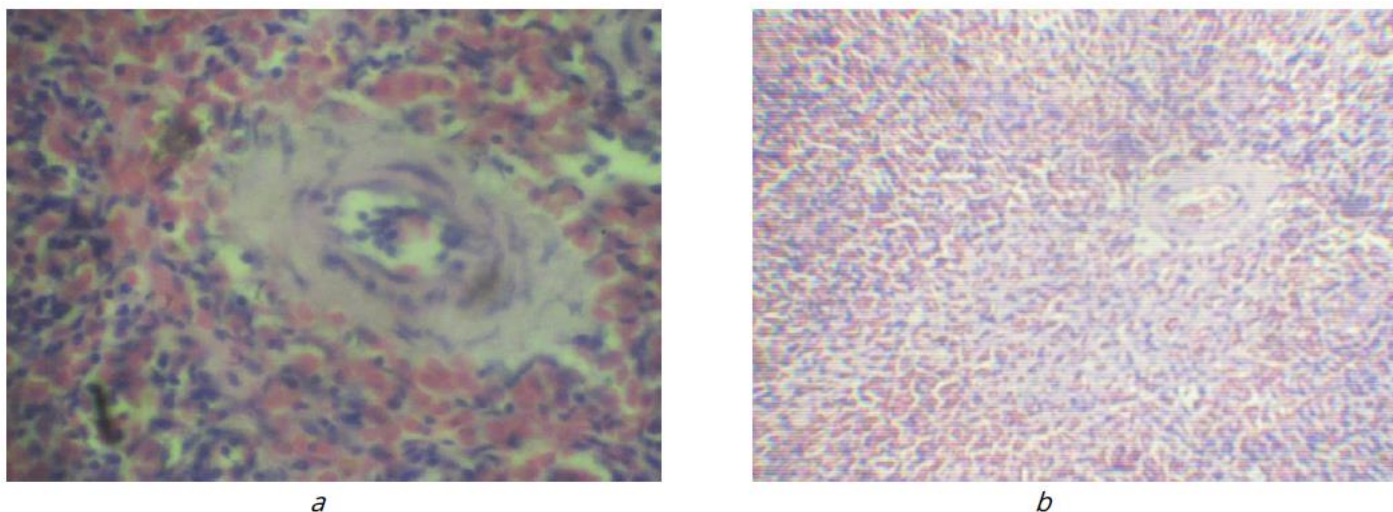
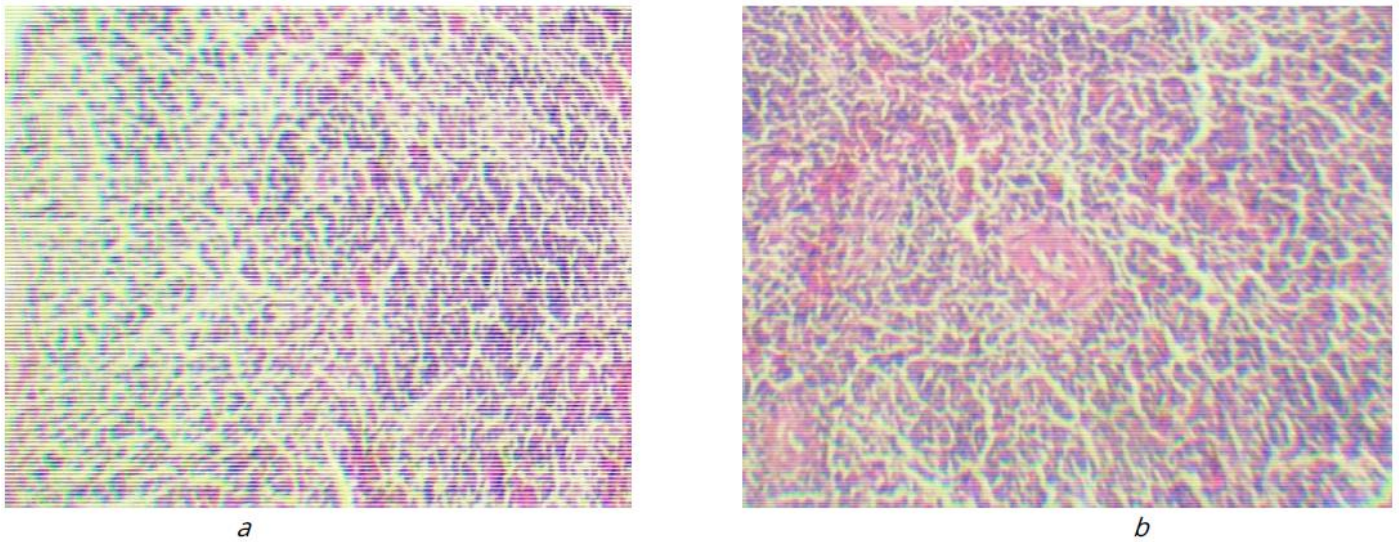


Рис. 1. Артерія ПАЛП селезінки сома звичайного. Гематоксилін та еозин.  $\times 400$  (a); артерія ПАЛП селезінки жаби озерної. Гематоксилін та еозин.  $\times 105$  (b).

За результатами обчислень ІК більший за 1 у всіх досліджених препаратах центральної артерії ЛВ, у артерій ПАЛП у ящірки перевищував 3 одиниці, а у риби і жаби був меншим за 1 (таблиця 1).

Таблиця 1. Індекс Керногана артерій складових білої пульпи селезінки тварин

Вид тварини	ЛВ	ПАЛП
Риба	1,05 $\pm$ 0,22	0,78 $\pm$ 0,11
Жаба	1,94 $\pm$ 0,28	0,72 $\pm$ 0,13
Ящірка	3,22 $\pm$ 0,61	3,49 $\pm$ 0,59



**Рис. 2.** Центральна артерія ЛВ селезінки ящірки зеленої. Гематоксилін та еозин.  $\times 56$  (a); артерія ПАЛП селезінки ящірки зеленої. Гематоксилін та еозин.  $\times 120$  (b).

ІК артерій ЛВ більший, ніж артерій ПАЛП у 1,35 рази (риба), 2,69 рази (жаба) та менший у 1,08 рази (ящірка) (див. табл. 1). Товщина стінки центральної артерії ЛВ найменша у риби ( $3,4 \pm 1,11$  мкм) та найбільша у жаби ( $20,47 \pm 4,46$  мкм), у ящірки вона становить  $6,96 \pm 1,62$  мкм. Внутрішній діаметр найменший у ящірки ( $4,32 \pm 2,44$  мкм) і найбільший у жаби ( $21,03 \pm 3,76$  мкм), у риби складає  $6,48 \pm 2,31$  мкм. У жаби товщина стінки центральної артерії ЛВ та артерій ПАЛП найбільші ( $11,25 \pm 1,25$  мкм та  $31,25 \pm 6,25$  мкм відповідно) серед досліджуваних тварин. У риби товщина стінки внутрішній діаметр артерії ПАЛП становлять  $6,25 \pm 1,12$  мкм та  $16,01 \pm 2,55$  мкм, у ящірки  $6,22 \pm 1,06$  мкм та  $3,56 \pm 0,53$  мкм відповідно.

## Висновки

Індекс Керногана є важливою характеристикою судин білої пульпи селезінки і в комплексі морфометричних параметрів визначає стан функціональної імуноморфології селезінки. Ця величина характеризує можливість судини регулювати кровонаповнення завдяки еластичності стінки. Визначення ІК для селезінки тварин не проводилось, хоча для людини ця величина належить до основних показників, що характеризують функціональну імуноморфологію селезінки. Найбільше значення ІК центральної артерії лімфоїдного вузлика і періартеріальних лімфоїдних піхв білої пульпи селезінки визначено у жаби, найменше – у риби. Товщина стінки центральної артерії лімфоїдного вузлика пойкилотермних тварин зростає від  $3,4 \pm 1,11$  мкм (риба) до  $20,47 \pm 4,46$  мкм у жаби. Товщина стінки артерії періартеріальних лімфоїдних піхв у риби та ящірки мають приблизно однакові значення ( $6,25 \pm 1,12$  мкм та  $6,22 \pm 1,06$  мкм), у жаби вона майже вдвічі більша ( $11,25 \pm 1,25$  мкм).

## References

- Bronte, V., Pittet, M.J. (2013). The spleen in local and systemic regulation of immunity, *Immunity*, 39(5), 806–818. doi:10.1016/j.immuni.2013.10.010.
- Demus, N.V. (2013). Rist i rozvytok telychok chorno-ryaboyi porody zalezno vid typiv avtonomnoyi rehulyatsiyi sertsevoho rytmu. *Scientific herald of LNUWMB named after S.Z.Gzhytsky*, 15, 3(57), 64-70 (in Ukrainian).
- Dunaievskaya, O. (2017). Vyznachennya indeksu Kernohana sudyn selezinky predstavnykiv ptakhiv i ssavtsiv. *Scientific Bulletin of the East-European National University named after Lesya Ukrainka. Series: Biological Sciences*, 7 (356), 154-157 (in Ukrainian).
- Fomenko, L.V., Khonin G.A. (2016). Vidovye osobennosti gistologicheskogo stroeniya arty u neyasyti obyknovennoy, sovy polyarnoy i yastreba-teterevyanika. *Bulletin of the Omsk State University. Veterinary science*, 1 (21), 174-181 (in Russian).
- Goralsky, L.P., Khomych, V.T., Kononsky, O.I. (2005). Osnovy histolohichnoyi tekhniky i morfofunktsional'ni metody doslidzhen u normi ta pry patolohiyi. *Zhytomyr, Polissya*, 288 (in Ukrainian).
- Ikegami, R., Tanimoto, Y., Kishimoto, M., Shibata, H. (2016). Anatomical variation of arterial supply to the rabbit spleen. *J. Vet. Med. Sci*, 78(2), 199–202. doi: 10.1292/jvms.15-0297.
- Koptev, V.D., Pospelova, T.I., Skvortsova, N.V., Kopteva, L.M. (2011). Vascular wall remodeling of non-Hodgkin malignant lymphomas. *Cellular Therapy and Transplantation (CTT)*, 3(12). doi: 10.3205/ctt-2011-No12-abstract20.
- Levkiv, M.O. (2014). Morfolohichna kharakterystyka sudynnoho rusla pryvushnoyi zalozy na riznykh terminakh obturatsiyynoho kholestazu. *Clinical stomatology*, 1, 12-16 (in Ukrainian).
- Nickel, V.V., Efremova, V.P. (2016). Age-related changes Kernogan`s index of venous vessels hollow and parenchymatous organs at stages of a postnatal ontogenesis. *Adv Gerontol*, 29(5), 732-736.
- Shulgay, A.G., Kitsak, Ya.M. (2013). Morfometricheskaya otsenka osobennostey remodelirovaniya sosudistogo rusla

---

terminalnogo otdela podvzdoshnoy kishki pri mekhanicheskoy zheltukhe. Journal of the State Medical University of Grodno, 2, 39-42 (in Russian).

Slavnov, A.A., Dolgikh, V.T. (2014) Morfologicheskie izmeneniya v stenke aorty posle krovopoteri (eksperimentalnoe issledovanie). General reanimatology, 10(4), 37-43 (in Russian).

Vishnevskaya, T.Ya. (2015). Morfofunktsionalnoe obosnovanie adaptatsionnoy plastichnosti selezenki zhivotnykh. Thesis of Doctoral Dissertation. Moscow (in Russian).

Volkov, V.P. (2015). Novyy algoritm morfometricheskoy otsenki funktsionalnoy immunomorfologii selezenki. Universum:

Medicine and pharmacology: electronic scientific journal, 5-6 (18). Retrieved from:

<http://7universum.com/ru/med/archive/item/2341>. Accessed on 30.08.2017 (in Russian).

---

**Citation:**

Dunaievska, O.F. (2017). Kernohan index for splenic vessels of cold-blooded animals. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 25–29.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0. License