

О.Б. Ханенко
Ю.І. Попович

Івано-Франківський національний медичний університет

Івано-Франківськ, Україна

Morphologia
2026;20(1):54-66

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2026.1.54-66>
Морфологія / Morphologia / Morfologiã
ISSN 1997-9665



УДК 612.017.1:616.379-008.64:616-092

ЗМІНИ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЛІМФОЦИТІВ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ

Khanenko O.B.  , Popovych Yu.I.   Changes in morphometric parameters of rat splenic lymphocytes under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus and its correction.

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine.

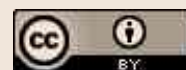
ABSTRACT. Diabetes is a complex disease that affects various organs of the body, including the immune system. The aim of the study was to determine the features of morphometric changes in splenic lymphocytes in experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus and under conditions of correction with insulin and dapagliflozin. **Methods.** In a study of 35 rats with modeled streptozotocin-induced diabetes, morphometric and cluster analyses of splenic cells were performed following correction with insulin and dapagliflozin. Using the K-means method, three statistically significant cell populations were identified, differentiated by dimensional parameters and the nucleocytoplasmic ratio. **Results.** This study examined the morphometric changes of splenic lymphocytes under experimental diabetes mellitus induced by streptozotocin, as well as its correction using insulin and dapagliflozin. Male rats were divided into groups: control, diabetes, monotherapy with insulin, and combination therapy with insulin and dapagliflozin. Spleen samples were collected on the 42nd and 56th days of the experiment. Histological sections were analyzed using morphometric methods. Cluster analysis was performed based on cell and nuclear profile area, roundness, and the major and minor diameters. Three clusters representing different morphological profiles were identified. In the control group, small cells (Cluster 0) predominated, while in rats with diabetes, the proportion of medium and large lymphocytes (Clusters 1 and 2) increased. With insulin monotherapy, the content of small cells partially recovered, and this effect was more pronounced with combination therapy using dapagliflozin. On day 56, Cluster 0 cells still predominated in the control group, while the diabetes group showed marked progression of pathological changes. **Conclusion.** The combination of dapagliflozin and insulin effectively reduces morphological changes in splenic cells.

Key words: morphometry, lymphocytes, spleen, diabetes mellitus, streptozotocin, insulin, dapagliflozin.

 Khanenko O.B. 0000-0001-5719-7121;  Popovych Yu.I. 0000-0002-2401-4699
For correspondence:  olexandrkh29@gmail.com;  yupopovych@ifnmu.edu.ua



© The Author(s) 2026. This is an open access article under the Creative Commons CC BY 4.0 license, which allows other people to freely distribute the published work with a mandatory reference to the authors of the original work and the first publication of the work in this journal.



Citation: Khanenko OB, Popovych Yu.I. [Changes in morphometric parameters of rat splenic lymphocytes under experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus and its correction]. Morphologia. 2026;20(1):54-66. Ukrainian
doi: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2026.1.54-66>

Отримано / Received: 11.11.2025

Рецензовано / Revised: 15.02.2026

Прийнято / Accepted: 20.03.2026

Опубліковано / Published: 27.03.2026

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) – це системне хронічне захворювання, яке вражає численні органи та системи організму і часто призводить до розвитку вторинних ускладнень [1-6]. Ключовою характеристикою діабету є хронічна гіперглікемія, яка супроводжується порушенням імунної відповіді [2, 5, 6].

Патологічні процеси, що лежать в основі

ускладнень ЦД, зумовлені саме тривалою гіперглікемією. Вона запускає неферментативне глікування білків та підтримує хронічне запалення низької інтенсивності в тканинах. Порушенню імунної функції також сприяє зміна рівня антиоксидантів, зокрема, зниження концентрації глутатіону [7].

Ці змінені імунні реакції, включно з оксида-

тивним стресом та дисбалансом цитокинових профілів, лежать в основі ускладнень діабету [8]. На молекулярному рівні ЦД асоціюється зі збільшенням прозапальних цитокинів, таких як фактор некрозу пухлин- α (TNF- α) та інтерлейкін-1 β (IL-1 β) [7, 9]. Сама по собі короточасна гіперглікемія здатна індукувати лімфопенію (зменшення кількості лімфоцитів), а при діабеті 1 типу тривале підвищення інтерферону типу 1 (ІФН) може викликати виснаження лімфоцитів [10, 11].

Селезінка, як один з ключових органів лімфатичної системи, відіграє центральну роль в імунитеті. Вона виконує функції фільтрації крові, депопування лімфоцитів і тромбоцитів, а також утилізації гемоглобіну зі старих еритроцитів [9]. Завдяки наявності спеціалізованих клітин (В-лімфоцитів, макрофагів, природних кілерів) селезінка є важливою ланкою як вродженої, так і адаптивної імунної відповіді [9]. З огляду на це, ЦД чинить значний вплив на селезінку, провокуючи в ній структурні зміни та функціональні порушення [9].

На даний час дослідження впливу ЦД на селезінку є доволі розрізненими, а результати - дискусійними, особливо щодо впливу медикаментозної корекції на морфометричні показники лімфоцитів селезінки.

Мета

Встановлення особливостей морфометричних показників структурних компонентів селезінки у пізньому періоді експериментального стрептозотозинного цукрового діабету та в умовах корекції інсуліном і дапагліфлозином.

Матеріали та методи

Дослідження проведене на 35 щурах-самцях, яких було розділено на групи. Інтактна група представлена щурами без будь-якого втручання. До контрольної групи належали щури, яким внутрішньоочеревинно вводили розчин 0,1 М цитратного буфера. Тваринам інших груп моделювали цукровий діабет шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотозину («Sigma», США) в дозі 60 мг/кг маси тіла, розчиненого в 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5). Після цього щури однієї з експериментальних груп отримували щоденні підшкірні ін'єкції інсуліну-гларгіну («Соліква», Sanofi-Aventis, Німеччина) у дозі 0,5–1,0 ОД/кг. Іншим тваринам вводили таку ж дозу інсуліну в комбінації з пероральним введенням дапагліфлозину в дозі 0,1 мг/кг на добу. Евтаназію проводили на 42-гу та 56-ту доби експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом для забору зразків селезінки.

Для гістологічного аналізу отримані зразки селезінки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. З фіксованого матеріалу виготовляли зрізи товщиною 5–8 мкм, які забарвлювали гематоксиліном та еозином. Подальше вивчення гістологічних препаратів та їх морфометричний аналіз здійснювали під світловим мікроскопом при збі-

льшенні $\times 1000$ з використанням програмного забезпечення ImageJ (NIH, США) [12]. Усі кількісні показники представили у вигляді середнього значення та стандартного відхилення.

Кластерний аналіз проводили методом K-means. На початковому етапі виконали загальну кластеризацію всієї вибірки для визначення співвідношення кластерів. Потім провели кластеризацію по окремих часових періодах. Для кластеризації використовували наступні параметри: площа клітини та ядра, периметр клітини та ядра, округлість ядра, ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС), а також максимальний та мінімальний діаметри для клітини та ядра. Алгоритм автоматично об'єднав у групи (кластери) клітини з найбільш схожими багатовимірними характеристиками, в результаті чого утворилися три статистично значущі та диференційовані популяції. До кластеру 0 увійшли клітини з малою площею клітини, ядра та високим ЯЦС, до кластеру 1 – клітини з проміжними розмірами, а до кластеру 2 – клітини великих розмірів з низьким ЯЦС [13].

Дослідження виконано з суворим дотриманням принципів біоетики відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986), Директиви 2010/63/EU та чинного законодавства України щодо захисту тварин від жорстокого поводження. Усі маніпуляції було спрямовано на мінімізацію страждань тварин, що підтверджується відповідністю міжнародним стандартам проведення біомедичних експериментів [14–17].

Результати

При проведенні загальної кластеризації співвідношення кластерів. Так (рис. 1) на 42-гу добу експерименту встановлено, що розвиток цукрового діабету спричиняє суттєвий перерозподіл клітинних популяцій порівняно з такими у тварин контрольної групи (рис. 1). Спостерігається різке зниження частки клітин Кластера 0 (з 42,5% до 21,3%) з одночасним значним зростанням популяції клітин Кластера 2 (з 31,2% до 42,8%). Водночас частка клітин у Кластері 1 також помітно зростає (з 26,3% до 35,9%). Застосування інсуліну у щурів з ЦДД демонструє помітний вплив на зміни вміст клітин. Це проявляється у частковому відновленні кількості клітин Кластера 0 (до 26,3%) та зменшенні частки клітин Кластера 2 (до 29,7%), що наближає їх співвідношення до показників контролю.

Комбінована корекція (інсуліном та дапагліфлозином) також виявляє ефект, подібний до дії монотерапії інсуліном, відновлюючи частку клітин Кластера 0 до 37,5% та знижуючи частку клітин Кластера 2 до 34,2%.

Кластер 0 (табл. 1) об'єднує клітини з найменшими морфометричними показниками (площі профілю ядра та клітини). Площа профілю клітини в цьому кластері для інтактної групи стано-

вить ($75,94 \pm 5,02$) μm^2 . При монокорекції інсуліном даний показник збільшувався до ($60,34 \pm 5,17$) μm^2 ($p < 0,0001$), а при комбінованій корекції — до ($61,19 \pm 5,95$) μm^2 . Площа ядра у контрольній групі становить ($59,78 \pm 2,32$) μm^2 , а у групі СЦД — ($47,32 \pm 1,79$) μm^2 ($p < 0,0001$), тоді як в інтактній групі цей показник дорівнює ($54,67 \pm 2,39$)

μm^2 . Ядра клітин цього кластера є найбільш округлими, з показником від $0,89 \pm 0,03$ ($p < 0,0001$) при СЦД до $0,87 \pm 0,03$ при корекції інсуліном та $0,92 \pm 0,03$ — інсуліном з дапагліфлозином, ($p < 0,0001$), у порівнянні в інтактних — ($0,7 \pm 0,02$) та в контролі — ($0,80 \pm 0,03$).

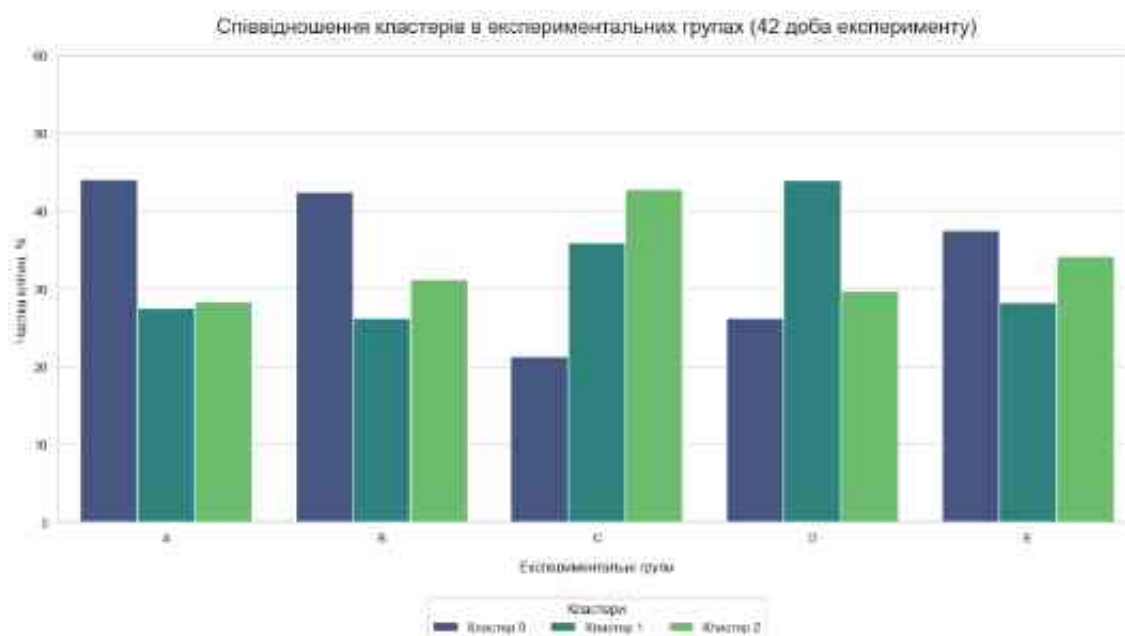


Рис. 1. Розподіл кластерів лімфоцитів селезінки щурів через 42-добу стрептозотоцинового цукрового діабету та при його корекції. Групи тварин: а – інтактна, в – контрольна, с – з стрептозотоциновим цукровим діабетом, d – з корекцією інсуліном, е – з корекцією інсуліном та дапагліфлозином.

Таблиця 1

Результати кластерного аналізу лімфоцитів селезінки щурів при стрептозотоциновому ЦД та його корекції інсуліном, а також в комбінації з дапагліфлозином. Кластер малих лімфоцитів (Кластер 0)

Період/Група	Клітина		Ядро		Діаметр ядра		Коеф. округлості ядра	Ядерно-цитоплазм. співвідношення
	Площа	Макс. діаметр	Мін. діаметр	Площа	Макс.	Мін.		
42 доба експерименту								
Корекція інсуліном	61,66 ± 5,14	8,84 ± 0,48	8,77 ± 0,38	49,52 ± 2,10	9,16 ± 0,44	7,65 ± 0,29	0,87 ± 0,03	4,40 ± 1,16
СЦД	59,86 ± 3,36	9,21 ± 0,63	8,50 ± 0,63	46,85 ± 1,76	8,59 ± 0,40	6,75 ± 0,23	0,86 ± 0,03	4,34 ± 0,99
Інтактна група	74,63 ± 5,11	9,56 ± 0,58	8,66 ± 1,76	55,03 ± 2,42	9,37 ± 0,60	5,91 ± 0,27	0,70 ± 0,02	4,44 ± 1,08
Контрольна група	73,35 ± 5,63	10,05 ± 0,76	8,91 ± 0,20	59,29 ± 2,27	8,95 ± 0,74	6,87 ± 0,33	0,80 ± 0,03	4,78 ± 0,41
Комбінована корекція	62,67 ± 5,86	9,55 ± 0,76	8,28 ± 0,18	49,55 ± 1,62	9,00 ± 0,27	7,55 ± 0,32	0,93 ± 0,03	4,15 ± 1,04
56 доба експерименту								
Корекція інсуліном	62,61 ± 5,56	8,69 ± 0,49	8,23 ± 0,45	50,39 ± 2,19	8,07 ± 0,46	6,27 ± 0,31	0,88 ± 0,03	4,68 ± 1,06
СЦД	63,31 ± 6,48	8,63 ± 0,69	8,15 ± 0,25	50,93 ± 2,40	8,45 ± 0,61	6,07 ± 0,29	0,83 ± 0,03	3,93 ± 0,73
Інтактна група	96,90 ±	11,53 ±	9,63 ±	62,62 ±	10,45 ±	7,67 ±	0,84 ± 0,04	1,80 ± 0,20

Період/Група	Клітина		Ядро		Діаметр ядра		Коеф. округлості ядра	Ядерно-цитоплазм. співвідношення
	Площа	Макс. діаметр	Мін. діаметр	Площа	Макс.	Мін.		
	4,88	0,52	0,13	1,68	0,65	0,27		
Контрольна група	100,81 ± 8,28	11,75 ± 0,71	9,62 ± 0,19	59,20 ± 2,18	10,16 ± 0,56	7,39 ± 0,29	0,86 ± 0,03	1,76 ± 0,73
Комбінована корекція	72,33 ± 5,37	10,15 ± 0,65	8,89 ± 0,21	54,19 ± 1,83	9,20 ± 0,61	7,55 ± 0,25	0,89 ± 0,04	3,15 ± 0,40

Кластер 1 (табл. 2) включає клітини проміжного розміру. Площа клітини в інтактній і контрольній групах становить відповідно (87,18±9,39) мкм² та (84,89±7,13) мкм². При монокорекції інсуліном площа клітин складає (74,48±10,42) мкм² ($p<0,001$), тоді як при комбінованій корекції відмічається результат (75,64±6,13) мкм², що ближче

до значень у інтактних щурів. Важливо, що площа ядра у тварин з монокорекцією інсуліном (58,09±4,52) мкм² не мала статистично значущої різниці з такою у інтактних щурів (58,63±2,68) мкм².

Таблиця 2
Результати кластерного аналізу лімфоцитів селезінки щурів при стрептозотоциновому ЦД та його корекції інсуліном, а також в комбінації з дапагліфлозином. Кластер малих лімфоцитів (Кластер 1).

Період/Група	Клітина		Ядро		Діаметр ядра		Коеф. округлості ядра	Ядерно-цитоплазм. співвідношення
	Площа	Макс. діаметр	Мін. діаметр	Площа	Макс.	Мін.		
42 доба експерименту								
Корекція інсуліном	74,77 ± 10,37	10,63 ± 1,23	8,79 ± 0,73	56,96 ± 4,54	10,26 ± 1,07	7,72 ± 0,31	0,86 ± 0,05	3,76 ± 1,03
СЦД	70,78 ± 4,60	10,45 ± 0,57	8,74 ± 0,38	55,19 ± 2,60	9,59 ± 0,55	7,47 ± 0,34	0,88 ± 0,03	3,46 ± 0,99
Інтактна група	86,58 ± 9,17	11,37 ± 0,45	8,60 ± 0,32	58,19 ± 2,68	10,74 ± 0,82	5,90 ± 0,23	0,67 ± 0,03	2,31 ± 0,55
Контрольна група	84,22 ± 7,21	11,45 ± 0,40	9,21 ± 0,36	60,18 ± 4,25	10,96 ± 1,54	6,30 ± 0,33	0,74 ± 0,05	2,31 ± 0,61
Комбінована корекція	75,05 ± 6,07	10,92 ± 0,76	8,75 ± 0,24	54,08 ± 3,55	8,95 ± 0,72	7,67 ± 0,33	0,94 ± 0,04	2,49 ± 0,35
56 доба експерименту								
Корекція інсуліном	79,79 ± 10,45	10,35 ± 0,48	8,82 ± 0,35	64,84 ± 3,86	10,02 ± 1,02	7,69 ± 0,30	0,83 ± 0,05	4,01 ± 0,88
СЦД	79,36 ± 8,16	11,23 ± 1,41	9,15 ± 1,81	61,76 ± 4,21	10,27 ± 1,32	7,47 ± 0,28	0,82 ± 0,05	3,82 ± 0,69
Інтактна група	117,84 ± 9,38	14,54 ± 0,68	10,53 ± 0,27	78,16 ± 4,00	13,14 ± 1,28	7,86 ± 0,34	0,78 ± 0,05	2,01 ± 0,62
Контрольна група	111,95 ± 9,99	14,80 ± 0,70	9,45 ± 0,42	77,89 ± 3,73	11,21 ± 1,04	7,79 ± 0,33	0,82 ± 0,04	2,07 ± 0,27
Комбінована корекція	80,20 ± 7,15	11,59 ± 0,52	9,32 ± 0,13	56,36 ± 4,07	9,64 ± 1,13	7,67 ± 0,32	0,89 ± 0,06	2,36 ± 0,38

Кластер 2 (табл. 3) представляє популяцію клітин з найбільшими розмірами. Їх площа складає (144,55±42,52) мкм² у інтактних щурів та (111,2±25,72) мкм² у групі СЦД ($p<0,001$). При монокорекції інсуліном (116,94±31,10) мкм², та комбінованій корекції (122,75±37,84) мкм² відмічається зменшення цього показника порівняно з

такими ж у щурів із СЦД ($p<0,001$). Почитайте уважно, що Ви пишете? Площа ядер також є найбільшою: в інтактних щурів (94,72± 15,76) мкм². Усі морфометричні показники для клітин цього кластера в експериментальних групах були статистично значущо відмінними від таких же інтактної групи ($p<0,001$).

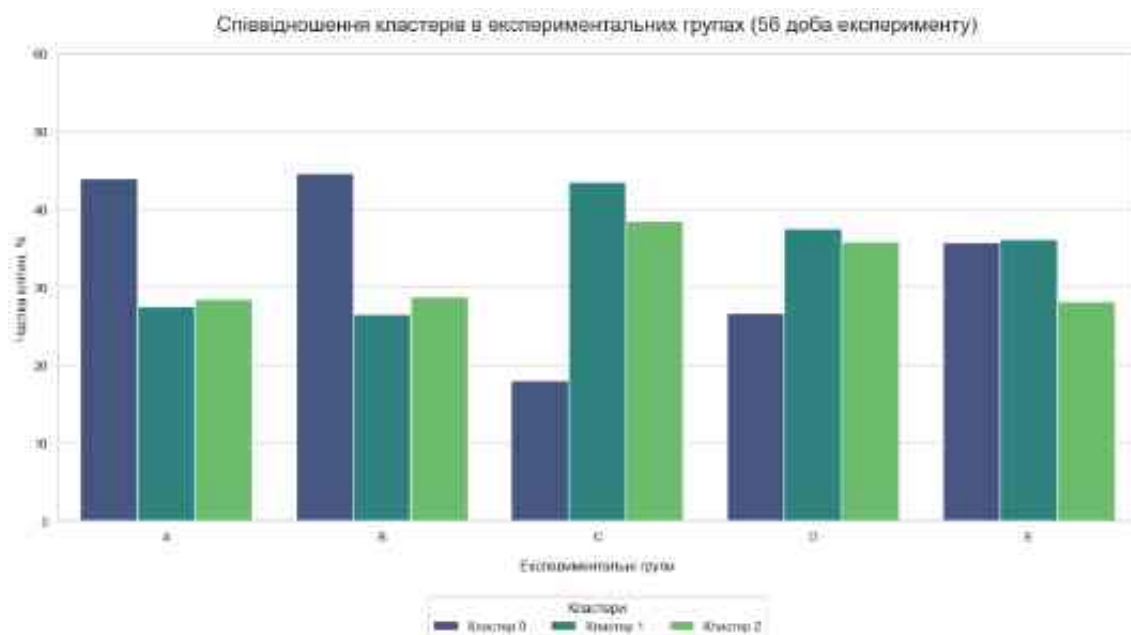


Рис. 2. Розподіл кластерів лімфоцитів селезінки щурів через 56-дб після індукції стрептозотоцинового цукрового діабету та при його корекції. Групи тварин: а – інтактна, в – контрольна, с – з стрептозотоциновим цукровим діабетом, д – з корекцією інсуліном, е – з корекцією інсуліном та дапагліфлозином.

Таблиця 3

Результати кластерного аналізу лімфоцитів селезінки щурів при стрептозотоциновому ЦД та його корекції інсуліном, а також в комбінації з дапагліфлозином. Кластер малих лімфоцитів (Кластер 3)

Період/Група	Клітина		Ядро		Діаметр ядра		Коеф. округлості ядра	Ядерно-цитоплазм. співвідношення
	Площа	Макс. діаметр	Мін. діаметр	Площа	Макс.	Мін.		
42 доба експерименту								
Корекція інсуліном	117,88 ± 30,63	14,28 ± 1,22	10,43 ± 0,40	89,04 ± 16,32	13,23 ± 2,50	8,17 ± 0,52	0,79 ± 0,06	3,16 ± 0,66
СПЦД	113,62 ± 25,04	14,61 ± 3,09	9,85 ± 0,23	80,72 ± 16,88	12,86 ± 2,75	8,39 ± 0,57	0,82 ± 0,08	2,84 ± 0,42
Інтактна група	146,40 ± 41,52	16,71 ± 4,67	10,02 ± 0,76	95,69 ± 15,65	15,35 ± 3,53	6,89 ± 0,58	0,62 ± 0,05	1,86 ± 0,50
Контрольна група	138,80 ± 37,36	15,58 ± 2,34	10,35 ± 0,28	91,56 ± 10,74	14,53 ± 1,30	5,42 ± 0,56	0,64 ± 0,05	1,89 ± 0,56
Комбінована корекція	120,73 ± 36,69	16,15 ± 2,34	9,83 ± 1,54	87,82 ± 6,34	13,56 ± 1,87	8,32 ± 0,91	0,77 ± 0,07	2,84 ± 1,14
56 доба експерименту								
Корекція інсуліном	124,64 ± 31,02	12,33 ± 3,23	10,37 ± 1,01	91,87 ± 12,60	11,41 ± 2,50	7,76 ± 0,57	0,76 ± 0,07	3,12 ± 0,68
СПЦД	122,95 ± 33,15	14,28 ± 2,91	10,35 ± 1,35	93,07 ± 10,27	13,43 ± 1,83	8,74 ± 0,72	0,71 ± 0,05	3,67 ± 0,48
Інтактна група	163,66 ± 50,84	18,41 ± 5,43	12,39 ± 2,37	120,31 ± 12,59	17,15 ± 3,58	7,55 ± 1,10	0,63 ± 0,10	1,64 ± 0,42
Контрольна група	168,30 ± 41,52	17,07 ± 2,76	12,41 ± 1,37	124,71 ± 11,29	15,54 ± 1,83	8,73 ± 0,73	0,70 ± 0,05	1,72 ± 0,43
Комбінована корекція	133,19 ± 39,54	15,79 ± 1,23	10,87 ± 0,26	96,53 ± 7,14	14,38 ± 1,19	8,70 ± 0,77	0,73 ± 0,05	2,69 ± 0,85

У щурів зі СЦД на 56-ту добу експерименту (Рис. 2.) спостерігалось подальше значне зменшення вмісту клітин Кластера 0 з 25,8% до 18,0%, збільшення частки клітин Кластера 1 (з 30,3% до 43,5%) та зменшення – Кластеру 2 (з 44,0% до 38,5%). При монокорекції інсуліном у щурів із СЦД на 56-ту добу частка клітин Кластера 0 зменшувалася до 26,7%, проти 35,2% на 42-гу добу, а домінуючими ставали клітини Кластера 1 (37,5%) та Кластера 2 (35,8%). Натомість при комбінованій корекції інсуліном з дапагліфлозином щурів з СЦД частка клітин Кластера 0 залишилася на рівні 35,7% (порівняно з 33,5% на 42-гу добу), домінуючою ставала популяція клітин Кластера 1 (36,2%), а частка Кластера 2 зменшувалася до 28,1%. Монокорекція щурів з СЦД інсуліном призводила до значного перерозподілу: частка клітин Кластера 0 знижувалася до 26,7%, натомість зростали частки Кластера 1 (37,5%) та Кластера 2 (35,8%). При комбінованій корекції інсуліном з дапагліфлозином відмічалася тенденція до нормалізації вмісту клітин: частка клітин Кластера 0 (35,7%) була нижчою, ніж в інтактній групі, однак вона була вищою, ніж у групах щурів з СЦД та монокорекцією його інсуліном. Найбільш виражені зміни спостерігалися в групі СЦД, де вміст клітин Кластера 0 значно знижувався (18,0%), а домінуючими ставали популяції Кластера 1 (43,5%) та Кластера 2 (38,5%).

У всіх експериментальних групах відмічено статистично значуще ($p < 0,001$) збільшення площі клітин порівняно з інтактною групою ($118,25 \pm 9,42$) μm^2 . Найважливішим результатом для цього кластера є нормалізація форми ядра за умов комбінованої корекції.

У клітин Кластера 2 (великі клітини). виявлено найбільш виражені морфологічні зміни. У тварин усіх експериментальних груп наявне статистично значуще ($p < 0,0001$) збільшення площі клітин та ядер порівняно з результатами інтактної групи. Площа клітини у щурів зі СЦД досягла максимального значення ($120,63 \pm 32,78$) μm^2 . При монокорекції тварин із СЦД інсуліном площа клітин стає меншою ($121,44 \pm 31,07$) μm^2 , однак залишається більшою ніж у інтактних тварин ($165,98 \pm 51,34$) μm^2 , ($p < 0,001$). На цьому тлі у щурів з комбінованою корекцією відмічена ще менша площа клітин ($131,43 \pm 39,25$) μm^2 .

Для більш точної характеристики змін, що відбуваються у клітинах використовували діаметри Ферета, на основі яких розраховували співвідношення сторін як ключового показника видовженості та деформації ядра. У Кластері 0 щурів контрольної групи клітини мали округлу форму зі співвідношенням сторін ядра 1,26. Через 42-і доби експерименту виявлялися наступні тенденції: при СЦД цей показник різко зростає до 1,59, що свідчить про форму, яка відрізняється від округлої. При монокорекції ЦД інсуліном даний показник

зменшувався у порівнянні з таким при СЦД, залишаючи співвідношення сторін на рівні 1,29, тоді як при комбінованій корекції з дапагліфлозином зменшувався до 1,20, наближаючи форму ядра до більш округлої.

Схожа динаміка спостерігається і в Кластері 1, де при СЦД деформація ядра була ще більш вираженою, а співвідношення сторін ядра сягало 1,88. При монокорекції інсуліном ядра залишались сильно видовженими, а при комбінованій – практично повністю відновлювалась нормальна округла форма ядра зі співвідношенням 1,12. Найбільш показовим виявився Кластер 2, що представляє субпопуляцію клітин великої площі профілю з великими ядрами. За умов СЦД деформація ядер досягала виражених значень. Водночас при комбінованій корекції даний показник істотно зменшувався. На 42-гу добу у групі зі СЦД відзначалося зниження ЯЦС у порівнянні з показниками інтактної та контрольної груп, особливо виражене в Кластерах 1 ($3,56 \pm 0,98$) та 2 ($2,93 \pm 0,42$). На 56-ту добу експерименту прогресуюче зниження ЯЦС у групі СЦД стає ще більш очевидним у всіх кластерах, особливо у Кластері 0 ($3,85 \pm 0,73$) та Кластері 2 ($3,57 \pm 0,48$), що може свідчити про посилення морфологічних змін. При комбінованій корекції відмічена тенденція до нормалізації показника. Так, у Кластері 0 ($3,18 \pm 0,40$) та Кластері 2 ($2,64 \pm 0,85$) значення ЯЦС наближались до показників контрольної групи ($1,78 \pm 0,73$ та $1,69 \pm 0,42$ відповідно), що демонструє більш сприятливий вплив комбінованої корекції на морфофункціональний стан клітин селезінки.

Проведений аналіз коефіцієнта форми, виявив чіткі закономірності між експериментальними групами. В інтактній та контрольній групах у клітин стабільно виявлялися високі коефіцієнти (переважно 0,80-0,97), що свідчить про збереження їхньої нормальної, округлої форми. На противагу цьому, розвиток цукрового діабету (СЦД) спричиняв прогресуюче зниження цього показника, який досягав мінімального значення 0,67 у великих лімфоцитах Кластера 2 на 56-ту добу. Монокорекція інсуліном частково зменшувала ці зміни. Найбільш ефективною виявилася комбінована корекція інсуліном з дапагліфлозином.

Обговорення

Діабет – це системне захворювання, що характеризується розвитком гіперглікемії та супроводжується дефектом імунної відповіді, значно підвищуючи схильність до інфекцій [1, 6, 18]. Дане ендокринне порушення асоціюється з низкою вторинних ускладнень з боку різних органів та систем, що, у свою чергу, пов'язано зі змінними імунними реакціями, окисативним стресом та розвитком хронічного запалення низької інтенсивності [19].

Хронічна гіперглікемія запускає процес неферментативного глікування, що призводить до утворення кінцевих продуктів глікування

(AGEs), які чинять уражаючий вплив на тканини та імунні клітини [20]. Паралельно з цим, високий рівень глюкози підтримує хронічне запалення низької інтенсивності в тканинах [21].

Ці процеси посилюються оксидативним стресом, спричиненим дисбалансом антиоксидантів, таких як глутатіон [7, 22, 23]. Крім того, діабет асоціюється зі збільшенням прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-1 β , IL-6) та активацією сигнального шляху NF- κ B [9, 24, 25].

Накопичення активних форм кисню (АФК) та продуктів перекисного окиснення ліпідів, як от малоновий діальдегід (МДА), пошкоджує тканини та прискорює розвиток судинних ускладнень [27-29].

Створене агресивне біохімічне середовище безпосередньо вражає імунні клітини, призводячи до їх пригнічення, хоча інколи це може парадоксально супроводжуватися лейкоцитозом та підвищенням кількості нейтрофілів [23, 25, 30].

При прогресуванні патології спостерігається загальна лімфопенія та їх виснаження, особливо при діабеті 1 типу, через тривалий вплив інтерферону типу 1 [6, 11, 30]. Цей процес супроводжується прискореним апоптозом (загибеллю) як Т-, так і В-клітин [31-33].

Патологічні процеси не обмежуються клітинним рівнем, а призводять до структурних змін у лімфоїдних органах, особливо в селезінці. Спостерігається її атрофія, лімфоїдне виснаження, дегенерація функціональних зон, зменшення розмірів лімфоїдних вузликів та зниження щільності розташування лімфоцитів. У тканині органа виявляють застій крові, розширення венозних синусів, відкладення амілоїдоподібного матеріалу та гемосидерину, а також масовий апоптоз та некроз лімфоцитів. Сукупність цих змін свідчить про глибоку імунологічну дисфункцію [23, 31, 34-36].

У цьому дослідженні ми застосували метод кластерного аналізу для об'єктивної оцінки морфометричних змін у клітинних популяціях селезінки в умовах СЦД та на тлі різних корегуючих стратегій.

Розвиток СЦД призводив до істотного зсуву в клітинному складі селезінки: відбулося різке зменшення частки Кластера 0 та, натомість, почали домінувати клітини Кластерів 1 і 2. Ці зміни свідчать про масову активацію імунокомпетентних клітин та розвиток запальної відповіді, що узгоджується з сучасними уявленнями про системне низькорівневе запалення як ключового компонента патогенезу діабету [37-43]. Наші результати щодо значущого збільшення розмірів клітин у всіх кластерах у групі СЦД підтверджують цю гіпотезу.

Монокорекція інсуліном на початковому етапі викликала виражений позитивний ефект. Це підкреслює ключову роль корекції гіперглікемії у зменшенні імунної активації та запалення у

селезінці. Однак цей ефект виявився не тривалим: на пізньому етапі спостереження спостерігався регрес із суттєвим зменшенням частки "спокійних" клітин Кластера 0 та одночасним зростанням популяцій великих клітин, яке спостерігалось і в інших дослідженнях [44-48]. Це може свідчити про те, що монокорекція інсуліном, хоча й ефективна для контролю глікемії, проте не здатна повністю нівелювати всі патологічні процеси, запущені діабетом, що призводить до поступового виснаження терапевтичного ефекту [49-51].

Комбінована корекція інсуліном та дапагліфлозином показала принципово інший результат. На пізньому етапі, на відміну від монокорекції, при комбінованій корекції відмічено стабілізуючий ефект. Хоча частка малих клітин залишилася низькою, ця стратегія ефективно стримувала перехід клітин у групу найбільших клітин (Кластер 2). Так, розміри клітин у Кластері 2 при комбінованій корекції були достовірно меншими, ніж у групі некоригованого діабету та навіть у групі монокорекції інсуліном, що спостерігалось в інших дослідженнях де корекція сприяла нормалізації морфології лімфоцитів [52, 53]. Це свідчить про те, що дапагліфлозин має додаткові, плейотропні ефекти, які виходять за межі контролю глікемії, зокрема відомі протизапальні та антиоксидантні властивості [54-59]. Важливим є також спостереження, що саме комбінована корекція призвела до нормалізації форми ядра у клітинах середнього розміру на пізніх етапах дослідження. Зміна форми ядра часто є маркером клітинного стресу або змін у цитоскелеті [60-66]. Відновлення нормальної морфології ядра може вказувати на більш значний цитопротекторний вплив комбінованої корекції.

Зміна площі клітини є одним із перших і найбільш очевидних проявів. Ймовірно збільшення площі може бути пояснено адаптаційним механізмом у відповідь на функціональне навантаження при хронічному запальному процесі при діабеті. Тут можливі два протилежні сценарії. З одного боку, ми спостерігаємо клітинну гіпертрофію — збільшення розміру клітини. При цьому спостерігається також зниження коефіцієнта форми клітини, що вказує на патологічну трансформацію клітин у більш амебоїдну, витягнуту форму, характерну для стану хронічного запалення та імунної активації. Цей процес часто є компенсаторною відповіддю. Однак ця адаптація має свою ціну: гіпертрофована клітина функціонує на межі своїх можливостей і стає більш вразливою до подальших ушкоджень [48, 67, 68].

Паралельно зі змінами цитоплазми відбуваються глибокі трансформації в «командному центрі» клітини — її ядрі. Площа профілю ядра також є динамічним показником. На ранніх етапах стресу або при підвищеній метаболічній активності

сті може спостерігатися каріомегалія — збільшення розміру ядра. Це пов'язано з інтенсифікацією процесів транскрипції, коли ядро намагається синтезувати необхідні для адаптації білки. Проте в умовах хронічного ушкодження, особливо під дією оксидативного стресу, що пошкоджує ДНК, ядро зазнає дегенеративних змін [69-71].

Аналіз ядерно/цитоплазматичного співвідношення у клітинах селезінки при діабеті розкриває два протилежні, але однаково руйнівні сценарії. У білій пульпі ми бачимо ймовірно ознаки значного ушкодження з тенденцією до збільшення ЯЦС на ранніх етапах, що змінюється колапсом ядра. Це ймовірно маркер імунної недостатності [72, 73].

Ключовим інтегральним показником, що об'єднує зміни в цитоплазмі та ядрі, є ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС). У здоровій диференційованій клітині цей показник відносно сталий. При цукровому діабеті його динаміка чітко відображає патологічний процес [74-77].

Коли клітина гіпертрофується (збільшується площа цитоплазми), а ядро не встигає за цим ростом, співвідношення площі ядра до площі цитоплазми зменшується. Це характерно для ранніх компенсаторних стадій. Таке зниження сигналізує про функціональне перенапруження клітини [78, 79]. У процесі атрофії об'єм цитоплазми скорочується швидше, ніж об'єм ядра, що тимчасово збільшує ЯЦС [78, 80]. Високе ЯЦС у клітинах, що вижили, може також свідчити про спробу регенерації або про дедиференціацію, що є ознакою втрати спеціалізованої функції [81, 82].

Аналіз площі профілю клітин, ядер та ЯЦС у селезінці показує два ключові руйнівні процеси при діабеті: руйнування імунних клітин та перевантаження інших клітин. Разом ці зміни можуть пояснювати, чому організм стає вразливим до інфекцій та хронічного запалення, що підтверджується іншими дослідженнями [78, 83-85].

Слід визнати, що наше дослідження має певні обмеження. Кластерний аналіз на основі морфометрії є потужним об'єктивним інструментом, але він не дозволяє провести точну імунофенотипову ідентифікацію клітин. Ми можемо лише припускати, що Кластер 0 — це переважно лімфоцити, а Кластери 1 і 2 — їх активовані форми та інші клітини. Для верифікації цих припущень необхідні подальші дослідження, що дозволить точно співвіднести морфологічні кластери з конкретними клітинними субпопуляціями. Тим не менш, проведений аналіз наочно демонструє масштаби та динаміку структурних змін у селезінці.

Підсумок

Порівняльний аналіз на 42-гу та 56-ту доби стрептозотозинного цукрового діабету дозволяє зробити висновок про різну довготривалу ефективність досліджуваних корекцій. Монокорекція інсуліном, яка демонструвала певний позитивний ефект на ранньому етапі, з часом знижує свою ефективність. Комбінована корекція інсуліном з дапагліфлозином проявляє значну ефективність. Вона не лише стримує прогресування патологічних змін, але й сприяє структурній реорганізації клітинних популяцій білої пульпи селезінки, збільшує частку клітин малого розміру та, що особливо важливо, нормалізує форму ядер.

Перспективним подальших досліджень

Більш детальне вивчення перебудови білої пульпи селезінки та вплив на цитоархітектуру лімфоцитів білої пульпи в динаміці розвитку діабету.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Інформація про фінансування

Це дослідження не отримувало спеціального гранту від жодної фінансової установи у державному, комерційному чи некомерційному секторах.

Літературні джерела References

1. Malini NDM, Abadi SA, Madihah N, Hermawan NW. The effect of ethanol extract of fruit peel jengkol (*Archidendron pauciflorum*) to spleen histological structure of streptozotocin-induced diabetic rats (*Rattus norvegicus*). *Nusantara Bioscience* . 2019a;11(2). doi: 10.13057/nusbiosci/n110208
2. Ahmad S, Faraz M, Nayab A, Fatima S, Bibi A, Rustam SA, et al. Secondary complications of diabetes 2022;1:022–34. doi: 10.57219/crrls.2022.1.1.0034.
3. Li C, Gao Q, Jiang H, Liu C, Du Y, Li L. Changes of macrophage and CD4+ T cell in inflammatory response in type 1 diabetic mice. *Scientific Reports* . 2022;12(1). doi: 10.1038/s41598-022-19031-9
4. Marks JB. Overview of diabetes mellitus, CRC Press; 2007, p. 11–26. doi: 10.3109/9780203931592-3.
5. Onyegeme-Okerenta BM, Ogboye PO, Monago-Ighorodje C. Ameliorative Effect of Aqueous Extracts of Seeds of *Delonix regia* (Hook) Raf on the Liver, Kidney and Spleen of High-fat Diet Streptozotocin-induced Diabetes in Female Wistar Rats. *European Journal of Medicinal Plants* . 2018b;25(2):1–14. doi: 10.9734/ejomp/2018/43640
6. Al-Mahmood SM, Razak TA, Abdullah ST,

Na NNF, Mohamed AH, Al-Ani IM. A comprehensive study of chronic diabetes complications in streptozotocin-induced diabetic rat. *Makara Journal of Health Research*. 2016;20(2). doi: 10.7454/msk.v20i2.5889

7. Khaled EI, Riyadh KSA. Effect of STZ-Induced diabetes on spleen of rats: improvement by camel whey proteins. *Pakistan J Zool*. 2015;4:1109–16.

8. O'Callaghan S. Diagnosing diabetes mellitus. *Physician Assistant Clinics*. 2016;2(1):1–12. doi: 10.1016/j.cpha.2016.08.003

9. Badr G, Sayed LH, Omar HEDM, El-Rahim AMA, Ahmed EA, Mahmoud MH. Camel Whey Protein Protects B and T Cells from Apoptosis by Suppressing Activating Transcription Factor-3 (ATF-3)-Mediated Oxidative Stress and Enhancing Phosphorylation of AKT and I κ B- α in Type I Diabetic Mice. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;41(1):41–54. doi: 10.1159/000455935

10. Miya A, Nakamura A, Miyoshi H, Takano Y, Sunagoya K, Hayasaka K, et al. Impact of Glucose Loading on Variations in CD4⁺ and CD8⁺ T Cells in Japanese Participants with or without Type 2 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:00081. doi: 10.3389/fendo.2018.00081

11. Badr BM, Moustafa NA, Eldien HMS, Mohamed AO, Ibrahim HM, El-Elaimy IA, et al. Increased Levels of Type 1 Interferon in a Type 1 Diabetic Mouse Model Induce the Elimination of B Cells from the Periphery by Apoptosis and Increase their Retention in the Spleen. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015;35(1):137–47. doi: 10.1159/000369682

12. Palmer MV V, Cheville NF F, Tatum FM, Ames IA. Morphometric and Histopathologic Analysis of Lymphoid Depletion in Murine Spleens Following Infection with *Brucella abortus* strains 2308 or RB51 or an htrA Deletion Mutant. *Vet Pathol*. 1996;33:282–9.

13. Reddy CK, Al Hasan M, Zaki MJ. Clustering biological data. *Data Clustering: Algorithms and Applications*. 381–405.

14. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg: Council of Europe. 1986;123:52. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>.

15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. *Off J Eur Union*. 2010;53(L276):33–79. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>

16. Marinou KA, Dontas IA. European Union Legislation for the Welfare of Animals Used for Scientific Purposes: Areas Identified for Further Discussion. *Animals*. 2023;13(14):2367–7. doi: 10.3390/ani13142367.

17. Law of Ukraine. Pro zakhyst tvaryn vid

zhorstokogo povodzhennia [Law of Ukraine. On the protection of animals from cruelty]. *Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy*. 2006;27:230. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>

18. Kolling J, Kolling J, De Franceschi ID, Nishihira VSK, Baldissera MD, Pinto CG, et al. Resveratrol and resveratrol-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex recovered the changes of creatine kinase and Na⁺, K⁺-ATPase activities found in the spleen from streptozotocin-induced diabetic rats. *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*. 2019;91(3). doi: 10.1590/0001-3765201920181330

19. Mordes JP, Desemone J, Rossini AA. The BB rat. *Diabetes/Metabolism Reviews*. 1987;3(3):725–50. doi: 10.1002/dmr.5610030307

20. Xue J, Rai V, Singer D, Chabierski S, Xie J, Reverdatto S, Burz DS, Schmidt AM, Hoffmann R, Shekhtman A. Advanced glycation end product recognition by the receptor for AGEs. *Structure*. 2011;19:722–32.

21. Watanabe S, Fujii H, Kono K, Watanabe K, Goto S, Nishi S. Influence of oxidative stress on vascular calcification in the setting of coexisting chronic kidney disease and diabetes mellitus. *Scientific Reports*. 2020;10(1). doi: 10.1038/s41598-020-76838-0

22. Sharmen F, Rahman MdA, Ahmed AMA, Siddique TA, Rafi MdKJ, Tangpong J. Upregulation of Antioxidative Gene Expression by Lasia spinosa Organic Extract Improves the Predisposing Biomarkers and Tissue Architectures in Streptozotocin-Induced Diabetic Models of Long Evans Rats. *Antioxidants*. 2022;11(12):2398. doi: 10.3390/antiox11122398

23. Zhang K, Qi JX, Li YY, Gao HS, Shao XY, Su CY, et al. Antioxidative and immunological effects of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides on the spleen injury of diabetic rat. 2021;41(5):739–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34708632>

24. Sutradhar S, Deb A, Singh SS. Effect of melatonin and insulin on oxidative stress in spleen, impairment of adherent leukocytes activity and inflammatory response in LPs treated diabetic mice. *Research Square*. 2021;20:375834. doi: 10.21203/rs.3.rs-375834/v1

25. Ozkanlar S, Kara A, Sengul E, Simsek N, Karadeniz A, Kurt N. Melatonin modulates the immune system response and inflammation in diabetic rats Experimentally-Induced by Alloxan. *Hormone and Metabolic Research*. 2015;48(02):137–44. doi: 10.1055/s-0035-1548937

26. Watanabe S, Fujii H, Kono K, Watanabe K, Goto S, Nishi S. Influence of oxidative stress on vascular calcification in the setting of coexisting chronic kidney disease and diabetes mellitus. *Scientific Reports*. 2020b;10(1). doi: 10.1038/s41598-020-76838-0

27. Ranjbar A, Kheiripour N, Ghasemi H, Seif Rabiei MA, Dadras F, Khoshjou F. Antioxidative ef-

fects of tempol on mitochondrial dysfunction in diabetic nephropathy. *Iran J Kidney Dis*. 2018;12(2):84–90.

28. Zhang Z, Huang Q, Zhao D, Lian F, Li X, Qi W. The impact of oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14:1112363. doi: 10.3389/fendo.2023.1112363

29. Lahnwong C, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Potential mechanisms responsible for cardioprotective effects of sodium–glucose co-transporter 2 inhibitors. *Cardiovascular Diabetology*. 2018;17(1). doi: 10.1186/s12933-018-0745-5

30. Thimmappa PY, Vasishtha S, Ganesh K, Nair AS, Joshi MB. Neutrophil (dys)function due to altered immuno-metabolic axis in type 2 diabetes: implications in combating infections. *Human Cell*. 2023;36(4):1265–82. doi: 10.1007/s13577-023-00905-7

31. Alblihd MA, Alsharif KF, Hamad AA, Ali FAZ, Hussein MT, Alhegaili AS, et al. Okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] improved blood glucose and restored histopathological alterations in splenic tissues in a rat model with streptozotocin-induced type 1 diabetes through CD8+ T cells and NF- κ B expression. *Frontiers in Veterinary Science*. 2023;10:1268968. doi: 10.3389/fvets.2023.1268968

32. Shehata YM, Mansour MF, Shadad S, Arisha AH. Effect of Curcumin-Magnesium oxide nanoparticles conjugate in Type-II diabetic rats. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2020;8(1s). doi: 10.17582/journal.aavs/2020/8.s1.26.33

33. Badr G, Sayed LH, Omar HEDM, El-Rahim AMA, Ahmed EA, Mahmoud MH. Camel Whey Protein Protects B and T Cells from Apoptosis by Suppressing Activating Transcription Factor-3 (ATF-3)-Mediated Oxidative Stress and Enhancing Phosphorylation of AKT and I κ B- α in Type I Diabetic Mice. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017b;41(1):41–54. doi: 10.1159/000455935.

34. Bakir B. The Immunomodulatory Effects of Ginger (*Zingiber officinale*) Extract on CD4 and CD8 Expression in Spleen of Diabetic Rats. *Namik Kemal Tıp Dergisi*. 2023;11(1):35–41. doi: 10.4274/nkmj.galenos.2023.25991

35. Malini DM, Ratningsih N, Hananti L, Madihah M, Hermawan W. Hematological Profile and Spleen Histology Improvement in Diabetic Rats Treated with PLGA Nanoparticles-Ethanol Extract of Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Fruit Peel. *Biotropika Journal of Tropical Biology*. 2022;10(3):161–7. doi: 10.21776/ub.biotropika.2022.010.03.01

36. Vecchione A, Jofra T, Gerosa J, Shankwitz K, Di Fonte R, Galvani G, et al. Reduced follicular regulatory T cells in spleen and pancreatic lymph nodes of patients with Type 1 diabetes. *Diabetes*. 2021;70(12):2892–902. doi: 10.2337/db21-0091

37. Wang HW, Tang J, Sun L, Li Z, Deng M,

Dai Z. Mechanism of immune attack in the progression of obesity-related type 2 diabetes. *World Journal of Diabetes*. 2023;14(5):494–511. doi: 10.4239/wjd.v14.i5.494

38. Lim S, Sarkar S, Ahima RS. Inflammation and diabetes mellitus. In: *Contemporary Endocrinology*. 2023. p. 55–77. doi: 10.1007/978-3-031-39721-9_3

39. Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(3):813–23. doi: 10.2337/diicare.27.3.813

40. Trojanowska P, Chrościńska-Krawczyk M, Trojanowska A, Tywanek E, Wronecki J, Łuczyk RJ. The role of selected mechanisms of innate immunity in the pathogenesis of diabetes. *Journal of Education Health and Sport*. 2021;11(9):544–9. doi: 10.12775/jehs.2021.11.09.071

41. Zhong J, Gong Q, Mima A. Inflammatory regulation in diabetes and metabolic dysfunction. *Journal of Diabetes Research*. 2017;2017:1–2. doi: 10.1155/2017/5165268

42. Virella G, Lopes-Virella MF. The role of the immune system in the pathogenesis of diabetic complications. *Frontiers in Endocrinology*. 2014;5. doi: 10.3389/fendo.2014.00126

43. Rüdiger T, Hartmann M, Müller-Hermelink HK, Marx A. Inflammatory reactions of the spleen. *Pathology*. 2008;29(2):121–8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18214487/>

44. Vecchione A, Jofra T, Gerosa J, Shankwitz K, Di Fonte R, Galvani G, et al. Reduced follicular regulatory T cells in spleen and pancreatic lymph nodes of patients with Type 1 diabetes. *Diabetes*. 2021;70(12):2892–902. doi: 10.2337/db21-0091

45. Salybekov AA, Hassanpour M, Tashov K, Salybekova A, Sheng Y, Shinozaki Y, et al. Abstract 16084: Impairment of Cardio-Spleno-Bone marrow axis following myocardial infarction in diabetes mellitus. *Circulation*. 2023;148(1). doi: 10.1161/circ.148.suppl_1.16084

46. Salybekov AA, Tashov K, Sheng Y, Salybekova A, Shinozaki Y, Asahara T, et al. Cardioimmunology in Health and Diseases: Impairment of the Cardio-Spleno-Bone marrow axis following myocardial infarction in diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(21):11833. doi: 10.3390/ijms252111833

47. Atef Y, Ito T, Masuda A, Kato Y, Nishimura A, Kanda Y, et al. Diabetic Mice Spleen Vulnerability Contributes to Decreased Persistence of Antibody Production after SARS-CoV-2 Vaccine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(19):10379. doi: 10.3390/ijms251910379

48. Hanchang W, Wongmanee N, Yoopum S, Rojanaverawong W. Protective role of hesperidin against diabetes induced spleen damage: Mechanism associated with oxidative stress and inflammation. *Journal of Food Biochemistry*. 2022;46(12). doi: 10.1111/jfbc.14444

49. Zhang X, Qiu W, Huang J, Pang X, Su Y, Ye J, et al. Insulin combined with N-acetylcysteine attenuates type 1 diabetes-induced splenic inflammatory injury in canines by inhibiting the MAPKs-NF- κ B signaling pathway and pyroptosis. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 2024;38(9):108805. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2024.108805
50. Padhi S, Nayak AK, Behera A. Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;131:110708. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110708
51. Ng ML, Wadham C, Sukocheva OA. The role of sphingolipid signalling in diabetes-associated pathologies (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2017;39(2):243–52. doi: 10.3892/ijmm.2017.2855
52. Baş S, Türkmen FM. Changes in neutrophil-to-lymphocyte ratio following treatment with dapagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Gulhane Medical Journal*. 2022;64(3):217–21. doi: 10.4274/gulhane.galenos.2021.40427
53. Uzeli ÜS, Doğan M. The effects of Dapagliflozin on monocyte-HDL ratio and neutrophil-lymphocyte ratio among patients with type-2 diabetes mellitus. 2023;27(21):10577–82. doi: 10.26355/eurev_202311_34337
54. El-Fattah EEA, Saber S, Mourad AAE, El-Ahwany E, Amin NA, Cavalu S, et al. The dynamic interplay between AMPK/NF κ B signaling and NLRP3 is a new therapeutic target in inflammation: Emerging role of dapagliflozin in overcoming lipopolysaccharide-mediated lung injury. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;147:112628. doi: 10.1016/j.biopha.2022.112628
55. Hazem RM, Ibrahim AZ, Ali DA, Moustafa YM. Dapagliflozin improves steatohepatitis in diabetic rats via inhibition of oxidative stress and inflammation. *International Immunopharmacology*. 2022;104:108503. doi: 10.1016/j.intimp.2021.108503
56. Abdel-Wahab BA, El-Shoura EAM, Habeeb MS, Zaafar D. Dapagliflozin alleviates arsenic trioxide-induced hepatic injury in rats via modulating PI3K/Akt/mTOR, STAT3/SOCS3/p53/MDM2 signaling pathways and miRNA-21, miRNA-122 expression. *International Immunopharmacology*. 2023;127:111325. doi: 10.1016/j.intimp.2023.111325
57. Abdollahi E, Keyhanfar F, Delbandi AA, Falak R, Hajimiresmaei SJ, Shafiei M. Dapagliflozin exerts anti-inflammatory effects via inhibition of LPS-induced TLR-4 overexpression and NF- κ B activation in human endothelial cells and differentiated macrophages. *European Journal of Pharmacology*. 2022;918:174715. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174715
58. Faridvand Y, Kazemzadeh H, Vahedian V, Mirzajanzadeh P, Nejabati HR, Safaie N, et al. Dapagliflozin attenuates high glucose-induced endothelial cell apoptosis and inflammation through AMPK/SIRT1 activation. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2022;49(6):643–51. doi: 10.1111/1440-1681.13638
59. Urbanek K, Cappetta D, Bellocchio G, Coppola MA, Imbrici P, Telesca M, et al. Dapagliflozin protects the kidney in a non-diabetic model of cardiorenal syndrome. *Pharmacological Research*. 2023;188:106659. doi: 10.1016/j.phrs.2023.106659
60. Alisafaei F, Jokhun DS, Shivashankar GV, Shenoy VB. Regulation of nuclear architecture, mechanics, and nucleocytoplasmic shuttling of epigenetic factors by cell geometric constraints. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019;116(27):13200–9. doi: 10.1073/pnas.1902035116
61. Martinovic T, Ciric D, Pantic I, Lalic K, Rasulic I, Despotovic S, et al. Unusual shape and structure of lymphocyte nuclei is linked to hyperglycemia in type 2 diabetes patients. *Tissue and Cell*. 2018;52:92–100. doi: 10.1016/j.tice.2018.04.005
62. Karthik Mahesh, Manoj M Varma, Prosenjit Sen, "A novel impedance sensing approach for precise electromechanical characterization of cells", *Journal of Micromechanics and Microengineering*. 2019;29(11):115001. doi: 10.1088/1361-6439/ab38fc
63. Parvanehpour N, Shojaei S, Khorramymehr S, Goodarzi V, Hejazi F, Rezaei VF. Diabetes can change the viscoelastic properties of lymphocytes. *Progress in Biomaterials*. 2018;7(3):219–24. doi: 10.1007/s40204-018-0096-z
64. Ghosh S, Chowdhury S, Sarkar P, Sil PC. Ameliorative role of ferulic acid against diabetes associated oxidative stress induced spleen damage. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;118:272–86. doi: 10.1016/j.fct.2018.05.029
65. Alblihd MA, Alsharif KF, Hamad AA, Ali FAZ, Hussein MT, Alhegaili AS, et al. Okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] improved blood glucose and restored histopathological alterations in splenic tissues in a rat model with streptozotocin-induced type 1 diabetes through CD8⁺ T cells and NF- κ B expression. *Frontiers in Veterinary Science*. 2023;10. doi: 10.3389/fvets.2023.1268968
66. Record J, Saeed MB, Venit T, Percipalle P, Westerberg LS. Journey to the center of the cell: cytoplasmic and nuclear actin in immune cell functions. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;9. doi: 10.3389/fcell.2021.682294
67. Pietri H, Assadourian R, Bourde J, Varette I. Compensatory hypertrophy of the rabbit spleen following partial ligation of its blood supply. *Journal of Surgical Research*. 1971;11(12):594–602. doi: 10.1016/0022-4804(71)90075-8
68. Tamori Y, Deng WM. Compensatory cellular hypertrophy: the other strategy for tissue homeostasis. *Trends in Cell Biology*. 2013;24(4):230–7. doi: 10.1016/j.tcb.2013.10.005

69. Li C, Gao Q, Jiang H, Liu C, Du Y, Li L. Changes of macrophage and CD4+ T cell in inflammatory response in type 1 diabetic mice. *Scientific Reports*. 2022;12(1). doi: 10.1038/s41598-022-19031-
70. Zhang P, Li T, Wu X, Nice EC, Huang C, Zhang Y. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Frontiers of Medicine*. 2020;14(5):583–600. doi: 10.1007/s11684-019-0729-1
71. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, et al. Oxidative Stress in Human Pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells*. 2022;11(3):552. doi: 10.3390/cells11030552
72. Eid N a. S, Ito Y, Li Z, Abe H, Kusakabe K, Shibata MA, et al. The relationship between apoptosis and splenocyte depletion in rats following ethanol treatment. *Medical Electron Microscopy*. 2000;33(2):89–95. doi: 10.1007/s007950070007
73. Alberti S, Spadella CT, Francischone TRCG, Assis GF, Cestari TM, Taveira L a. A. Exfoliative cytology of the oral mucosa in type II diabetic patients: morphology and cytomorphometry. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 2003;32(9):538–43. doi: 10.1034/j.1600-0714.2003.00162.x
74. Kumar HN, Divya B, Kumar AR, Narayan M, Vasanthi V, Ramadoss R, et al. Comparative Evaluation of Buccal Exfoliated Cells in Individuals with Diabetes Mellitus and Healthy Controls: A Cytomorphometric Analysis. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*. 2023;11(3):185–9. doi: 10.4103/jmau.jmau_82_22
75. Keerthika R, Chandra A, Khairnar M, Jain T, Singh N, Agrawal R. Diagnostic Utility of cytomorphometric evaluation of exfoliated oral mucosal cells in Type II diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2024;76(4):2948–61. doi: 10.1007/s12070-024-04601-2
76. Sahu M, Suryawanshi H, Nayak S, Kumar P. Cytomorphometric analysis of gingival epithelium and buccal mucosa cells in type 2 diabetes mellitus patients. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2017;21(2):224. doi: 10.4103/jomfp.jomfp_152_16
77. Keerthika R, Chandra A, Khairnar M, Jain T, Singh N, Agrawal R. Diagnostic Utility of cytomorphometric evaluation of exfoliated oral mucosal cells in Type II diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2024b;76(4):2948–61. doi: 10.1007/s12070-024-04601-2
78. Balachandra S, Sarkar S, Amodeo AA. The Nuclear-to-Cytoplasmic ratio: coupling DNA content to cell size, cell cycle, and biosynthetic capacity. *Annual Review of Genetics*. 2022;56(1):165–85. doi: 10.1146/annurev-genet-080320-030537
79. Čukuranović-Kokoris J, Marković-Filipović J, Djordjević M, Kundalić B, Stojanović V, Trandafilović M, et al. Correlation analysis of pituitary luteinizing and somatotrophic cells in male cadavers during aging. *Acta Medica Mediana*. 2024;63(01):90–6. doi: 10.5633/amm.2024.0110
80. Bairwa NK, Shoket H, Pandita M, Sharma M. An Assay for Apoptosis detection based on Quantification of Multi nuclei feature and Nucleus to Cytoplasm ratio in *S. cerevisiae* cells treated with Acetic Acid and Hydrogen peroxide. *bioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*. 2020. doi: 10.1101/2020.03.11.987024
81. Zhao A, Yang L, Ma K, Sun M, Li L, Huang J, et al. Overexpression of cyclin D1 induces the reprogramming of differentiated epidermal cells into stem cell-like cells. *Cell Cycle*. 2016;15(5):644–53. doi: 10.1080/15384101.2016.1146838
82. Candelaria AG, Murray G, File SK, García-Arrarás JE. Contribution of mesenteric muscle dedifferentiation to intestine regeneration in the sea cucumber *Holothuria glaberrima*. *Cell and Tissue Research*. 2006;325(1):55–65. doi: 10.1007/s00441-006-0170-z
83. Salybekov AA, Tashov K, Sheng Y, Salybekova A, Shinozaki Y, Asahara T, et al. Cardioimmunology in Health and Diseases: Impairment of the Cardio-Spleno-Bone marrow axis following myocardial infarction in diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(21):11833. doi: 10.3390/ijms252111833
84. Salybekov AA, Hassanpour M, Tashov K, Salybekova A, Sheng Y, Shinozaki Y, et al. Abstract 16084: Impairment of Cardio-Spleno-Bone marrow axis following myocardial infarction in diabetes mellitus. *Circulation*. 2023b;148(1). doi: 10.1161/circ.148.suppl_1.16084
85. Almutairi SM. Metabolic impairment of natural killer cells in Type 2 diabetes (T2D) individuals: a Double-Edged Sword elevating susceptibility to infections and cancer. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 2024;21(2):633–44. doi: 10.13005/bbra/3252

Ханенко О.Б., Попович Ю.І. Зміни морфометричних показників лімфоцитів селезінки щурів в умовах експериментального стрептозототинового цукрового діабету та його корекції.

Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна.

РЕФЕРАТ. Діабет – це складне захворювання, яке впливає на різні органи організму, в тому числі і на імунну систему. **Мета** дослідження: встановлення особливостей морфометричних змін лімфоцитів селезінки щурів при експериментальному стрептозототиновому цукровому діабеті та в умовах корекції інсуліном і дапагліфлозином. **Методи.** У дослідженні на 35 щурах із модельованим стрептозототиновим діабетом проведено морфометричний та кластерний аналіз клітин селезінки на фоні корекції інсуліном і

дапагліфлозином. За допомогою методу K-mean виділено три статистично значущі популяції клітин, диференційовані за розмірними параметрами та ядерно-цитоплазматичним співвідношенням. **Результати.** У цьому дослідженні вивчали морфометричні зміни лімфоцитів селезінки за умов експериментального цукрового діабету, індукованого стрептозотоцином, а також його корекції за допомогою інсуліну та дапагліфлозину. Самців щурів розподілили на групи: контрольну, діабету, монокорекції інсуліном та комбінованої корекції інсуліном із дапагліфлозином. Зразки селезінки відбирали на 42-й та 56-й дні експерименту. Гістологічні зрізи аналізували методом морфометрії. Кластерний аналіз здійснювали на основі площі профілю клітини та ядра, округлості, великого та малого діаметрів. Виявлено три кластери, що представляють різні морфологічні профілі. У контрольній групі переважали малі клітини (Кластер 0), тоді як у щурів з цукровим діабетом зростала частка лімфоцитів середнього і великого розмірів (Кластери 1 та 2). При монокорекції інсуліном частково відновлювався вміст малих клітин, більш виражений при комбінованій корекції з дапагліфлозином. На 56-й день у контрольній групі зберігалось переважання клітин Кластера 0, у групі діабету відзначалося виражене прогресування патологічних змін. **Підсумок.** Комбінація дапагліфлозину та інсуліну ефективно зменшує морфологічні зміни в клітинах селезінки.

Ключові слова: морфометрія, лімфоцити, селезінка, цукровий діабет, стрептозотозин, інсулін, дапагліфлозин.