

УДК 616-002-008.953-092; 616.831;571.27  
DOI: 10.17721/1728.2748.2023.94.28-34

Анастасія НЕФЬОДОВА<sup>1</sup>, асп.  
ORCID ID: 0000-0003-3440-3687  
e-mail: nefodova.av@gmail.com

Марія РУДИК<sup>1</sup>, канд. біол. наук  
ORCID ID: 0000-0003-1252-885X  
e-mail: rudyk\_marie@knu.ua

Роман ДОВГИЙ<sup>1</sup>, канд. біол. наук  
ORCID ID: 0000-0003-1189-4479  
e-mail: romandovgiy@gmail.com

Лариса СКИВКА<sup>1</sup>, д-р біол. наук, проф.  
ORCID ID: 0000-0002-2171-1085  
e-mail: realmed@ukr.net

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## ПОПУЛЯЦІЙНИЙ СКЛАД ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ЩУРІВ З РІЗНИМИ МОДЕЛЯМИ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

**Вступ.** Системне запалення визнано однією з основних ознак хвороби Альцгеймера (ХА) – нейродегенеративного розладу, що характеризується зниженням когнітивних функцій, прогресуючою втратою пам'яті та вражає мільйони людей переважно похилого віку. Літературні дані останніх років свідчать про участь периферичних імунних клітин в ініціюванні та прогресуванні захворювання. Проте популяційний склад лейкоцитів у периферичній крові та його вплив на прогресування захворювання залишаються не до кінця вивченими. Використання тваринних моделей має важливе значення для дослідження потенційних механізмів, що лежать в основі зв'язку між периферичною імунною системою та запальними процесами, що лежать в основі нейродегенерації. Метою дослідження було порівняльне оцінювання популяційного складу лейкоцитів у щурів з ХА, індукованою інтрагіпокампарним введенням бета-амілоїду (Аβ) 1–40 та бета-амілоїду 25–35. У дослідженні використовували самців щурів лінії Wistar.

**Методи.** Як контроль використовували інтактних і псевдооперованих тварин. Розвиток захворювання підтверджували оцінюванням когнітивних порушень у поведінковому тесті лабіринт Барнса, а також рівня загибелі дофамінергічних нейронів (ДА). Показники гемограми досліджували на момент завершення експерименту (37 день). Оцінювали абсолютну кількість лейкоцитів, а також абсолютну та відносну кількість лімфоцитів, моноцитів і нейтрофілів.

**Результати.** У тварин з Аβ 1–40-індукованою ХА зареєстровано гранулоцитоз (збільшення абсолютної кількості циркулюючих гранулоцитів у 5 разів). Показники абсолютної і відносної кількості лімфоцитів у цих тварин були знижені порівняно з аналогічними показниками в групах інтактних та хібно оперованих щурів, у середньому в 2,5 раза, показники моноцитів – у середньому в 3 рази. У щурів з Аβ 25–35-індукованою ХА виявлено лейкоцитоз із незначним зменшенням частки лімфоцитів, збільшенням частки моноцитів, у середньому в 2 рази і відсутністю змін у кількості нейтрофілів.

**Висновки.** У тварин з Аβ 1–40-індукованою ХА виявлено гематологічні маркери системного запалення (лейкоцитоз, нейтрофілія, лімфоцитопенія, моноцитопенія). Отримані дані вказують на те, що Аβ 1–40-індукована модель ХА більш адекватно відтворює гематологічні ознаки системного запалення, характерні для пацієнтів з цією патологією.

**Ключові слова:** хвороба Альцгеймера, лейкоцити, запалення, лімфоцити, моноцити, нейтрофіли.

### Вступ

В останні роки демографічна ситуація у високорозвинутих країнах світу рухається в бік старіння населення. Хвороба Альцгеймера є одним із найбільш часто діагностованих випадків нейродегенеративних захворювань людей похилого віку у світі (Alzheimer's Association, 2023). Зараз у світі близько 55 млн людей страждають на ХА, і ця кількість подвоюється кожні 5 років (Twarowski, & Herbert 2023). Передбачається, що до 2050 року кількість хворих зросте приблизно до 152 млн, при цьому найбільше зростання очікується в країнах, що розвиваються (Twarowski, & Herbert 2023). ХА характеризується специфічними патологічними змінами в головному мозку, включаючи накопичення бляшок аномально згорнутого амілоїду-бета (Аβ) та білка Тау, що призводить до дегенерації та загибелі нервових клітин (Villabona-Rueda et al., 2019). Вважається, що системне запалення є невід'ємним компонентом патології ХА (Xie, Van Hoecke, & Vandenbroucke, 2022). За умов тривалого навантаження на імунну систему системне запалення набуває хронічного характеру, підвищуючи ризик розвитку і прогресування ХА. Лейкоцити є основними ефекторами як локального, так і системного запалення (Abbas et al., 2020). Літературні дані вказують на те, що

системне запалення супроводжується виробленням медіаторів, які можуть порушити гематоенцефалічний бар'єр і спровокувати патологію Альцгеймера. Медіатори локального нейрозапалення, яке є типовим для перебігу ХА, у свою чергу, можуть потрапляти в периферичну циркуляцію через послаблений гемато-енцефалічний бар'єр і спричиняти прозапальну активацію циркулюючих лейкоцитів. У такий спосіб формується порочне коло, яке сприяє ініціації і прогресуванню хвороби (Pérez et al., 2021). Точні механізми, що лежать в основі розвитку системного запалення та імунної дисфункції як індукторів нейродегенеративного процесу, залишаються предметом активних дискусій та суперечок.

Лейкограма, яка передбачає оцінювання популяції лейкоцитів (лейкоцитів) та їх субпопуляцій, відіграє вирішальну роль у розумінні імунної відповіді та запальних процесів, пов'язаних з патофізіологією ХА (Garfias et al., 2022). Підвищення загальної кількості лейкоцитів, відоме як лейкоцитоз, зазвичай спостерігається під час системного запалення та вказує на активну імунну відповідь (Saresella, 2020). Диференційний підрахунок лейкоцитів дає змогу краще зрозуміти специфічні зміни в клітинних популяціях, такі як гранулоцитоз (підвищена

кількість гранулоцитів), або моноцитоз (підвищена кількість моноцитів), що може допомогти оцінити тяжкість і прогнозувати прогресування запального процесу (Bennett, 2016).

Численні літературні дані засвідчують, що лейкоцитоз з нейтрофілією за зниженням відносної кількості лімфоцитів всіх популяцій є типовими маркерами прогресуючої ХА й асоціюються з прогресивними когнітивними порушеннями (Unda et al., 2021). Деякі дослідження повідомляють про зниження кількості периферичних нейтрофілів у осіб з ХА порівняно зі здоровими донорами (Huang et al., 2022; D'Andrea, 2016). Посилена міграція та інфільтрація моноцитів у мозок, де вони сприяють нейрозапаленню та очищенню бляшок амілоїду- $\beta$ , може призводити до зменшення кількості циркулюючих моноцитів на периферії (Butovsky, & Weiner, 2018). Зменшення кількості лейкоцитів, що спостерігається при ХА, може відображати порушення рекрутування імунних клітин або зміни в кістковому мозку чи лімфоїдних органах, що призводить до ослаблення імунної відповіді в цілому (Fricker, Ott, & Mahringer 2014). Проте всі автори однастайні в тому, що зміни популяційного складу лейкоцитів в умовах розвитку ХА, включаючи як підвищення, так і зниження певних популяцій, відображають дисрегуляцію імунної системи і відіграють вирішальну роль у патогенезі нейрозапалення та потребують більш ретельного дослідження.

Тваринні моделі дозволяють відтворити основні ознаки ХА, у т. ч., дослідити роль периферичних лейкоцитів у прогресуванні захворювання та отримати уявлення про дисрегуляцію імунітету, асоційовану з розвитком хвороби (Lehmann et al., 2020). Для моделювання ХА зазвичай використовуються генетичні та інтервенційні моделі (Yokoama et al., 2022). Останні засновані на інтрацеребральному введенні бета-амілоїдів. Порівняльне оцінювання відтворення порушень лейкоцитарної формули крові, які є відображенням системного запального процесу, є важливим елементом характеристики їхньої адекватності для дослідження запалення як важливого компонента патофізіології та патогенезу ХА. Для дослідження ми обрали найбільш часто застосовували інтервенційні моделі ХА, засновані на інтрацеребральній інфузії А $\beta$  1–40 та моно/олігомерної форми А $\beta$  25–35 людини. Модель А $\beta$ 1–40 передбачає накопичення пептидів А $\beta$ 1–40, відтворює бета-амілоїдну патологію, що спостерігається у ході клінічного перебігу ХА. Ця модель дозволяє дослідникам вивчати вплив накопичення А $\beta$  на різні аспекти патології захворювання, включаючи його вплив на профіль периферичних лейкоцитів (Zeiss, 2015).

Згідно з літературними даними А $\beta$ 25–35 демонструє токсичні властивості подібно до повнорозмірного бета-амілоїдного білка. Проте А $\beta$ 1–40 більш схильний до агрегації та утворення амілоїдних бляшок порівняно з А $\beta$ 25–35. Обидві моделі відтворюють когнітивні порушення та нейрозапальні реакції, типові для клінічного перебігу ХА (Zambrano et al., 2021). Дані стосовно гематологічних маркерів системного запалення у тварин з інтервенційними моделями ХА в літературі нечисленні (Akhtar et al., 2022).

Імунну відповідь на моделі щурів з AD досліджували (Xie et al., 2013) і виявили збільшення загальної кількості лейкоцитів, включаючи лімфоцити, нейтрофіли та моноцити у периферичній крові (Xie, et al., 2022).

Помічено збільшення частки активованих моноцитів у периферичній крові, що мають посилений прозапальний фенотип і здатність проникати в мозок, долаючи гематоенцефалічний бар'єр і сприяючи розвитку нейрозапалення та нейродегенерації (Huang, 2021). У дос-

лідженні (Wu et al., 2019) підвищений рівень циркулюючих нейтрофілів спостерігався на моделі ХА щурів, що свідчить про їхній потенціал як периферичного біомаркера розвитку хвороби.

**Метою** дослідження було провести порівняльне оцінювання популяційного складу лейкоцитів у щурів з ХА, індукованою інтрагіпокампульним введенням бета-амілоїду (А $\beta$ ) 1–40 та бета-амілоїду 25–35.

#### Методи

Дослідження проводили на самцях щурів лінії Вістар віком 14 міс. (300–500 г) розведення віварію Навчально-наукового центру "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Тварин утримували в стандартних умовах з доступом до води та їжі *ad libitum*. Протокол утримання тварин був затверджений Комітетом з біоетики університету відповідно до вказівок Закону про захист тварин. Усі дослідження на тваринах проводилися відповідно до норм, встановлених Законом України № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження", а також відповідно до стандартів Конвенції з біоетики Ради Європи "Європейська конвенція для захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (1997), загальних етичних принципів роботи з дослідними тваринами, затверджених Першим національним конгресом з біоетики України (вересень 2001 р.) та іншими міжнародними угодами та національним законодавством у цій галузі. Перед початком експерименту тварини були випадково розподілені на 4 групи: I ( $n = 10$ ) – інтактні тварини, що утримувались за стандартних умов віварію та не піддавались жодним маніпуляціям; II ( $n = 10$ ) – хібно оперовані (плацебо) щури; III ( $n = 10$ ) – щури з А $\beta$ 1-40-індукованою ХА; IV ( $n = 10$ ) – щури з А $\beta$ 25–35-індукованою ХА. Рандомізацію проводили за допомогою функції "RAND" () у Microsoft Excel. Наркотизацію щурів проводили сумішшю кетаміну (75 мг/кг, розведеного в стерильній воді для ін'єкцій, "Sigma", США) і 2 % розчином ксилазину (100 мкл/щур, "AlfasanInternational B.V.", Нідерланди). Цю суміш вводили інтраперитонеально загальним об'ємом 1 мл. Інтрагіпокампульне введення А $\beta$  проводили у стереотаксі. Для проведення ін'єкції попередньо проводили трепанацію черепа для введення ін'єкційної голки. Трепанацію проводили від точки перетину сагітального шва і брегми: 2 мм дистально, 2 мм латерально і 3,5 мм вглиб. Розчинні агрегати А $\beta$ 1–40 або А $\beta$ 25–35 набирали в мікроін'єктор і опускали його кінчик у трепанаційний отвір. Загальний об'єм суспензії 10 мкл на тварину. Інфузія відбувалась протягом 5 хв зі швидкістю 0,5 мкл/хв (кожні 5 с). Після введення А $\beta$  кінчик мікроін'єктора залишався у тканині мозку 4 хв. Після чого його діставали і накладали кожній тварині шви на м'які тканини голови. Контрольним тваринам (хібно оперованим) проводили аналогічну хірургічну операцію, проте замість дослідної суспензії А $\beta$ 1–40 або А $\beta$ 25–35 вводили розчинник у тому самому об'ємі.

Дегенерацію дофамінергічних нейронів (ДН) оцінювали методом імуногістохімічного аналізу з використанням антитіл до тирозингідроксилази (ТГ). За допомогою лабіринту Барнса проводили перевірку змін короткотривалої та довготривалої просторової пам'яті, а також когнітивну гнучкість у дослідних щурів. Концентрацію розчинної форми А $\beta$  (CloudCloneCorporation, Houston, TX, США) і тау-протеїну (Elabscience, Houston, TX, США) у гомогенатах гіпокампа щурів з ХА визначали методом імуноферментного аналізу з використанням комерційних тест-систем (R&D Systems, USA) відповідно до рекомендацій виробників. Для уникнення протееолітичної дегградації бета-амілоїду в гомогенаті використовували комп-

лекс інгібіторів протеаз та фосфатаз (Sigma, США). Гематологічні показники визначали за допомогою аналізатора "ParticleCounterModel PCE 210" (ERMA, Японія), адаптованого для експериментів з використанням клітин крові щурів і мишей.

Усі дані представлено як середнє  $\pm$  SD. Статистичні відмінності між групами порівняння були обчислені за допомогою дисперсійного аналізу з пост-хок тестом Тьюкі. За  $p < 0,05$  відмінності вважалися достовірними.

## Результати

За результатами наших досліджень інтрагіпокампальне введення А $\beta$  1–40 та А $\beta$  25–35 не супроводжувалося статистично вірогідними змінами ваги тварин та їхньої харчової поведінки (дані не представлені), когнітивні порушення були більш виразними у щурів з А $\beta$  1–40-індукованою ХА (табл. 1).

Таблиця 1

Когнітивні порушення у щурів із хворобою Альцгеймера, індукованою інтрагіпокампальним уведенням 1–40- та 25–35- $\beta$ -амілоїду

| Критерій                                     | Просторова пам'ять                                                                      |                                                                                     | Когнітивна гнучкість                                                                                                          |                                                                                                                           |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                              | Короткотривала (термін пошуку "ESCAPE BOX" через 24 год після закінчення тренування, с) | Довготривала (термін пошуку "ESCAPE BOX" через 5 дб після закінчення тренування, с) | Короткотривала (термін перебування перед входом до "ESCAPE BOX" перед евакуацією через 24 год після закінчення тренування, с) | Довготривала (термін перебування перед входом до "ESCAPE BOX" перед евакуацією через 5 дб після закінчення тренування, с) |
| Інтактні тварини, $n = 10$                   | 5,7 $\pm$ 1,3                                                                           | 18,0 $\pm$ 2,2                                                                      | 18,0 $\pm$ 2,2                                                                                                                | 16,3 $\pm$ 2,3                                                                                                            |
| Хібно оперовані тварини (плацебо), $n = 10$  | 4,5 $\pm$ 1,1                                                                           | 21,8 $\pm$ 6,7                                                                      | 21,8 $\pm$ 6,7                                                                                                                | 24,0 $\pm$ 6,3                                                                                                            |
| 1–40-А $\beta$ -індукована модель, $n = 10$  | 17,0 $\pm$ 7,2 <sup>1,2</sup>                                                           | 26,8 $\pm$ 2,2                                                                      | 26,8 $\pm$ 12,2 <sup>1,2</sup>                                                                                                | 28,3 $\pm$ 7,8 <sup>1,2</sup>                                                                                             |
| 25–35-А $\beta$ -індукована модель, $n = 10$ | 11,4 $\pm$ 4,3 <sup>1,2,3</sup>                                                         | 17,4 $\pm$ 1,9 <sup>3</sup>                                                         | 17,4 $\pm$ 1,9 <sup>3</sup>                                                                                                   | 28,4 $\pm$ 5,4 <sup>1,2</sup>                                                                                             |

**Примітки:** 1 –  $p < 0,05$  порівняно з показником інтактних тварин, 2 –  $p < 0,05$  порівняно з показником хібно оперованих тварин, 3 –  $p < 0,05$  порівняно з показником тварин з 1–40-А $\beta$ -індукованою моделлю.

Порівняно з інтактними тваринами в групі з А $\beta$  1–40-індукованою ХА, час на пошук "ESCAPE BOX" через добу після закінчення тренування, який характеризує короткотривалу просторову пам'ять, був більшим у 3 рази, тоді як у групі з А $\beta$  25–35-індукованою моделлю – у 2 рази порівняно з хібно оперованими тваринами. У процесі оцінювання довготривалої просторової пам'яті порушення показника спостерігалися лише у щурів з А $\beta$  1–40-індукованою моделлю: через 5 дб після проведення тренування час пошуку "ESCAPE BOX" у цих тварин був збільшений на 50 % порівняно з інтактними і хібно оперованими тваринами.

Для перевірки когнітивної короткотривалої та довготривалої гнучкості визначали термін перебування тварини перед входом у "ESCAPE BOX" через 24 год і 5 дб після тренування. У щурів з А $\beta$  1–40-індукованою ХА значення цього показника перевищували такі в обох контрольних групах, що свідчить про непевність тварини щодо коректності

обраного варіанта входу. У щурів з А $\beta$  25–35-індукованою ХА лише під час перевірки довготривалої когнітивної гнучкості було виявлено порушення щодо контрольних груп. Показники короткотривалої когнітивної гнучкості в цій моделі були аналогічними до тварин, що не мали захворювання (інтактна група і група плацебо).

Додатковими критеріями розвитку ХА були показник кількості ТН-позитивних нейронів у гіпокампі, а також концентрація А $\beta$  і Тау-протеїну в гомогенаті гіпокампа.

Тирозинагідроксилаза є маркером ДН нейронів, що містять дофамін, норадреналін, адреналін. У зрілих тварин кількість ТГ-позитивних нейронів значно зменшується, оскільки експресія відбувається на дуже низьких рівнях. Для патології Альцгеймера також характерне зменшення кількості цих нейронів (Wu et al., 2019). Істотну втрату ДН було виявлено у щурів з А $\beta$  1–40-індукованою моделлю, тоді як у тварин з А $\beta$  25–35-індукованою ХА зареєстровано лише помірну втрату цих нейронів (табл. 2).

Таблиця 2

Додаткові критерії розвитку хвороби Альцгеймера, індукованої інтрагіпокампальним уведенням 1–40- та 25–35- $\beta$ -амілоїду, у щурів

| Групи тварин                            | Частка ТН-позитивних нейронів у гіпокампі (% від показника інтактних тварин/% від показника хібно оперованих тварин) | Концентрація А $\beta$ у гомогенаті гіпокампа, пг/мг білка | Концентрація Тау-протеїну у гомогенаті гіпокампа, пг/мл |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Інтактні, $n = 10$                      | –                                                                                                                    | 18,8 $\pm$ 8,1                                             | 22,0 $\pm$ 9,1                                          |
| Хібно оперовані, $n = 10$               | –                                                                                                                    | 21,3 $\pm$ 15,2                                            | 38,8 $\pm$ 10,6                                         |
| А $\beta$ 1-40-індукована ХА, $n = 10$  | 38,9/33,3                                                                                                            | 62,2 $\pm$ 18,3 <sup>*#</sup>                              | 86,9 $\pm$ 32,1 <sup>*#</sup>                           |
| А $\beta$ 25-35-індукована ХА, $n = 10$ | 88,9/76,2                                                                                                            | 66,5 $\pm$ 21,0 <sup>*#</sup>                              | 92,5 $\pm$ 28,5 <sup>*#</sup>                           |

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$  порівняно з показником інтактних тварин, # –  $p < 0,05$  порівняно з показником хібно оперованих тварин.

Спостерігали втричі більшу концентрацію А $\beta$  у гомогенаті гіпокампа щурів як з А $\beta$  1–40-, так і з А $\beta$  25–35-індукованою ХА. Також зареєстровано в 3–3,5 раза збільшену концентрацію Тау-протеїну в обох групах. Накопичення А $\beta$

і Тау-протеїну в гіпокампі свідчить про те, що мікроглія не здатна забезпечувати кліренс цих субстанцій в обох моделях, що, однак асоціювалося з різним ступенем

нейродегенерації й розвитку когнітивних порушень, власних цій патології (Nefodova et al., 2022).

Дослідження показників лейкограми проводилось на момент завершення експерименту. У тварин з Аβ 1–40 та з Аβ 25–35-індукованою ХА зареєстровано збільшення кількості лейкоцитів майже в 2,5 раза, що вказує на лейкоцитоз, як маркер системного запального

процесу (рис. 1). Окрім модельних груп, також помічено характерний лейкоцитоз у хибно оперованих тварин, що може бути зумовлено розвитком репаративного запалення після проведеного хірургічного втручання, як було зазначено раніше (Maimaiti et al., 2021), і низьким рівнем та темпом регенерації у щурів похилого віку.

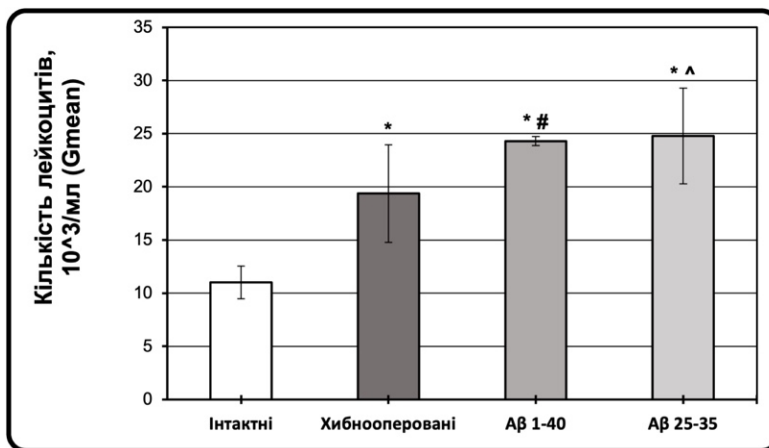


Рис. 1. Кількість лейкоцитів периферичної крові у тварин з Аβ 1–40- та Аβ 25–35-індукованою ХА,  $n = 10$  у кожній групі тварин

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  порівняно з хибно оперованими тваринами, ^ –  $p < 0,05$  порівняно з тваринами з Аβ 1–40-індукованою ХА.

Периферичні лімфоцити, які циркулюють у кровотоці та периферичних лімфоїдних органах, можуть відображати системні імунні зміни і потенційно служити біомаркерами прогресування захворювання та терапевтичних втручань у щурячих моделях AD (Maimaiti et al., 2021). У тварин з Аβ 1–40-індукованою ХА кількість лімфоцитів була істотно меншою порівняно з інтактною групою і хибно оперованим контролем, що вказує на абсолютну лімфопенію. Зниженою була і відносна кількість

лімфоцитів, що є однією з основних ознак системного запального процесу. У тварин з Аβ 25–35-індукованою ХА навпаки, кількість лімфоцитів була вищою порівняно з інтактною групою і хибно оперованим контролем. Також вказано на одночасний абсолютний лімфоцитоз та відносну лімфопенію, однією з причин якої є перерозподіл лімфоцитів та міграція до ушкодженої тканини, типова для процесів репарації та регенерації (рис. 2).

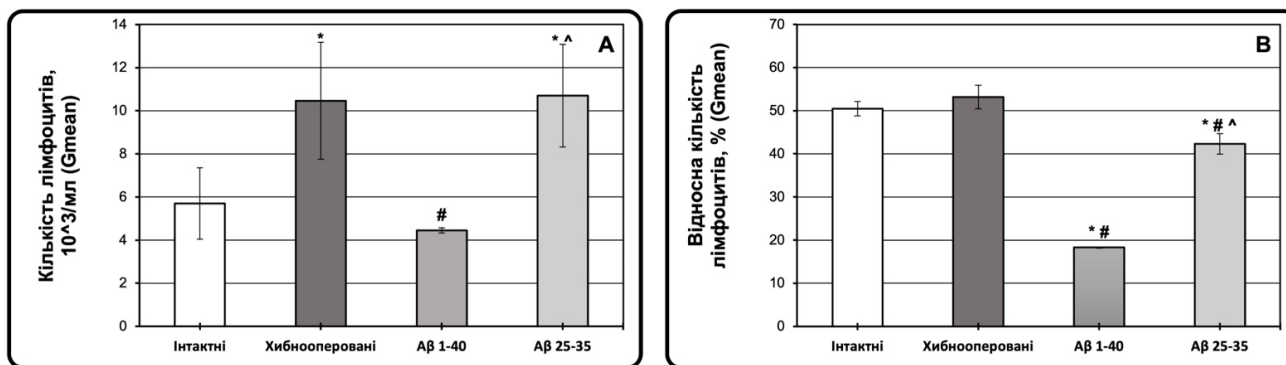


Рис. 2. Абсолютна (А) та відносна (Б) кількість лімфоцитів у тварин з Аβ 1–40- та Аβ 25–35-індукованою ХА,  $n = 10$  у кожній групі тварин,  $n = 10$  у кожній групі тварин

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  порівняно з хибно оперованими тваринами, ^ –  $p < 0,05$  порівняно з тваринами з Аβ 1–40-індукованою ХА.

Відомо, що кількість периферичних моноцитів корелює зі зниженням когнітивних функцій і може виступати прогностичним біомаркером раннього виявлення та моніторингу ХА. У контексті ХА було показано, що моноцити проникають у мозок і сприяють запаленню нейронів та їх пошкодженню. При цьому кількість циркулюючих у периферичній крові моноцитів зменшується. З іншого боку, міграція моноцитів в ушкоджену ділянку тканини

може бути пов'язана з залученням їх до репаративних процесів з диференціюванням на альтернативно активовані макрофаги M2 профілю (Garfias et al., 2022).

У тварин з Аβ 1–40-індукованою ХА абсолютна кількість моноцитів була в 4 рази нижчою порівняно з інтактною групою. Виразна моноцитопенія вказує на порушення імунної функції, дисрегуляцію запальних реакцій або рекрутинг цих клітин до пошкодженої ділянки,

що сприяє погіршенню когнітивних функцій. З іншого боку, у тварин з Аβ 25–35-індукованою ХА було

zareєстровано збільшення кількості моноцитів, більш ніж у 5 разів (рис. 3).

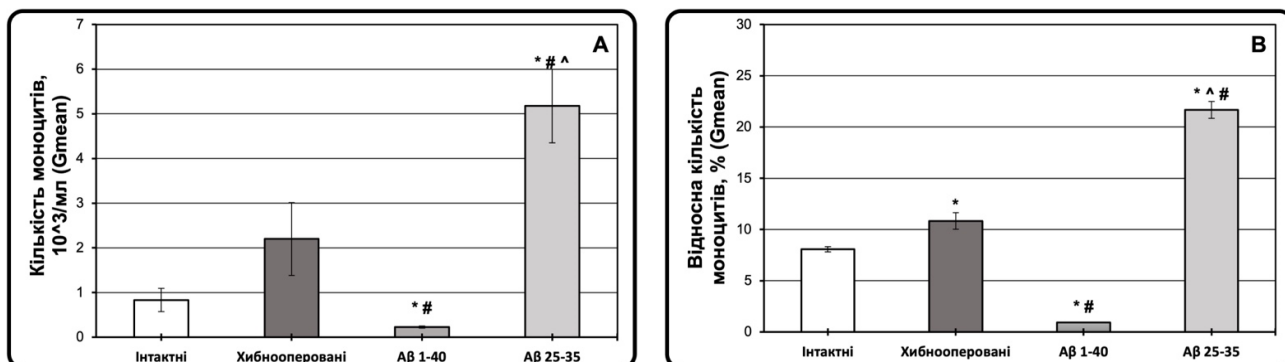


Рис. 3. Абсолютна (А) і відносна (В) кількість моноцитів у тварин з Аβ 1–40-індукованою та Аβ 25–35-індукованою ХА,  $n = 10$  у кожній групі тварин

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  порівняно з хібно оперованими тваринами, ^ –  $p < 0,05$  порівняно з тваринами з Аβ 1–40-індукованою ХА.

Абсолютний нейтрофіліоз відображає активовану запальну імунну відповідь, що спрямована у т. ч. на очищення бета-амілоїдних агрегатів. Нейтрофіли беруть безпосередню участь у патогенезі ХА та сприяють погіршенню когнітивних функцій. Загалом нейтрофіли є найпоширенішим типом лейкоцитів і відіграють вирішальну роль у вроджених імунних реакціях, включаючи запален-

ня та контроль інфекції (Wang et al., 2021). Підвищення абсолютної і відносної кількості моноцитів є основним гематологічним маркером запального процесу. У тварин з Аβ 1–40-індукованою ХА zareєстровано абсолютний нейтрофіліоз, збільшення відносної кількості нейтрофілів більш ніж у 3 рази порівняно з інтактною групою (рис. 4).

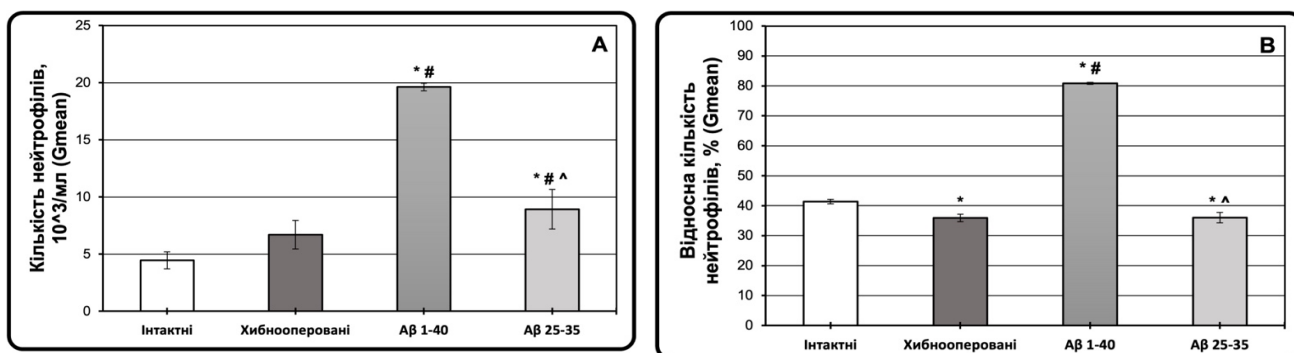


Рис. 4. Абсолютна (А) і відносна (В) кількість нейтрофілів у тварин з Аβ 1–40-індукованою та Аβ 25–35-індукованою ХА,  $n = 10$  у кожній групі тварин

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  порівняно з хібно оперованими тваринами, ^ –  $p < 0,05$  порівняно з тваринами з Аβ 1–40-індукованою ХА.

У тварин з Аβ 25–35-індукованою ХА кількість цих клітин не відрізнялася від аналогічних показників у тварин контрольних груп. Відсутність нейтрофілії є доказовою ознакою відсутності системного запального процесу, зважаючи на виняткове значення цих клітин в ініціюванні і персистенції системного запального процесу (Neggers-Cervera, Soehnlein, & Kenne, 2022).

#### Дискусія і висновки

Таким чином, порівняльне оцінювання гематологічних маркерів системного запалення у двох моделях ХА, індукованих повнорозмірним і коровим Аβ, свідчить на користь того, що системний запальний процес здебільшого відтворюється під час інтрагіпокампального введенні повнорозмірного амیلлоїду, що робить відповідну модель більш адекватною для вивчення системного запалення у патофізіології хвороби та пошуку терапевтичних мішеней для його фармакологічного усунення.

**Внесок авторів:** Анастасія Нефьодова – пробіпідготовка та проведення гематологічних досліджень; Марія Рудик – статистична обробка; Роман Довгий – проведення поведінкових тестів; Лариса Сквіка – формулювання концепції дослідження, аналіз та узагальнення результатів.

**Подяки, джерела фінансування.** Висловлюємо подяку студентам-бакалаврам та магістрам ННЦ "Інститут біології та медицини", які взяли участь у цьому дослідженні, а також Віталіні Святецькій за допомогу в проведенні хірургічних маніпуляцій та Наталії Дзюбенко за допомогу в проведенні імуногістохімічних досліджень. Дослідження проведено в рамках НДР № 19ДП036-03.

#### Список використаних джерел

- 2023 Alzheimer's disease facts and figures. (2023). *Alzheimers & Dementia*, 19(4), 1598–1695. <https://doi.org/10.1002/alz.13016>  
 Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2020). *Cellular and Molecular Immunology E-Book*. Elsevier Health Sciences.  
 Akhtar, A., Gupta, S.M., Dwivedi, S., Kumar, D., Shaikh, M.F., & Negi, A.S. (2022). Preclinical Models for Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future

- Approaches. *ACS Omega*, 7(51), 47504–47517. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05609>
- Bennett, M.L., Bennett, F.C., Liddel, S.A., Ajami, B., Zamanian, J.L., Fernhoff, N.B., Mulinyawe, S.B., Bohlen, C.J., Adil, A., Tucker, A.M., Weissman, I.L., Chang, E.Y., Li, G., Grant, G.A., Gephart, M.H., & Barres, B.A. (2016). New tools for studying microglia in the mouse and human CNS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(12). <https://doi.org/10.1073/pnas.1525528113>
- Butovsky, O., & Weiner, H.L. (2018). Microglial signatures and their role in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(10), 622–635. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0057-5>
- D'Andrea, M.R. (2016). *Intracellular Consequences of Amyloid in Alzheimer's Disease*. Academic Press.
- Fricker, G., Ott, M., & Mahringer, A. (Eds.) (2014). *The Blood Brain Barrier (BBB)*. In Topics in Medicinal Chemistry (TMC), 10, Springer.
- Garfias, S.R., Domínguez, B.T., Rojas, A.T., Arroyo, M.P.M., Rodríguez, U., Boll, C., Sosa, A.L., Sciutto, E., Adalid-Peralta, L., López, Y.M., Frago, G., & Fleury, A. (2022). *Peripheral blood lymphocyte phenotypes in Alzheimer and Parkinson's diseases*. *Neurologia*. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2018.10.022>
- Herrero-Cervera, A., Soehnlein, O., & Kenne, E. (2022). Neutrophils in chronic inflammatory diseases. *Cellular & molecular immunology*, 19(2), 177–191. <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00832-3>
- Huang, L., Zhang, C., Wang, Y., & Wang, J. (2022). Association of Peripheral Blood Cell Profile With Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.888946>
- Huang, L.T., Zhang, C.P., Wang, Y.B., & Wang, J.H. (2022). Association of Peripheral Blood Cell Profile With Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Frontiers Aging Neuroscience*, 14, 888946. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.888946>
- Huang, X., Hussain, B., & Chang, J. (2021). Peripheral inflammation and blood–brain barrier disruption: effects and mechanisms. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 27(1), 36–47. <https://doi.org/10.1111/cns.13569>
- Jia, R., Chen, Y., & Xu, Y. (2019). Effects of physical activity and exercise on the cognitive function of patients with Alzheimer disease: a meta-analysis. *BMC Geriatrics*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12877-019-1175-2>
- Lehmann, S., Dumurgier, J., Aygnac, X., Marelli, C., Alcolea, D., Ormaechea, J.F., Thouvenot, E., Delaby, C., Hirtz, C., Vialaret, J., Ginestet, N., Bouaziz-Amar, E., Laplanche, J., Labauge, P., Paquet, C., Lleó, A., & Gabelle, A. (2020). Cerebrospinal fluid A beta 1-40 peptides increase in Alzheimer's disease and are highly correlated with phospho-tau in control individuals. *Alzheimer's Research & Therapy*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13195-020-00696-1>
- Maimaiti, A., Show, P.L., Minmin, W., Weiwei, M., Wenhui, S., Aikemu, A., & Maimaitiyming, D. (2021). Improvement of Total Flavonoids from *Dracocephalum moldavica* L. in Rats with Chronic Mountain Sickness through 1H-NMR Metabonomics. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2021/6695346>
- Nefodova, A.M., Rudyk, M., Pasichnichenko M., Dovhyi R., Dovbychuk, T., Tolstanova, G., Skivka, L. (2022). Pro-inflammatory effects of placebo neurosurgery in rats: age-related features. *General Surgery*, 2(3), 56–63. <https://doi.org/10.30978/GS-2022-2-56>
- Perez, M.F., Bregonzio, C., Castro, M.G., & Saravia, F.E. (2022). *Targeting Neuroinflammation in Central Nervous System Disorders: Uncovering Mechanisms, Pharmacological Targets, and Neuropharmaceutical Developments*. Frontiers Media SA.
- Saresella, M., Marventano, I., Piancone, F., La Rosa, F., Galimberti, D., Fenoglio, C., Scarpini, E., & Clerici, M. (2020). IL-33 and its decoy sST2 in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01806-4>
- Twarowski, B., & Herbet, M. (2023). Inflammatory Processes in Alzheimer's Disease—Pathomechanism, Diagnosis and Treatment: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6518. <https://doi.org/10.3390/ijms24076518>
- Unda, S.R., Antoniazzi, A.M., Altschul, D.J., & Marongiu, R. (2021). Peripheral Leukocytosis Predicts Cognitive Decline but not behavioral Disturbances: A Nationwide Study of Alzheimer's and Parkinson's Disease Patients. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 50(2), 143–152. <https://doi.org/10.1159/000516340>
- Villabona-Rueda, A., Erice, C., Pardo, C.A., & Stins, M.F. (2019). The Evolving Concept of the Blood Brain Barrier (BBB): from a Single Static Barrier to a Heterogeneous and Dynamic Relay Center. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00405>
- Wang, Y., Sun, Y., Luo, Y., Peng, D., Li, X., Yang, B., Wang, Q., & Kuang, H. (2021). Biomarkers for the Clinical Diagnosis of Alzheimer's Disease: Metabolomics Analysis of Brain Tissue and Blood. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.700587>
- Wu, T., Dejanovic, B., Gandham, V.D., Gogineni, A., Edmonds, R., Schauer, S.P., Srinivasan, K., Huntley, M. A., Wang, Y., Wang, T., Hedehus, M., Barck, K. H., Stark, M., Ngu, H., Foreman, O., Meilandt, W. J., Elstrott, J., Chang, M. C., Hansen, D. J., . . . Hanson, J. E. (2019). Complement C3 is Activated in Human AD Brain and Is Required for Neurodegeneration in Mouse Models of Amyloidosis and Tauopathy. *Cell Reports*, 28(8), 2111–2123.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.07.060>
- Xie, J., Van Hoecke, L., & Vandenbroucke, R.E. (2022). The Impact of Systemic Inflammation on Alzheimer's Disease Pathology. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.796867>
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M.Z.Q., Liao, Y., Thiagarajan, M., O'Donnell, J.S., Christensen, D.H., Nicholson, C., Iliff, J.J., Takano, T., & Deane, R. (2013). Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science*, 342(6156), 373–377. <https://doi.org/10.1126/science.1241224>
- Yokoyama, M., Kobayashi, H., Tatsumi, L. & Tomita, T. (2022). Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Front. Mol. Neurosci.*, 15, 912995. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.912995>
- Zeiss C.J. (2015). Improving the predictive value of interventional animal models data. *Drug Discov. Today*, 20(4), 475–482. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.10.015>
- Zambrano, P., Suwalsky, M., Jemiola-Rzemińska, M., Gallardo-Nelson, M.J., Strzałka, K., & Muñoz-Torres, D. (2021). Protective Role of a Dipeptidyl-Hydrolase Inhibitor against the  $\beta$ -Amyloid (1-42) Effect on Human Erythrocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9563. <https://doi.org/10.3390/ijms22179563>

## References

- 2023 Alzheimer's disease facts and figures. (2023). *Alzheimers & Dementia*, 19(4), 1598–1695. <https://doi.org/10.1002/alz.13016>
- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2020). *Cellular and Molecular Immunology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Akhtar, A., Gupta, S.M., Dwivedi, S., Kumar, D., Shaikh, M.F., & Negi, A.S. (2022). Preclinical Models for Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future Approaches. *ACS Omega*, 7(51), 47504–47517. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05609>
- Bennett, M.L., Bennett, F.C., Liddel, S.A., Ajami, B., Zamanian, J.L., Fernhoff, N.B., Mulinyawe, S.B., Bohlen, C.J., Adil, A., Tucker, A.M., Weissman, I.L., Chang, E.Y., Li, G., Grant, G.A., Gephart, M.H., & Barres, B.A. (2016). New tools for studying microglia in the mouse and human CNS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(12). <https://doi.org/10.1073/pnas.1525528113>
- Butovsky, O., & Weiner, H.L. (2018). Microglial signatures and their role in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(10), 622–635. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0057-5>
- D'Andrea, M.R. (2016). *Intracellular Consequences of Amyloid in Alzheimer's Disease*. Academic Press.
- Fricker, G., Ott, M., & Mahringer, A. (Eds.) (2014). *The Blood Brain Barrier (BBB)*. In Topics in Medicinal Chemistry (TMC), 10, Springer.
- Garfias, S.R., Domínguez, B.T., Rojas, A.T., Arroyo, M.P.M., Rodríguez, U., Boll, C., Sosa, A.L., Sciutto, E., Adalid-Peralta, L., López, Y.M., Frago, G., & Fleury, A. (2022). *Peripheral blood lymphocyte phenotypes in Alzheimer and Parkinson's diseases*. *Neurologia*. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2018.10.022>
- Herrero-Cervera, A., Soehnlein, O., & Kenne, E. (2022). Neutrophils in chronic inflammatory diseases. *Cellular & molecular immunology*, 19(2), 177–191. <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00832-3>
- Huang, L., Zhang, C., Wang, Y., & Wang, J. (2022). Association of Peripheral Blood Cell Profile With Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.888946>
- Huang, L.T., Zhang, C.P., Wang, Y.B., & Wang, J.H. (2022). Association of Peripheral Blood Cell Profile With Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Frontiers Aging Neuroscience*, 14, 888946. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.888946>
- Huang, X., Hussain, B., & Chang, J. (2021). Peripheral inflammation and blood–brain barrier disruption: effects and mechanisms. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 27(1), 36–47. <https://doi.org/10.1111/cns.13569>
- Jia, R., Chen, Y., & Xu, Y. (2019). Effects of physical activity and exercise on the cognitive function of patients with Alzheimer disease: a meta-analysis. *BMC Geriatrics*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12877-019-1175-2>
- Lehmann, S., Dumurgier, J., Aygnac, X., Marelli, C., Alcolea, D., Ormaechea, J.F., Thouvenot, E., Delaby, C., Hirtz, C., Vialaret, J., Ginestet, N., Bouaziz-Amar, E., Laplanche, J., Labauge, P., Paquet, C., Lleó, A., & Gabelle, A. (2020). Cerebrospinal fluid A beta 1-40 peptides increase in Alzheimer's disease and are highly correlated with phospho-tau in control individuals. *Alzheimer's Research & Therapy*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13195-020-00696-1>
- Maimaiti, A., Show, P.L., Minmin, W., Weiwei, M., Wenhui, S., Aikemu, A., & Maimaitiyming, D. (2021). Improvement of Total Flavonoids from *Dracocephalum moldavica* L. in Rats with Chronic Mountain Sickness through 1H-NMR Metabonomics. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2021/6695346>
- Nefodova, A.M., Rudyk, M., Pasichnichenko M., Dovhyi R., Dovbychuk, T., Tolstanova, G., Skivka, L. (2022). Pro-inflammatory effects of placebo neurosurgery in rats: age-related features. *General Surgery*, 2(3), 56–63. <https://doi.org/10.30978/GS-2022-2-56>
- Perez, M.F., Bregonzio, C., Castro, M.G., & Saravia, F.E. (2022). *Targeting Neuroinflammation in Central Nervous System Disorders: Uncovering Mechanisms, Pharmacological Targets, and Neuropharmaceutical Developments*. Frontiers Media SA.
- Saresella, M., Marventano, I., Piancone, F., La Rosa, F., Galimberti, D., Fenoglio, C., Scarpini, E., & Clerici, M. (2020). IL-33 and its decoy sST2 in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01806-4>

Twarowski, B., & Herbet, M. (2023). Inflammatory Processes in Alzheimer's Disease—Pathomechanism, Diagnosis and Treatment: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6518. <https://doi.org/10.3390/ijms24076518>

Unda, S.R., Antoniazzi, A.M., Altschul, D.J., & Marongiu, R. (2021). Peripheral Leukocytosis Predicts Cognitive Decline but not behavioral Disturbances: A Nationwide Study of Alzheimer's and Parkinson's Disease Patients. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 50(2), 143–152. <https://doi.org/10.1159/000516340>

Villabona-Rueda, A., Erice, C., Pardo, C.A., & Stins, M.F. (2019). The Evolving Concept of the Blood Brain Barrier (BBB): from a Single Static Barrier to a Heterogeneous and Dynamic Relay Center. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00405>

Wang, Y., Sun, Y., Luo, Y., Peng, D., Li, X., Yang, B., Wang, Q., & Kuang, H. (2021). Biomarkers for the Clinical Diagnosis of Alzheimer's Disease: Metabolomics Analysis of Brain Tissue and Blood. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.700587>

Wu, T., Dejanovic, B., Gandham, V.D., Gogineni, A., Edmonds, R., Schauer, S.P., Srinivasan, K., Huntley, M. A., Wang, Y., Wang, T., Hedehus, M., Barck, K. H., Stark, M., Ngu, H., Foreman, O., Meilandt, W. J., Elstrott, J., Chang, M. C., Hansen, D. J., . . . Hanson, J. E. (2019). Complement C3 is Activated in Human AD Brain and Is Required for Neurodegeneration in

Mouse Models of Amyloidosis and Tauopathy. *Cell Reports*, 28(8), 2111–2123.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.07.060>

Xie, J., Van Hoecke, L., & Vandenbroucke, R.E. (2022). The Impact of Systemic Inflammation on Alzheimer's Disease Pathology. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.796867>

Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M.Z.Q., Liao, Y., Thiyagarajan, M., O'Donnell, J.S., Christensen, D.H., Nicholson, C., Iliff, J.J., Takano, T., & Deane, R. (2013). Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science*, 342(6156), 373–377. <https://doi.org/10.1126/science.1241224>

Yokoyama, M., Kobayashi, H., Tatsumi, L. & Tomita, T. (2022). Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Front. Mol. Neurosci.*, 15, 912995. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.912995>

Zeiss C.J. (2015). Improving the predictive value of interventional animal models data. *Drug. Discov. Today*, 20(4), 475–482. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.10.015>

Zambrano, P., Suwalsky, M., Jemioła-Rzemińska, M., Gallardo-Nelson, M.J., Strzałka, K., & Muñoz-Torrero, D. (2021). Protective Role of a Donepezil-Huprine Hybrid against the  $\beta$ -Amyloid (1–42) Effect on Human Erythrocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9563. <https://doi.org/10.3390/ijms22179563>

Отримано редакцією журналу / Received: 04.09.23

Прорецензовано / Revised: 04.09.23

Схвалено до друку / Accepted: 05.10.23

Anastasia NEFODOVA<sup>1</sup>, PhD Student

ORCID ID: 0000-0003-3440-3687

e-mail: nefodova.av@gmail.com

Maria RUDYK<sup>1</sup>, PhD (Biol.)

ORCID ID: 0000-0003-1252-885X

e-mail: rudyk\_marie@knu.ua

Roman DOVHYI<sup>1</sup>, PhD (Biol.)

ORCID ID: 0000-0003-1189-4479

e-mail: romandovgiy@gmail.com

Larisa SKIVKA, DSc (Biol.), Prof.

ORCID ID: 0000-0002-2171-1085

e-mail: realm@ukr.net

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

## COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTE SUBSETS IN RATS WITH DIFFERENT MODELS OF ALZHEIMER'S DISEASE

**Background.** Systemic inflammation is recognized as one of the key features of Alzheimer's disease (AD) – a neurodegenerative disorder, which is characterized by cognitive decline with progressive memory loss and affects millions of predominantly elderly people. Recent literature data suggest the involvement of peripheral immune cells in the initiation and progression of AD. However, our understanding of the population composition of peripheral blood leukocytes and its contribution to disease progression remains limited. The use of animal models plays an important role in investigating possible mechanisms linking the peripheral immune system to the inflammatory processes underlying neurodegeneration. The aim of this study was comparative assessment of the composition of leukocyte subsets in rats with AD, induced by intrahippocampal injection of amyloid-beta (A $\beta$ ) 1–40 and A $\beta$  25–35.

**Methods.** Male Wistar rats were used in the experiments, including intact and sham-operated animals as controls. Disease development was confirmed by assessing cognitive impairment in the Barnes maze behavioral test and by the loss of dopaminergic neurons. Hematological parameters were evaluated at the end of the experiment (day 37 after the disease initiation), including absolute leukocyte count, as well as absolute and relative count of their main subsets: lymphocytes, monocytes, and neutrophils. Rats with AD induced by A $\beta$  1–40 exhibited granulocytosis (a fivefold increase in absolute granulocyte count in the circulation). Absolute and relative count of lymphocytes in these animals were decreased on average by 2.5 times, monocyte count – on average by 3 times as compared to those in intact and sham-operated rats. In rats with A $\beta$  25–35-induced AD, leukocytosis with slightly decreased lymphocyte proportion, increase in monocyte count twice at average and unchanged neutrophil count were revealed.

**Results.** Therefore, animals with AD, induced by A $\beta$  1–40, had hematologic markers of systemic inflammation (leukocytosis, granulocytosis, lymphocytopenia, and monocytopenia).

**Conclusions.** These results suggest that the A $\beta$  1–40-induced AD model more accurately reproduces the hematologic signs of systemic inflammation observed in patients with this pathology.

**Keywords:** Alzheimer's disease, leukocytes, inflammation, lymphocytes, monocytes, neutrophils.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; in the decision to publish the results.