

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ТАЛАПОВА ПОЛІНА СЕРГІЇВНА

УДК [616.441-02:618.3-022]-091.8-092.9

ДИСЕРТАЦІЯ
**ВПЛИВ МАТЕРИНСЬКО-ПЛОДОВОЇ ІНФЕКЦІЇ
НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН
ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ НАЩАДКІВ**

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина», спеціалізація «Патологічна анатомія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ П.С. Талапова

Науковий керівник: Сорокіна Ірина Вікторівна, доктор медичних наук,
професор

Харків – 2022

АНОТАЦІЯ

Талапова П.С. Вплив материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Патологічна анатомія». – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2022 р.

Захист дисертації відбудеться у Харківському національному медичному університеті МОЗ України, Харків, 2022 р.

Дисертаційна робота присвячена комплексному визначенню впливу материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків та розробленні способу морфологічної діагностики зазначеної патології.

Відомо, що сьогодні внутрішньоутробні інфекції становлять від 11 до 45% у структурі перинатальної смертності в Україні, що має безсумнівний негативний вплив на державне соціально-економічне становище. Разом з тим, чимало бактеріальних інфекцій у вагітних протікають субклінічно або безсимптомно, що унеможливорює використання класичних методів діагностики цієї патології у плодів та новонароджених, які загинули раптово. З іншого боку, ще досі бракує знань стосовно морфофункціональної динаміки у щитовидній залозі під час органогенезу за умов материнсько-плодових інфекцій.

Тому за мету дослідження обрали удосконалення діагностики бактеріальної материнсько-плодової інфекції із субклінічним перебігом через визначення її впливу на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків на основі експериментально-патоморфологічного дослідження з блоковою рандомізацією.

Заради досягнення поставленої мети нами були використані експериментальне моделювання за участю 209 щурів популяції Wistar Albino Glaxo, блокова рандомізація, соматометричний, макроморфологічний, гістологічний, мікроморфологічний, імуногістохімічний та статистичний методи із застосуванням засобів цифрового середовища.

За допомогою експериментального методу за участю 95-тьох самиць та 25-ти самців відтворили бактеріальні материнсько-плодові інфекції з субклінічним перебігом, що спричинені окремо *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, а також – хронічну внутрішньоутробну гіпоксію і фізіологічну вагітність. У результаті отримали 88 нащадків щурів (43 плоди та 45 новонароджених). З використанням соматометричного методу у нащадків щурів визначили середню вагу (плоди – $4,197 \pm 0,437$ г | новонароджені – $5,648 \pm 0,478$ г), довжину тіла (плоди – $4,140 \pm 0,379$ см | новонароджені – $5,378 \pm 0,162$ см) та довжину хвоста (плоди – $1,331 \pm 0,088$ см | новонароджені – $1,675 \pm 0,156$ см).

Макроморфологічним методом визначили розташування щитовидної залози у нащадків та відпрепарували 88 шийно-головних фрагментів, які містили цей орган, а також – стравохід, трахею, хрящ (щитовидний або персневидний) та інші суміжні тканини.

Вилучені зразки розподілили за віком та впливом під час вагітності на 10 груп: 1 – плоди групи негативного контролю, що розвивалися за умов фізіологічної вагітності ($n = 10$), 2 – плоди з материнсько-плодовою інфекцією, що спричинена *Escherichia coli* ($n = 10$), 3 – плоди з материнсько-плодовою інфекцією, що спричинена *Staphylococcus aureus* ($n = 8$), 4 – плоди з материнсько-плодовою інфекцією, що спричинена *Klebsiella pneumoniae* ($n = 9$), 5 – плоди групи позитивного контролю, що піддавалися впливу хронічної внутрішньоутробної гіпоксії ($n = 6$), 6 – новонароджені групи негативного контролю, що розвивалися за умов фізіологічної вагітності ($n = 13$), 7 – новонароджені з материнсько-плодовою інфекцією, що спричинена *Escherichia coli* ($n = 7$), 8 – новонароджені з материнсько-плодовою інфекцією,

що спричинена *Staphylococcus aureus* ($n = 7$), 9 – новонароджені з материнсько-плодовою інфекцією, що спричинена *Klebsiella pneumoniae* ($n = 7$), 10 – новонароджені групи позитивного контролю, які розвивалися за умов хронічної внутрішньоутробної гіпоксії ($n = 7$).

З використанням гістологічного методу залили 88 парафінових блоків, з яких на мікротомі виготовили зрізи 5-6 мкм завтовшки у кількості 271 зразок, 171 з яких надалі забарвлювали гематоксиліном та еозином, за методами Маллорі та Ван Гізона, а 100, що залишилися, обробили моноклональними антитілами до тироксину, колагенів I та III типів, фактору некрозу пухлини та інтерлейкіну-6 у базовій методиці імунофлуоресцентного аналізу за непрямим методом Кунса. Під час мікроморфологічного методу через використання мікроскопа Carl Zeiss PrimoStar встановили наявність щитовидних залоз у зразках та зробили серію мікрофотографій на збільшеннях $\times 40$, $\times 100$ та $\times 400$ камерою Carl Zeiss AxioCam 105 у програмному забезпеченні ZEN Blue Edition (версія 2.0) загальною кількістю 813 знімків.

З дотриманням вимог блокової рандомізації методом морфометрії у програмному забезпеченні ImageJ (версії 1.52a-1.52o) виміряли 7 гістоструктурних параметрів щитовидної залози нащадків, а саме – площу фолікула (S_{fol} , мкм^2), діаметр фолікула (D_{fol} , мкм), висоту тироцита (H_{thy} , мкм), площу тироцита (S_{thy} , мкм^2), площу цитоплазми (S_{cyt} , мкм^2); площу ядра (S_{nuc} , мкм^2) з подальшим розрахунком ядерно-цитоплазматичного відношення (NCR). При цьому для визначення середніх значень площі та діаметра фолікула виконали 120 замірів у 10 полях зору для кожного зразка, а для визначення середніх значень висоти та площі тироцита разом з площами цитоплазми та ядра – 210 замірів у 10 полях зору для кожного зразка, що склало 12000 замірів загалом.

Імунофлуоресцентним методом, через визначення оптичної щільності (ODF, у.о.) та площі флуоресценції (SF, піксель) за допомогою люмінесцентного мікроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL, фотографування полів зору цифровою фотокамерою Canon A520 у кількості 200 знімків та

використання програми ImageJ, дослідили 5 молекулярних маркерів морфофункціонального стану щитовидної залози, а саме – тироксин, колагени I та III типів, фактор некрозу пухлини, інтерлейкін-6 на збільшеннях $\times 100$, $\times 250$ та $\times 600$.

Під час статистичного аналізу, який виконували у програмному середовищі для статистичних обчислень RStudio мовою R (ліцензія: GNU GPL v2) з підключенням пакетів ggplot2, dplyr, pastecs та graphics, виявили міри центральної тенденції та мінливості набору даних, перевірили гіпотезу про нормальність розподілення тестом Шапіро-Уїлка, перевірили рівність дисперсій між вибірками критерієм Бартлетта, нормалізували дані за методом Бокса-Кокса, порівняли середні значення кількісних ознак кожного морфофункціонального показника між групами та визначили, чи існують статистично значущі відмінності між змінними, через застосування однофакторного дисперсійного аналізу. Для контролю групової ймовірності помилки виконали апостеріорні порівняння за методом Бонферроні та провели тест Т'юкі Honest Significant Difference з візуалізацією. Нульову гіпотезу про відсутність відмінностей між групами відкидали у тому випадку, коли вірогідність помилки (p) не перевищувала помилку першого роду, що була встановлена за 0,001 ($p < 0,001$). Також для кожної змінної визначали порогову патологічну величину (TPV), що характеризує кількісне граничне значення морфофункціонального параметра та визначає патологічний тренд (РТ), який вказує на динаміку змін у часі.

Результати аналізу засвідчили, що у щитовидній залозі плодів щурів, які розвивалися в умовах як субклінічних бактеріальних материнсько-плодових інфекцій, так і хронічної внутрішньоутробної гіпоксії порівняно з негативним контролем формуються зміни, які, по-перше, відповідають підвищенню секреторної активності залози, на що вказують: зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу (РТ↓, TPV: $0,651 \pm 0,091$ проти $1,112 \pm 0,067$; $p < 0,001$), збільшення висоти (РТ↑, TPV: $10,353 \pm 0,077$ проти $5,934 \pm 0,07$; $p < 0,001$) та площі тироцита (РТ↑, TPV: $56,506 \pm 0,332$ проти $20,833 \pm 0,587$; $p < 0,001$), посилення

інтенсивності флуоресценції тироксину ($PT\uparrow$, $TPV: 85,53 \pm 0,132$ проти $79,82 \pm 0,199$; $p < 0,001$) та збільшення її площі ($PT\uparrow$, $TPV: 133376,7 \pm 709,907$ проти $129090,4 \pm 544,064$; $p < 0,001$) у препаратах, оброблених відповідними моноклональними антитілами. По-друге, засвідчили прискорення темпів визрівання щитовидної залози через збільшення діаметра фолікула ($PT\uparrow$, $TPV: 17,655 \pm 0,641$ проти $16,213 \pm 0,661$; $p < 0,001$) та посилення інтенсивності флуоресценції колагену I типу ($PT\uparrow$, $TPV: 51,915 \pm 0,234$ проти $33,842 \pm 0,158$; $p < 0,001$).

Крім того, результати вказали на подібність між собою морфофункціональних змін у щитовидній залозі новонароджених, які розвивалися в умовах субклінічних бактеріальних материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, а також – хронічної внутрішньоутробної гіпоксії. Порівнюючи з негативним контролем, ми відмітили помірне зменшення функціональної напруги органа, якому морфологічно відповідають зменшення середніх значень висоти тироцита ($PT\downarrow$, $TPV: 7,635 \pm 0,032$ проти $8,191 \pm 0,027$; $p < 0,001$) та його площі ($PT\downarrow$, $TPV: 33,656 \pm 0,215$ проти $36,923 \pm 0,098$; $p < 0,001$), а також зниження оптичної щільності флуоресценції тироксину ($PT\downarrow$, $TPV: 82,66 \pm 0,213$ проти $85,911 \pm 0,274$; $p < 0,001$); прискорення передчасного дозрівання органа, що відбилося збільшенням діаметра фолікула ($PT\uparrow$, $TPV: 29,603 \pm 0,097$ проти $25,157 \pm 0,112$; $p < 0,001$) та оптичної щільності колагенів III ($PT\uparrow$, $TPV: 61,268 \pm 0,115$ проти $47,94 \pm 0,176$; $p < 0,001$) та I типів ($PT\uparrow$, $TPV: 63,131 \pm 0,174$ проти $55,173 \pm 0,268$; $p < 0,001$). Крім того, реєстрували прямі ознаки клітинного пошкодження, а саме – підвищення рівня оптичної щільності флуоресценції клітин-продуцентів фактору некрозу пухлини ($PT\uparrow$, $TPV: 57,264 \pm 0,084$ проти $31,24 \pm 0,321$; $p < 0,001$) та інтерлейкіна-6 ($PT\uparrow$, $TPV: 60,239 \pm 0,293$ проти $37,016 \pm 0,155$; $p < 0,001$).

Відтак, новизна роботи полягає в наступному. Вперше на експериментальному матеріалі, а саме щитовидних залозах плодів та новонароджених щурів, які розвивалися за умов субклінічних бактеріальних

материнсько-плодових інфекції, що спричинені окремо *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії, в результаті комплексного патоморфологічного дослідження зареєстровані морфофункціональні зміни, що виникають у компонентах органа на тлі вищезазначених станів. Встановлені й порівняні характер, ступінь виразності та динаміка цих змін в залежності від гестаційного віку та фактору впливу.

Уперше сформульовано концепцію про вплив бактеріальної материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, згідно з якою спочатку відбувається вивільнення патоген-асоційованих молекулярних патернів в організмі матері, що потрапляють до плацентарного кровотоку й організму плода, активують місцевий імунітет та TLR-опосередкований сигнальний шлях, через який реалізовується вроджена імунна відповідь та змінюється місцевий цитокіновий профіль унаслідок вивільнення медіаторів запалення. Затим відбувається активація апоптичних та некроптичних каскадів через взаємодію з білками домену смерті та каспазами, пошкоджується клітинний компартмент органа, що призводить до дисфункції залози на молекулярному рівні. Морфологічно це підтверджується тим, що у плодів посилюється проліферація тироїдного епітелію (збільшуються висота та площа тироцита, діаметр фолікула) та визрівання строми (збільшується площа та оптична щільність флуоресценції колагену III типу), підвищується синтетична активність тироцитів (збільшуються площа та оптична щільність флуоресценції тироксину); пізніше у новонароджених синтетична активність тироцитів послаблюється (зменшується оптична щільність флуоресценції тироксину), але продовжують посилюватися проліферація епітелію (збільшуються площа флуоресценції тироксину та діаметр фолікула) та визрівання строми (збільшуються площа та оптична щільність флуоресценції колагенів I та III типів), з'являються молекулярні ознаки клітинного пошкодження (реєструються високі показники оптичної щільності та площі флуоресценції інтерлейкіну-6 та фактору некрозу пухлини). Це призводить до

виснаження місцевого вродженого імунітету, що є основою адаптивно-компенсаторного резерву щитовидної залози, та формує морфогенетичний потенціал для автоімунних та онкологічних захворювань цього органа у нащадків.

Уперше розроблено доказовий спосіб комплексної патоморфологічної діагностики впливу материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків на експериментальному матеріалі з використанням цифрової морфометрії, імунофлуоресцентного аналізу, програми для аналітичної роботи з зображеннями ImageJ та програмного середовища для статистичних обчислень RStudio, з використанням мови R, визначені головні морфофункціональні параметри щитовидної залози: для плодів – це площа та діаметр фолікула, висота та площа тироцита, площі ядра та цитоплазми, ядерно-цитоплазматичне відношення, показники оптичної щільності та площі флуоресценції тироксину і колагену I типу; для новонароджених – це площа та діаметр фолікула, висота та площа тироцита, показники оптичної щільності та площі флуоресценції колагенів I та III типів, інтерлейкіну-6 та фактору некрозу пухлини.

Розширено та доповнено відомі теоретично-прикладні положення про патологічну анатомію плода та новонародженого при материнсько-плодовій інфекції. Набуло подальшого розвитку знання про односпрямованість морфологічних і функціональних змін в організмі плода, що пов'язані з субклінічними бактеріальними материнсько-плодовою інфекцією та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії. З огляду на інтенсивність морфологічних змін, уточнено, що найнебезпечнішою інфекцією серед тих, які досліджувалися, для тиреоїдного органогенезу нащадків є материнсько-плодова інфекція, що спричинена *Staphylococcus aureus*.

Ключові слова: морфофункціональний стан, щитоподібна залоза, щур, плід, новонароджений, материнсько-плодова інфекція, гіпоксія, перинатальний період.

SUMMARY

Talapova PS. The influence of maternal-fetal infection on the morphofunctional state of the thyroid gland of offspring. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

The thesis for the scientific degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 “Health” in the specialty 222 “Medicine”, specialization of “Pathological anatomy”. - Kharkiv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2022.

The defense of the thesis will take place on the specialized educational council of Kharkiv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, 2022.

The dissertation is devoted to the comprehensive determination of the influence of maternal-fetal infection on the morphofunctional state of the thyroid gland of offspring and the development of a method for morphological diagnosis of mentioned pathology.

Nowadays, intrauterine infections account for 11 to 45% of the structure of perinatal mortality in Ukraine, which has a clear negative impact on the local socioeconomic status. However, many bacterial infections in pregnant women are subclinical or even asymptomatic, which makes it impossible to use classical methods of diagnosis of this pathology in fetuses and newborns that died suddenly. On the other hand, there is still a lack of knowledge about the morphofunctional dynamics of the thyroid gland during organogenesis under maternal-fetal infections in the perinatal period.

Therefore, the aim of the study was to improve the diagnosis of bacterial maternal-fetal infection with a subclinical course by determining its effect on the morphofunctional state of the thyroid gland of progeny based on an experimental pathomorphological study with block randomization.

To achieve the goal, we used experimental modeling comprising 209 Wistar Albino Glaxo rats; block randomization, somatometric, macromorphological,

histological, micromorphological, immunohistochemical, statistical methods, and digital environment.

Using an experimental method with the participation of 95 female and 25 male rats we reproduced bacterial maternal-fetal infections with a subclinical course caused separately by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Klebsiella pneumoniae*, as well as chronic intrauterine hypoxia and physiological pregnancy. As a result, 88 rat offspring were obtained (43 fetuses and 45 newborns). Using the somatometric method, the average weight (fetuses – $4,197 \pm 0,437$ g | newborns – $5,648 \pm 0,478$ g), body length (fetuses – $4,140 \pm 0,379$ cm | newborns – $5,378 \pm 0,162$ cm) and tail length (fetuses – $1,331 \pm 0,088$ cm | newborns – $1,675 \pm 0,156$ cm) of rat offspring were determined.

The anatomical location of the thyroid gland in progeny was determined by the macromorphological method, and 88 tissue fragments containing the thyroid along with the esophagus, trachea, cartilage (thyroid or cricoid), and other adjacent tissues were prepared.

The extracted samples were divided into 10 groups by age and exposure during pregnancy: 1 – fetuses of the negative control group, which developed under physiological pregnancy ($n = 10$), 2 – fetuses with the maternal-fetal infection caused by *Escherichia coli* ($n = 10$), 3 – fetuses with the maternal-fetal infection caused by *Staphylococcus aureus* ($n = 8$), 4 – fetuses with the maternal-fetal infection caused by *Klebsiella pneumoniae* ($n = 9$), 5 – fetuses of the positive control group exposed to chronic intrauterine hypoxia ($n = 6$), 6 – newborns of the negative control group that developed under physiological pregnancy ($n = 13$), 7 – newborns with the maternal-fetal infection caused by *Escherichia coli* ($n = 7$), 8 – newborns with the maternal-fetal infection caused by *Staphylococcus aureus* ($n = 7$), 9 – newborns with the maternal-fetal infection caused by *Klebsiella pneumoniae* ($n = 7$), 10 – newborns of the positive control group that developed under chronic intrauterine hypoxia ($n = 7$).

Using the histological method, 88 paraffin blocks were prepared, from which sections 5-6 μm were made on a microtome in the amount of 271 samples, 171 of which were further stained with hematoxylin and eosin, by methods of Mallory and

Van Gieson; the remaining 100 samples were treated with monoclonal antibodies to thyroxine, collagen types I and III, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 for the immunofluorescence analysis by the indirect Coons' method.

During the micromorphological method by using a Carl Zeiss PrimoStar microscope, the presence of thyroid glands was determined in the samples, a series of microphotographs was taken at $\times 40$, $\times 100$ and $\times 400$ magnifications with a Carl Zeiss Axiocam 105 camera in ZEN Blue Edition software (version 2.0) with a total number of 813 images.

In compliance with the requirements of block randomization, by morphometry in the ImageJ software (versions 1.52a-1.52o), 7 histostructural parameters of the offspring's thyroid glands were determined, namely – follicle surface area (S_{fol} , μm^2), follicle diameter (D_{fol} , μm), thyrocyte height (H_{thyr} , μm), thyrocyte surface area (S_{thyr} , μm^2), cytoplasm surface area (S_{cyt} , μm^2); the surface area of the nucleus (S_{nuc} , μm^2) with the subsequent calculation of the nuclear-cytoplasmic ratio (NCR). To determine the average values of the surface area and diameter of the follicle, 120 measurements were performed in 10 fields of view for each sample. To determine the average values of height and surface area of the thyrocyte together with the surface areas of cytoplasm and nucleus – 210 measurements in 10 fields of view for each sample – 12000 measurements in total.

Using the immunofluorescence method, we determined the optical density (ODF, U) and the surface area of the fluorescence (SF , $pixel^2$) of thyroxine, collagen types I and III, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6 at magnifications $\times 100$, $\times 250$ and $\times 600$ using a fluorescent microscope Carl Zeiss Axioskop 40 FL, photography of the fields of view with a digital camera Canon A520 in the amount of 200 images of the thyroid gland and the image analysis program of ImageJ.

During the statistical analysis performed in the software environment for statistical calculations RStudio in R (license: GNU GPL v2) with packages ggplot2, dplyr, pastecs, and graphics, measures of the central trend and variability of the data set were identified, the hypothesis of normality was tested by Shapiro-Wilk's method. Furthermore, we checked the equality of variances between samples by Bartlett's test,

normalized data by the Box-Cox method, compared the average values of quantitative traits of each morphofunctional parameter between the groups, and determined whether there are statistically significant differences between variables by one-way analysis of variance. To control the group probability of error, multiple comparison test was performed in the Bonferroni method along with Tukey HSD visualization. The null hypothesis of no differences between groups was rejected in the case when the probability of error did not exceed Type I error, which was set at 0,001 ($p < 0,001$). Besides, for each variable, the threshold pathological value (TPV) was determined, which characterizes the quantitative limit value of the morphofunctional parameter and determines the pathological trend (PT), which indicates the dynamics of changes in time.

The results of the analysis showed that in the thyroid gland of rat fetuses that developed under either subclinical bacterial maternal-fetal infections or chronic intrauterine hypoxia, compared to the negative control, there are changes, which, firstly, correspond to the increase in the secretory activity of the gland, which is indicated by: the decrease in the nuclear-cytoplasmic ratio (PT↓, TPV: $0,651 \pm 0,091$ vs. $1,112 \pm 0,067$; $p < 0,001$), the increase in height (PT↑, TPV: $10,353 \pm 0,077$ vs. $5,934 \pm 0,07$; $p < 0,001$) and thyrocyte surface area (PT↑, TPV: $56,506 \pm 0,332$ vs. $20,833 \pm 0,587$; $p < 0,001$), the increase in the intensity of thyroxine fluorescence (PT↑, TPV: $85,53 \pm 0,132$ vs. $79,82 \pm 0,199$; $p < 0,001$) and in its surface area (PT↑, TPV: $133376,7 \pm 709,907$ vs. $129090,4 \pm 544,064$; $p < 0,001$) in preparations treated with the corresponding monoclonal antibodies. Secondly, there was evidence of an acceleration of thyroid maturation due to an increase in follicle diameter (PT↑, TPV: $17,655 \pm 0,641$ vs. $16,213 \pm 0,661$; $p < 0,001$) and an increase in the fluorescence intensity of type I collagen (PT↑, TPV: $51,915 \pm 0,234$ vs. $33,842 \pm 0,158$; $p < 0,001$).

Likewise, the results indicated the similarity of morphofunctional changes in the thyroid gland of newborns, which developed under conditions of subclinical bacterial maternal-fetal infections caused by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Klebsiella pneumoniae*, as well as chronic intrauterine hypoxia. Compared with the negative control, we noted a moderate decrease in the functional activity of the

organ, which morphologically corresponds to the following: moderate decrease in the functional tension of the organ in the form of a decrease in average values of thyrocyte height (PT↓, TPV: $7,635 \pm 0,032$ vs. $8,191 \pm 0,027$; $p < 0,001$) and its surface area (PT↓, TPV: $33,656 \pm 0,215$ vs. $36,923 \pm 0,098$; $p < 0,001$), as well as a decrease in the optical density of thyroxine fluorescence (PT↓, TPV: $82,66 \pm 0,213$ vs. $85,911 \pm 0,274$; $p < 0,001$), acceleration of premature maturation of the organ, which was reflected by the increase in follicle diameter (PT↑, TPV: $29,603 \pm 0,097$ vs. $25,157 \pm 0,112$; $p < 0,001$) and optical density of type III collagen (PT↑, TPV: $61,268 \pm 0,115$ vs. $47,94 \pm 0,176$; $p < 0,001$) and type I (PT↑, TPV: $63,131 \pm 0,174$ vs. $55,173 \pm 0,268$; $p < 0,001$) fluorescence. In addition, direct signs of cell damage were recorded in the form of the increase in the fluorescence optical density of cells producing tumor necrosis factor-alpha (PT↑, TPV: $57,264 \pm 0,084$ vs. $31,24 \pm 0,321$; $p < 0,001$) and interleukin-6 (PT↑, TPV: $60,239 \pm 0,293$ vs. $37,016 \pm 0,155$; $p < 0,001$).

Therefore, *the novelty of the work* is as follows. For the first time, on experimental material, namely thyroid glands of fetuses and newborn rats, which developed under the subclinical bacterial maternal-fetal infections caused separately by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Klebsiella pneumoniae*, and chronic intrauterine hypoxia, as a result of a complex pathomorphological study, the changes occurring in the components of the organ against the background of the above-mentioned conditions were determined. The nature, the degree of severity, and dynamics of these changes depending on the gestational age and the influencing factor were established and compared with each other.

For the first time, the concept of the influence of bacterial maternal-fetal infection on the morphofunctional state of the thyroid gland of offspring was formulated, according to which pathogen-associated molecular patterns are first released in the mother's body, then enter the placental bloodstream and the body of the fetus, activate local immunity and the TLR-mediated signaling pathway, through which the innate immune response is implemented and the local cytokine profile changes due to the release of inflammatory mediators. Then apoptotic and necroptotic cascades are activated through interaction with death domain proteins and caspases,

therefore the cellular compartment of the organ is damaged – this leads to the thyroid dysfunction at the molecular level. Morphologically, this is confirmed by the fact that in fetuses, the proliferation of the thyroid epithelium increases (the height and surface area of the thyrocyte, the diameter of the follicle increase) and the maturation of the stroma (the surface area and optical density of the fluorescence of type III collagen increases), the synthetic activity of thyrocyte increases (the surface area and the optical density of the fluorescence of thyroxine increase); later, in newborns, the synthetic activity of thyrocyte weakens (the optical density of thyroxine fluorescence decreases), but the proliferation of the epithelium continues to increase (the surface area of thyroxine fluorescence and the diameter of the follicle increase) and the maturation of the stroma (the surface area and optical density of collagen types I and III increase), molecular signs of cell damage (high values of optical density and fluorescence surface area of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha are registered). This leads to depletion of local innate immunity, which is the basis of the adaptive and compensatory reserve of the thyroid gland, and forms the morphogenetic potential for autoimmune and oncological diseases of this organ in progeny.

For the first time, a proven method of complex pathomorphological diagnosis of the influence of maternal-fetal infection on the morphofunctional state of the thyroid gland of offspring was developed on experimental material using digital morphometry, immunofluorescence analysis, a program for processing and analyzing scientific images ImageJ and a software environment for statistical calculations RStudio, using the R language; The main morphofunctional parameters of the thyroid gland were determined: for fetuses – the surface area and diameter of the follicle, the height and surface area of the thyrocyte, the surface area of the nucleus and cytoplasm, the nuclear-cytoplasmic ratio, optical density and surface area of fluorescence of thyroxine and type I collagen; for newborns – the surface area and diameter of the follicle, the height and surface area of the thyrocyte, metrics of optical density and surface area of fluorescence of collagen types I and III, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha.

The available theoretical and applied knowledge on the pathological anatomy of the fetus and newborn in case of maternal-fetal infection have been expanded and supplemented. The comprehension of the unidirectionality of morphological and functional changes in the fetal body associated with subclinical bacterial maternal-fetal infection and chronic intrauterine hypoxia has been further developed. Considering the intensity of morphological changes, it was elucidated that the maternal-fetal infection caused by *Staphylococcus aureus* is the most dangerous among those studied for thyroid organogenesis.

Keywords: morphofunctional state, thyroid gland, rat fetus, newborn, maternal-fetal infection, hypoxia, perinatal period.

ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Праці, в яких опубліковані основні результати дисертації

1. Талапова ПС. Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків. Проблеми ендокринної патології. 2021;76(2):93-101. doi:10.21856/j-PER.2021.2.13.

2. Талапова ПС, Сорокіна ІВ. Морфофункціональний стан щитовидної залози плода на тлі материнсько-плодових інфекцій, спричинених *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*. Патологія. 2021;51(1):86-95. doi:10.14739/2310-1237.2021.1.216292 *(Дисертантка розробила концепцію та дизайн дослідження, збирила дані, провела аналіз та інтерпретацію даних, написала статтю та підготувала її до друку).*

3. Талапова ПС, Товажнянська ВД, Сорокіна ІВ. Патоморфологічна діагностика шкідливого впливу материнсько-плодових інфекцій, що викликані *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, та *Klebsiella pneumoniae*, на щитовидні та надниркові залози нащадків (мініюгляд). Український науково-медичний молодіжний журнал. 2021;123(2):25. *(Дисертантка разом зі співавторами провела забір та вивчення експериментального матеріалу, провела аналіз та інтерпретацію даних, написала мініюгляд та підготувала його до публікації).*

4. Talapova PS, Sorokina IV, Markovsky VD, Sakal AO, Tovazhnyanska VD, Zveryeva IS. The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring. J Human Anat 2021, 5(1):1-7. doi:10.23880/jhua-16000156. *(Дисертантка разом зі співавторами сформулювала концепцію роботи, самостійно провела забір щитовидних залоз, визначила та описала морфологічні зміни в них, визначила основні морфологічні критерії діагностики патології, що вивчається, написала текст статті та підготувала її до друку).*

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

5. Талапова ПС. Вплив хронічної внутрішньоутробної гіпоксії на морфофункціональний стан щитовидної залози плода щурів (експериментальне дослідження) [тези доп.]. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментально-клінічної ендокринології» (Дев'ятнадцяті Данилевські читання); 2020 лют. 27-28; Харків, Україна. Харків; 2020. Т.1. с. 164.

6. Талапова ПС. Морфометричні показники щитовидної залози плода від матері з колі-інфекцією [тези доп.]. В: Збірка матеріалів конференції «Медицина третього тисячоліття»; 2020 січ 20-22; Харків; 2019. Т1. с. 74.

7. Талапова ПС. Морфофункціональні особливості щитовидної залози плода за умов материнсько-плодової інфекції, спричиненої *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* (експериментальне дослідження) [тези доп.]. В: XVII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини», яка присвячена 215-річчю заснування медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна; 2020 бер 26-27; м. Харків, Україна. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2020. Т1. с. 234.

8. Talapova PS, Sorokina IV. A method for morphofunctional evaluation of the thyroid gland in a PhD research project [poster]. ORPHEUS Conference; 2021 apr 22; Braga, Portugal. Braga: School of Medicine, University of Minho; 2021. p.34.

9. Talapova PS. Histomorphometric and immunohistochemical analysis of the thyroid gland of rat offspring developing under the maternal-fetal *Staphylococcal* infection [abstract]. The 18th International Scientific Conference of Students, Young Scientists and Specialists "Topical issues of modern medicine". 2021 Apr 22-23. Kharkiv, 2021; с. 258-259.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
SUMMARY.....	9
ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	16
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	21
ВСТУП.....	24
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	33
1.1 Материнсько-плодові інфекції та їхній вплив на організм нащадків.....	33
1.1.1 Термінологія материнсько-плодових інфекцій.....	33
1.1.2 Епідеміологія, етіопатогенез та патологічна анатомія материнсько-плодових інфекцій	34
1.1.3 Методи діагностики материнсько-плодових інфекцій.....	39
1.1.4 Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae та Staphylococcus aureus як чинники материнсько-плодових інфекцій.....	39
1.1.4.1 Загальна характеристика збудника Escherichia coli.....	40
1.1.4.2 Загальна характеристика збудника Staphylococcus aureus.....	44
1.1.4.3 Загальна характеристика збудника Klebsiella pneumoniae.....	47
1.2 Хронічна внутрішньоутробна гіпоксія та її зв'язок із внутрішньоутробними інфекціями.....	49
1.2.1 Термінологія та класифікація внутрішньоутробної гіпоксії....	49
1.2.2 Патогенез та патологічна анатомія хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.....	52
1.3 Сучасний погляд на органогенез щитовидної залози.....	55
1.3.1 Ембріологія щитовидної залози.....	56
1.3.2 Нормальна анатомія щитовидної залози.....	57
1.3.3 Гістологія щитовидної залози.....	58
1.3.4 Фізіологія щитовидної залози.....	61

1.4	Порівняльна характеристика органогенезу щитовидних залоз людини та щура.....	62
	Висновки до розділу 1.....	64
РОЗДІЛ 2	ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	66
2.1	Дизайн дослідження	66
2.2	Формування груп експериментального дослідження	69
2.3	Експериментальне моделювання материнсько-плодової інфекції та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.....	71
2.4	Патоморфологічне дослідження щитовидної залози нащадків.....	76
2.4.1	Формування груп патоморфологічного дослідження.....	78
2.4.2	Методика виконання розгорнутої морфометрії щитовидної залози нащадків.....	78
2.4.3	Методика проведення імунофлуоресцентного дослідження....	81
2.5	Алгоритм статистичного дослідження.....	82
2.6	Рандомізація під час дослідження.....	84
2.7	Дотримання етичних аспектів.....	86
	Висновки до розділу 2.....	87
РОЗДІЛ 3	ВИЗНАЧЕННЯ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЩИТОВИДНИХ ЗАЛОЗ НАЩАДКІВ ЩУРІВ У НОРМІ, ЗА УМОВ СУБКЛІНІЧНОЇ МАТЕРИНСЬКО-ПЛОДОВОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ХРОНІЧНОЇ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ГІПОКСІЇ.....	89
3.1	Результати патоморфологічного дослідження щитовидних залоз нащадків	89
3.1.1	Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків щурів, що розвивалися за умов фізіологічної вагітності.....	90

3.1.2	Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків шурів, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, що спричинена <i>Escherichia coli</i>	96
3.1.3	Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, що спричинена <i>Staphylococcus aureus</i>	101
3.1.4	Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, що спричинена <i>Klebsiella pneumoniae</i>	108
3.1.5	Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, які розвивалися в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії	113
Висновки до розділу 3.....		120
РОЗДІЛ 4	АНАЛІЗ ТА МОРФОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ВПЛИВУ МАТЕРИНСЬКО-ПЛОДОВОЇ ІНФЕКЦІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ НАЩАДКІВ	122
4.1	Аналіз впливу материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків	122
4.2	Диференційна статистично-морфологічна діагностика впливу материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків.....	133
Висновки до розділу 4.....		135
РОЗДІЛ 5	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	137
ВИСНОВКИ.....		155
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....		160
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....		161
ДОДАТКИ.....		196

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Col1 – Collagen type 1, колаген I типу;

Col3 – Collagen type 3, колаген III типу;

Dfol – Diameter of the follicle, діаметр фолікула;

E. coli – Escherichia coli, ешерихія колі;

FC – «Fetuses, control» – група ЩЗ здорових плодів, негативний контроль;

FCIH – «Fetuses, chronic intrauterine hypoxia» – група ЩЗ плодів, що розвивалися за умов хронічної внутрішньоутробної гіпоксії, позитивний контроль;

FEC – «Fetuses, E. coli» – група ЩЗ плодів, що розвивалися за умов МПІ, яка спричинена E. coli;

FKP – «Fetuses, K. pneumoniae» – група ЩЗ плодів, що розвивалися за умов МПІ, яка спричинена K. pneumoniae;

FSA – «Fetuses, S. aureus» – група ЩЗ плодів, що розвивалися за умов МПІ, яка спричинена S. aureus;

H&E – Гематоксилін та еозин;

HSD – Honestly significant difference, чесно істотна різниця;

IL6 – Interleukin-6, інтерлейкін-6;

K. pneumoniae – Klebsiella pneumoniae, клебсієла пневмонії;

MC – «Mothers, control», група самиць щурів, в організмі яких моделювалася МПІ, що спричинена K. pneumoniae;

MCIH – «Mothers, chronic intrauterine hypoxia» – група самиць щурів, в організмі яких моделювалася хронічна внутрішньоутробна гіпоксія;

MES – «Mothers, E. coli» – група самиць щурів, в організмі яких моделювалася МПІ, що спричинена E. coli;

MKP – «Mothers, K. pneumoniae» – група самиць щурів, в організмі яких моделювалася МПІ, що спричинена K. pneumoniae;

MSA – «Mothers, *S. aureus*» – група самиць щурів, в організмі яких моделювалася МПІ, що спричинена *S. aureus*;

NC – «Newborns, control» – група ЩЗ від здорових новонароджених, негативний контроль;

NCIH – «Newborns, chronic intrauterine hypoxia» – група ЩЗ новонароджених, що розвивалися за умов хронічної внутрішньоутробної гіпоксії, позитивний контроль;

NCR – Nuclear-cytoplasmic ratio, ядерно-цитоплазматичне відношення;

NEC – «Newborns, *E. coli*» – група ЩЗ новонароджених, що розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, що спричинена *E. coli*;

NKP – «Newborns, *K. pneumoniae*» – група ЩЗ новонароджених, що розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, яка спричинена *K. pneumoniae*;

NSA – «Newborns, *S. aureus*» – група ЩЗ новонароджених, що розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, яка спричинена *S. aureus*;

ODF – Optical density of the fluorescence, оптична щільність флуоресценції;

p – Вірогідність помилки;

PT – Pathological trend, патологічний тренд;

S – Surface area, площа;

S. pneumoniae – *Staphylococcus aureus*, золотистий стафілокок;

Scyt – Surface area of the cytoplasm, площа цитоплазми;

SF – Surface area of the fluorescence, площа флуоресценції;

Sfol – Surface area of the follicle, площа фолікула;

Snuc – Surface area of the nucleus, площа ядра;

SQL – Structured query language, мова структурованих запитів;

Sthyр – Surface area of the thyrocyte, площа тироцита;

T3 – L-3,5,3'-triiodothyronine, трийодтиронін;

T4 – L-3,5,3',5'-tetraiodothyronine, тироксин;

TLR – Toll-like receptor, толл-подібний рецептор;

TNF – або TNF- α , фактор некрозу пухлини;

TNFR – Tumor necrosis factor receptor, рецептор фактору некрозу пухлини;
TPV – Threshold pathological value, порогова патологічна величина;
WAG – Wistar Albino Glaxo, щури-альбіноси породи Вістар Глаксо;
ВГ – Внутрішньоутробна гіпоксія;
ВО – Внутрішньоочеревинно;
ВУІ – Внутрішньоутробна інфекція;
ІФД – Імунофлуоресцентне дослідження;
мм рт. ст. – Міліметр ртутного стовпа;
МоАт – Моноклональні антитіла;
МПІ – Материнсько-плодова інфекція;
МТ – Морфогенетичний тренд;
ТГ – Тиреоглобулін;
ТРГ – Тиреотропін-релізінг-гормон, або тиреорелін;
ТТГ – Тиреотропний гормон;
ХВГ – Хронічна внутрішньоутробна гіпоксія;
ХНМУ – Харківський національний медичний університет;
ЩЗ – Щитовидна залоза.

ВСТУП

Актуальність теми. У часи військових конфліктів, зміни глобального клімату, природних катаклізмів та пандемії COVID-19, гарантією існування людської цивілізації є здоров'я її нащадків. Саме тому патологія перинатального періоду досі становить значний інтерес серед лікарів. Крім того, вивчення її морфологічного субстрату за тих чи інших патологічних умов дозволяє розробляти новітні методи профілактики та своєчасної діагностики різноманітних захворювань у дітей.

Протягом багатьох років перинатальна патологія є головним напрямком науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету (ХНМУ), спрямованої на збереження здоров'я нащадків та забезпечення позитивного показника приросту населення, і, як наслідок, покращення демографічної ситуації в Україні попри складні соціально-політичні умови.

Численні наукові дослідження кафедри довели, що патологія матері, а також вагітність, перебіг якої був ускладнений, має безперечний негативний вплив на організм нащадків. Впродовж минулих років були виявлені морфофункціональні зміни в органах імунної [1, 2, 3], серцево-судинної [4, 5, 6], ендокринної [7], нервової [8, 9] систем, а також у печінці [10, 11], підшлунковій залозі [12], сім'яних залозах [13], нирках [14] плодів та новонароджених від матерів з вагітністю, ускладненою артеріальною гіпертензією, цукровим діабетом, хронічним гломерулонефритом, анемією, слабкістю родової діяльності, затримкою внутрішньоутробного розвитку плода, прееклампсією та еклампсією, гострою або хронічною внутрішньоутробною гіпоксією (ХВГ), а також внутрішньоутробними інфекціями (ВУІ). Разом з цим, інтерес медичної спільноти прикутий до інфекційної патології антенатального періоду, що займає провідне місце серед причин перинатальної смертності у світі [15].

До недавніх пір вчені вважали, що збудниками ВУІ виступають переважно віруси [16], проте все частіше реєструються випадки внутрішньоутробної загибелі плода через бактеріальні інфекції, зокрема через ті, що спричинені *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) або *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) [17, 18, 19]. Також реєструється зростання питомої ваги жінок, вагітність яких перебігає на тлі хронічних інфекційних захворювань [20]. Відтак, ця патологія потребує подальшого вивчення задля зменшення негативних наслідків відсутності діагностичної настороженості серед лікарів на рахунок хронічних та асимптоматичних бактеріальних інфекцій серед вагітних жінок.

З літературних джерел відомо, що інфекційна патологія у вагітної жінки зумовлює високу частоту ускладнень під час вагітності та пологів [22]. Так, наприклад, вона нерідко призводить до плацентарної недостатності, частота якої, за даними різних вчених, становить 50-70% [23]. Присутність у вагітної осередків інфекції, особливо прихованої, є фактором ризику для розвитку ВУІ [24]. При цьому частота інфікування плода коливається від 10 до 60%, а серед недоношених сягає 70% [25]. Поряд з гострим перебігом інфекції у плода може спостерігатися тривала персистенція збудника з формуванням латентного хронічного інфекційного процесу [26, 27].

У новонароджених, що розвивалися за умов материнсько-плодових інфекцій (МПП), протягом всього неонатального періоду зберігаються і наростають ендотеліальна, нейроендокринна та імунологічна дисфункції, що можуть в подальшому житті призводити до розвитку автоімунної патології [23]. Проспективні спостереження, проведені вітчизняними та закордонними дослідниками, показали, що у таких дітей у більш пізні терміни діагностуються різного роду відхилення: важка енцефалопатія з розвитком мікроцефалії або гідроцефалії, дефекти слуху, зору, зубів, дисплазії різних органів, дитячий церебральний параліч, відставання у розумовому розвитку, порушення поведінки, погана успішність у школі тощо [28, 29].

Наразі, задля розробки комплексних критеріїв діагностики розвитку МПІ у потомства, співробітниками кафедри патологічної анатомії ХНМУ вже було досліджено морфологічний статус великих судин – аорти та легеневої артерії [30], гепатобіліарної [31], адреналової [32] та сечовидільної систем [33] на тлі внутрішньоматкової інфекції, що спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*. Проте одним з органів нащадків, що досі залишаються не вивченими, є щитовидна залоза (ЩЗ), яка відіграє вкрай важливу роль у процесі онтогенезу, а особливо, – у становленні центральної нервової системи (ЦНС) [34, 35].

Доцільність проведення аналогічного дослідження підтверджується великою кількістю відомих експериментальних моделей, метою яких було визначення особливостей мікроархітекτονіки ЩЗ за різних етіопатогенетичних умов порівняно з фізіологічним станом [36, 37]. Здебільшого, за експериментальних тварин для цього використовують щурів, адже 95% їхнього геному подібні до людського [38, 39]. Водночас для оцінки морфофункціонального стану органів та систем людини впродовж перинатального періоду, вважається доречним вивчати зміни в органах саме щурячих плодів [40, 41]. Отже, дослідження, спрямоване на вивчення впливу бактеріальної МПІ на щитовидну залозу нащадків є вкрай актуальним, а його результати мають безсумнівне як наукове, так і практичне значення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертація виконана згідно з комплексним планом наукових досліджень ХНМУ та є складовою частиною планової науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії: *«Патологічна анатомія плода та новонародженого при материнсько-плодовій інфекції»* (№ держреєстрації 0120U102023). Дисертантка є безпосереднім виконавцем її фрагмента. Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Харківського національного медичного університету від 19.10.2017 р. (протокол № 10).

Мета дослідження:

Удосконалення морфологічної діагностики бактеріальної материнсько-плодової інфекції із субклінічним перебігом через визначення впливу експериментального інфекційно-запального процесу в системі мати – плацента – плід, що спричинений окремо *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків.

Завдання дослідження:

1. Провести моделювання материнсько-плодової інфекції та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії за відомими методиками [42, 43] на щурах з подальшим визначенням морфофункціональних особливостей щитовидної залози у цифровому середовищі.
2. Встановити та порівняти в динаміці морфофункціональний стан щитовидної залози плодів та новонароджених щурів в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.
3. Визначити та порівняти в динаміці морфофункціональні стани щитовидної залози плодів та новонароджених щурів, які розвивалися за умов материнсько-плодових інфекцій, що спричинені окремо *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*.
4. Провести порівняльний аналіз морфофункціональних станів щитовидної залози нащадків щурів, які розвивалися в умовах материнсько-плодових інфекцій, що спричинені окремо *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, хронічної внутрішньоутробної гіпоксії та фізіологічного онтогенезу.
5. Сформулювати концепцію про вплив бактеріальної материнсько-плодової інфекції з субклінічним перебігом на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків.
6. Розробити спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції з субклінічним перебігом на щитовидну залозу нащадків з використанням цифрового середовища.

Об'єкт дослідження: експериментальна МПІ з субклінічним перебігом, що спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*.

Предмет дослідження: морфофункціональний стан ЩЗ нащадків щурів за умов експериментальної бактеріальної МПІ з субклінічним перебігом.

Методи дослідження: експериментальний, соматометричний, патоморфологічний (гістологічний, морфометричний, імуногістохімічний), статистичний.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше на експериментальному матеріалі, а саме ЩЗ плодів та новонароджених щурів, які розвивалися за умов субклінічних бактеріальних МПІ, що спричинені окремо *E. coli*, *K. pneumoniae* та *S. aureus*, та ХВГ, в результаті комплексного патоморфологічного дослідження визначені морфофункціональні зміни, що виникають у структурах органа на тлі вищезазначених станів. Встановлені й порівняні характер, ступінь виразності та динаміка цих змін в залежності від гестаційного віку та фактору впливу.

Уперше сформульовано концепцію про вплив бактеріальної МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ потомства, згідно з якою насамперед відбувається вивільнення патоген-асоційованих молекулярних патернів в організмі матері, що потрапляють до плацентарного кровотоку й організму плода, активують місцевий імунітет та TLR-опосередкований сигнальний шлях, через який реалізовується вроджена імунна відповідь та змінюється місцевий цитокіновий профіль унаслідок вивільнення медіаторів запалення. Потім відбувається активація апоптичних та некроптичних каскадів через взаємодію з білками домену смерті та каспазами, пошкоджується клітинна складова ЩЗ, що призводить до дисфункції органа на молекулярному рівні. Морфологічно це підтверджується тим, що у плодів посилюється проліферація тироїдного епітелію (збільшуються висота та площа тироцита, діаметр фолікула) та визрівання строми (збільшується площа та оптична щільність флуоресценції колагену III типу), підвищується синтетична активність тироцитів (збільшуються площа та оптична щільність флуоресценції тироксину); пізніше

у новонароджених синтетична активність тироцитів послаблюється (зменшується оптична щільність флуоресценції тироксину), але продовжують посилюватися проліферація епітелію (збільшуються площа флуоресценції тироксину та діаметр фолікула) та визрівання строми (збільшуються площа та оптична щільність флуоресценції колагенів I та III типів), з'являються молекулярні ознаки клітинного пошкодження (реєструються високі показники оптичної щільності та площі флуоресценції інтерлейкіну-6 та фактору некрозу пухлини). Це призводить до виснаження місцевого вродженого імунітету, що є основою адаптивно-компенсаторного резерву щитовидної залози, та формує морфогенетичний потенціал для автоімунних та онкологічних захворювань цього органа у нащадків.

Уперше розроблено доказовий спосіб комплексної патоморфологічної діагностики впливу МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків на експериментальному матеріалі з використанням цифрової морфометрії, імунофлуоресцентного аналізу, програми для аналітичної роботи з зображеннями ImageJ та програмного середовища для статистичних обчислень RStudio, з використанням мови R, визначені головні морфофункціональні параметри ЩЗ: для плодів – це площа та діаметр фолікула, висота та площа тироцита, площі ядра та цитоплазми, ядерно-цитоплазматичне відношення, показники оптичної щільності та площі флуоресценції тироксину і колагену I типу; для новонароджених – це площа та діаметр фолікула, висота та площа тироцита, показники оптичної щільності та площі флуоресценції колагенів I та III типів, інтерлейкіну-6 та фактору некрозу пухлини.

Розширено та доповнено відомі теоретично-прикладні положення про патологічну анатомію плода та новонародженого при МПІ. Набуло подальшого розвитку знання про односпрямованість морфологічних і функціональних змін в організмі плода, що пов'язані з субклінічними бактеріальними МПІ та ХВГ. Уточнено, що найнебезпечнішою інфекцією серед тих, які досліджувалися, для органогенезу ЩЗ нащадків є МПІ, що спричинена *Staphylococcus aureus*.

Практичне значення отриманих результатів

На підставі результатів проведеного дослідження було розроблено спосіб патоморфологічної діагностики впливу бактеріальної МПІ на ЩЗ нащадків для вдосконалення і підвищення ефективності профілактично-діагностичних заходів, спрямованих на попередження та своєчасне виявлення інфекційної патології в акушерстві та гінекології, а також – для посмертної діагностики вищезазначеної патології у плодів та новонароджених.

Також отримані результати є теоретичним підґрунтям для пошуку та розробки фармакологічних препаратів, здатних корегувати морфофункціональний стан щитовидних залоз дітей з бактеріальними ВУІ в анамнезі.

Методологія проведеного дослідження, а також отримані дані, що розкривають морфофункціональні особливості ЩЗ нащадків, можуть бути використані в навчальному процесі закладів вищої медичної освіти, а саме – на кафедрах патологічної анатомії, патологічної фізіології, акушерства і гінекології, ендокринології та педіатрії.

Отримані результати впроваджені в роботу Комунального некомерційного підприємства «Одеське обласне патологоанатомічне бюро» «Одеської обласної ради» та у навчальний процес кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету (Додатки Б, Б.1, Б.2, Б.3).

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійною науковою працею, виконаною під керівництвом д.мед.н. професорки Сорокіної Ірини Вікторівни. Дисертантка самостійно розробила план дослідження, визначила мету та сформулювала завдання дослідження. Провела експертну оцінку проблеми за допомогою інформаційно-патентного пошуку та аналізу літературних джерел за останні десять років з моменту планування дисертації. Разом зі співробітниками кафедри патологічної анатомії ХНМУ, брала участь в експериментах з моделювання МПІ, що спричинені *E. coli*, *K. pneumoniae* та *S. aureus*, та ХВГ у

нащадків щурів. Надалі здобувачка самостійно вилучала ІЦЗ, брала участь у виконанні гістологічних технік, самостійно провела патоморфологічне дослідження з використанням розгорнутої морфометрії та ІФД, виконала статистичний аналіз, узагальнила результати, сформулювала висновки разом із практичними рекомендаціями, написала та підготувала дисертаційну роботу до друку.

У дисертації використано власні наукові публікації, у тому числі написані у співавторстві. Співавтори робіт надавали консультативну допомогу з деяких теоретичних та методичних питань.

Апробація матеріалів дисертації

Матеріали дослідження в якості як усних, так і стендових доповідей були представлені, обговорені та схвалені на таких заходах: *Міжнародній науковій міждисциплінарній конференції «ISIC-2019»* (робота посіла I місце у секції «Біомедичні науки», м. Харків, Україна, 18-20 вересня 2019 р.); *IX З'їзді ендокринологів України* (м. Харків, Україна, 19-22 листопада 2019 р.); *Фестивалі молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття»* (м. Харків, Україна, 20-22 січня 2020 р.); *Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментально-клінічної ендокринології»* (Дев'ятнадцяті Данилевські читання) (м. Харків, Україна, 27-28 лютого 2020 р.), *XVII Міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та спеціалістів «Актуальні питання сучасної медицини», присвяченій 215-річчю від дня заснування медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна* (м. Харків, Україна, 1-2 жовтня 2020 р.); *ORPHEUS Conference* (м. Брага, Португалія, 22 квітня 2021 р., Додатки В та В.1); *Міжнародній науково-практичній онлайн-конференції «Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку»*. (м. Київ, Україна, 22-23 квітня 2021 р.); *XVIII Міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»* (робота посіла I місце у секції «Патологічна анатомія», м. Харків, Україна, 22-23 квітня, 2021 р., Додаток В.2); *Науково-*

практичній онлайн конференції «Патоморфологія XXI: виклики та тренди» (м. Київ, Україна, 11 червня 2021 р., Додаток В.3).

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць, а саме – 4 статті, з яких 1 – одноосібна (у науковому фаховому виданні України категорії А, що входить до наукометричної бази Scopus); 3 – у співавторстві (у науковому фаховому виданні, що індексується Web of Science, науковому фаховому виданні України категорії Б та іноземному виданні країни, що входить до Організації економічного співробітництва і розвитку), та 5 тез доповідей на Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференціях.

Обсяг та структура дисертації

Дисертаційна робота викладена українською мовою на 189-ти сторінках основного тексту (при загальному обсязі у 212 сторінок), що становить 7,7 авторського аркуша, та складається з анотацій українською й англійською мовами, переліку публікацій здобувачки, вступу, 5-тьох розділів (огляду літератури, опису об'єктів і методів досліджень, двох розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів), висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та 15-ти додатків; ілюстрована 21-ю таблицею та 76-ма рисунками (з них 44 – власні мікрофотографії). Перелік використаних літературних джерел містить 316 назв (обсягом 34 сторінки), з яких 48 – кирилицею, 268 – латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Материнсько-плодові інфекції та їхній вплив на організм нащадків

1.1.1. Термінологія материнсько-плодових інфекцій

МПП – це група захворювань періоду вагітності, які спричинені інфекційними агентами та характеризуються внутрішньоутробним запаленням. До синонімічних назв МПП заведено відносити *внутрішньоутробну, внутрішньоматкову, інтраамніотичну інфекцію* та *хоріоамніоніт* [44]. Цікаво, що національний інститут здоров'я дітей та розвитку людини (NICHD), один із Національних інститутів охорони здоров'я (NIH) США, рекомендує застосовувати термін Triple I, що поєднує *внутрішньоматкове запалення АБО внутрішньоматкову інфекцію АБО обидва патологічні процеси водночас* [45].

Для опису та кодування станів, пов'язаних із впливом материнської інфекції на організм дитини, в літературі використовуються терміни «*інфекція з вертикальною передачею*» (*vertically transmitted infection*) та «*внутрішньоутробна інфекція*» (ВУІ). Вони є взаємозамінними, адже являють собою суто загальне поняття, що включає будь-які інфекційні захворювання дитини, які виникають протягом внутрішньоутробного, інтранатального та раннього постнатального періодів [46, 47, 48].

Деякі автори окремо виділяють поняття *внутрішньоутробного інфікування*, що на їхню думку, не є тотожним з ВУІ, адже являє собою інвазію збудника до організму плода, яка не призводить до розвитку патологічних змін [49, 50]. Дана позиція збігається з клінічним протоколом з акушерської допомоги «Перинатальні інфекції», затвердженим Наказом №906 Міністерства

охорони здоров'я України, в якому рекомендовано розрізняти терміни «внутрішньоутробне інфікування» та «внутрішньоутробна інфекція», адже перший, на відміну від другого, описує факт інвазії мікроорганізму в плід, що не призводить до розвитку патологічних змін або виникнення клінічних проявів [51]. Таким чином, доцільність використання терміну ВУІ в патологічній анатомії може бути підтверджена лише наявністю морфологічного субстрату шкідливої дії інфекту на організм плода.

1.1.2. Епідеміологія, етіопатогенез та патологічна анатомія материнсько-плодових інфекцій

У структурі перинатальної смертності в Україні інфекційна патологія плода становить від 11 до 45% [52]. Також існують переконливі мікробіологічні дані, які свідчать на користь того, що 40% передчасних пологів пов'язані з внутрішньоутробною інфекцією [53].

Разом з тим, сучасна медична практика включає чимало процедур, що здатні зменшити природний захист організму-господаря. До таких маніпуляцій належить амніоцентез [54], який може призвести до забруднення навколоплідних вод, та пудендальна або парацервікальна місцева анестезія під час пологів, що має подальшу асоціацію з інфекціями малого таза та кульшового суглоба [55]. Проте визначальним фактором у процесі інфікування вважається надмірна сприйнятливність плода до інфекції [56]. Також відомо, що субклінічний або безсимптомний інфекційний процес в організмі матері здатний завдати такої шкоди організму плода, яка почне себе проявляти при народженні або пізніше [57].

У часовому аспекті передача інфекції від матері до дитини може відбуватися внутрішньоутробно (антенатально), під час пологів (інтранатально) або після них (постнатально). В антенатальному періоді, який досліджується в даній роботі, механізм передачі інфекції називається *вертикальним*, або *трансплацентарним*, або *плацентарним*, адже реалізовується через плаценту

[58]. Серед шляхів розповсюдження вертикальних інфекцій розрізняють *гермінативний*, або передачу патогену статевими клітинами, *гематогенний*, – через кров, *навколоплідно-контамінаційний*, що включає *висхідний* шлях з верхньої частини піхви через шийку матки до амніотичної рідини та *низхідний* – з маткових придатків до маткової порожнини [59, 60]. Цікаво, що існує погляд, згідно з яким зараження дитини під час пологів в умовах механічного пошкодження шкірних покривів та наявності інфекції у родових шляхах матері не вважається вертикальною передачею, позаяк є варіантом контактної горизонтальної передачі [61].

До збудників МПІ заведено відносити представників комплексу, що має акронім «CHEAP TORCHES» [62], а саме – альфа-герпесвірус 3, або Varicella Zoster вірус, віруси гепатитів С, D та Е, ентеровіруси, віруси імунодефіциту людини (ВІЛ) 1 та 2, парвовірус В19, Toxoplasma gondii, Streptococcus agalactiae (стафілококова інфекція групи В), лістерії, Candida albicans, збудники хвороби Лайма – Borrelia burgdorferi, Borrelia afzelii та Borrelia garinii, Rubivirus rubellae, або вірус краснухи, цитомегаловірус, також відомий як бета-герпесвірус 5, віруси простого герпесу, або альфа-герпесвіруси 1 та 2, Neisseria gonorrhoeae, Ureaplasma urealyticum, папіломавірус людини, Chlamydia trachomatis та Treponema pallidum. Крім цього, згідно з публікаціями останніх років, як чинники МПІ все частіше розглядаються представники мікробіому людини та умовно-патогенної мікрофлори [63, 64, 65].

Щодо механізмів розвитку МПІ, за умов вертикального механізму передача інфекції від матері до плода відбувається гематогенно-трансплацентарно, коли збудник потрапляє до плаценти через кров. На шляху до плода інфект стикається з плацентарними бар'єрами у вигляді синцитіотрофобласту, децидуальної оболонки, трофобласту та суто фізичних бар'єрів [66]. Щоб подолати їх, патоген повинен пошкодити інтерфейс синцитіотрофобласту або здійснити інвазію до матки та трофобласту безпосередньо, або транспортуватися у спосіб «клітина до клітини», як-от Listeria monocytogenes [67], ба більше, існує опосередкований шлях через

імунні клітини, як це робить ВІЛ: R5-тропні штами використовують в організмі господаря локалізований у клітинній мембрані рецептор хемокіну CCR5 (C-C motif chemokine receptor 5) [68]. Отже, після того, як плацента інфікована, збудник має змогу проникнути в організм плода.

Патологічна анатомія плаценти за умов вертикальної передачі інфекції матері, згідно з *Tussupkaliyev AB* [69], характеризується спазмом та набряком ворсинок, лейкоцитарною інфільтрацією, фокусами фібриноїдного некрозу, потовщенням базальної мембрани та розщепленням ендоплазматичного ретикулуму, що відбивається порушенням газообміну і розвитком тканинної гіпоксії метаболічного походження. Разом з цим, відмічається зростання бактеріальної популяції в навколоплідних водах, що, у комплексі, сприяє подальшому підвищенню проникності плацентарних бар'єрних механізмів [70]. З цією позицією збігається думка *Heerema-McKenney A* про те, що морфологічно інфекції, які передаються трансплацентарно, здебільшого маніфестують у вигляді *децидуїту*, або запалення базальної пластини плаценти, та *віліту*, або запалення ворсин хоріона [71].

Гематогенне розповсюдження материнської інфекції відбувається як наслідок віремії, що здатна призводити до аномалій розвитку і морфофункціонального дефіциту, та бактеріємії, що може спричинити виникнення перинатального сепсису, передчасних пологів, спонтанного аборту та прееклампсії [72, 73, 74, 75, 76]. Крім того, згідно з результатами метагеномних досліджень, плацента має свій власний мікробіом, який, за певних умов, може стати джерелом гематогенного інфікування [77, 78].

Висхідні інфекції виникають тоді, коли бактерії, що мешкають у зовнішніх статевих органах матері, потрапляють до навколоплідного міхура. До інфекційних збудників, що зазвичай поширюються цим шляхом, належать мікоплазми, анаеробні бактерії, кишкова флора, стрептококи групи В, золотистий стафілокок та представники нормальної мікробіоти [79, 80, 81].

Після інфікування виникає ризик пошкодження або навіть розриву амніотичного міхура. Відтоді патогени здатні інокулювати навколоплідні води,

поширюватися у вигляді біоплівки на відкритий амніон і здійснювати інвазію в хоріодецидуальну тканину [82, 83]. До того ж плід може заразитися через аспірацію або проковтування патогенів у легені, або через потрапляння збудника в слуховий прохід [84, 85].

Існує думка, що, в цьому випадку, морфогенез МПІ починається з формування *фунізиту* – запалення амніотичного епітелію і Вартонових драглів – пуповини без залучення судин, та *хоріоамніоніту*, що являє собою запалення плодових оболонок – амніону та хоріона [86, 87].

Вважається, що дані стани є морфологічним проявом *імунної відповіді системи мати – плацента – плід* на пошкодження клітин децидуальної та плодових оболонок бактеріальними екзо- та ендотоксинами, через яке відбувається вивільнення прозапальних сигнальних молекул – цитокінів, що здатні пошкоджувати органи й тканини плода [88, 89].

Вищезазначена концепція підтверджується працями, що досліджували молекулярні механізми, які супроводжують ВУІ як у щурів, так і у людей. Наприклад, за розпізнавання бактерій та бактеріальних продуктів в організмі відповідають toll-подібні рецептори (TLR), які активують вроджену імунну систему через запуск прозапального каскаду, що, своєю чергою, ініціюється фактором транскрипції під назвою Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) [90]. Цей каскад призводить до активації ефекторних молекул – цитокінів (IL1, IL6, TNF), хемокинів (IL8, CCL5), простагландинів – простагландину E2 (PGE2), простагландину D2 (PGD2), простагландину F2α (PGF2α), матриксних металопептидаз, протеаз та ферментів, що призводить до послаблення та розриву плодових оболонок, відшарування плаценти, інфільтрації прозапальними клітинами тканин плода, структурних змін у шийці матки у вигляді її дозрівання, а відтак – і до скорочення матки з передчасними пологами [91, 92, 93, 94, 95]. Важливо зазначити, що активація прозапального каскаду може бути зумовлена будь-яким станом, що супроводжуються активацією комплементу та утворенням тромбіну [96, 97].

Незалежно від шляху розповсюдження інфекції, до потенційних ускладнень вагітності належать передчасний розрив плодових оболонок, затримка внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР), вроджені інфекції (явні та асимптоматичні) і внутрішньоутробна загибель плода [98, 99]. При цьому у новонароджених з МПІ в анамнезі зберігаються і наростають ендотеліальна, нейроендокринна та імунологічна дисфункції, що здатні в подальшому житті призводити до системних автоімунних захворювань [100]. Проспективний аналіз досліджень останніх років показав, що, надалі, у таких дітей значно частіше реєструються ті чи інші відхилення, на кшталт важкої енцефалопатії, на кшталт мікроцефалії та гідроцефалії, дитячого церебрального паралічу, когнітивних розладів, затримки психомоторного розвитку, порушень поведінки, порушень зору та слуху, дефектів зубів, а також – морфофункціональних аномалій різних органів [101, 102].

ВУІ можуть впливати на дитину впродовж досить великого часового проміжку, адже стосовно аспектів періодизації дитячого віку, період внутрішньоутробного дитинства, у середньому, становить 270-280 діб та включає такі фази: гермінальну (0-10-а доба), ембріональну (до 9-ти тижнів), та фетальну, також відому як фаза плацентарного розвитку (з 3-го місяця до народження). Остання, зі свого боку, поділяється на ранній (75-й день-28-й тиждень) та пізній (28-й тиждень-початок пологів) фетальні періоди. Далі, від початку пологів та до моменту перетинання пуповини, триває інтранатальний період, що результує постнатальним періодом, який поділяється на ранній (0-7-а доба) та пізній неонатальний (8-28-а доба) періоди та період грудного віку (29 доба-12 місяців) [103]. Кожен з цих періодів відповідає за певні віхи в процесі онтогенезу людини, тому втручання в будь-який із них може мати негативні віддалені наслідки. Це, безумовно, вказує на необхідність розробки належних діагностичних методик, спрямованих на своєчасне виявлення ще не вивчених інфекцій у вагітних та визначення їхнього патологічного впливу на організм дитини, що розвивається.

1.1.3. Методи діагностики материнсько-плодових інфекцій

Зазвичай ВУІ діагностують у випадках позитивної культури навколоплідних вод, позитивної полімеразної ланцюгової реакції та/або гістологічно підтвердженого хоріоамніоніту [104, 105]. Однак за допомогою даних методів не завжди можливо підтвердити розвиток МПІ у плодів, які раптово загинули, адже чимало бактеріальних інфекцій у вагітних протікають субклінічно або безсимптомно [106].

Відтак, на сьогодні бракує універсального морфологічного методу верифікації розвитку МПІ з субклінічним або асимптоматичним перебігом в організмі плода та новонародженого, що дозволив би діагностувати цю патологію під час автопсії.

Крім того, визначення ключових морфофункціональних параметрів надає змогу одержати повне уявлення про стан органів та систем нащадків з МПІ та в майбутньому розробити патогенетично обґрунтовані діагностично-профілактичні заходи, спрямовані на зниження рівня захворюваності бактеріальними інфекціями серед вагітних, що робить обрану тему дійсно актуальною.

1.1.4. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus aureus* як чинники материнсько-плодових інфекцій

Публікації останніх років свідчать про те, що структура перинатальної інфекційної патології зазнала значних змін на користь бактеріальних ВУІ, що спричинені представниками людської мікробіоти – спільноти коменсальних, симбіотичних та патогенних мікроорганізмів [107, 108]. З одного боку, це зумовлено збільшенням тривалості життя, і, як наслідок, збільшенням кількості літніх *primigravidae*, а також вдосконаленням профілактично-діагностичних заходів в акушерстві та гінекології. Оскільки відомо, що саме мікробіом зумовлює імунологічний, гормональний та метаболічний гомеостаз організму

господаря [109, 110], вкрай важливо мати чітке уявлення про його патогенний потенціал у контексті ведення вагітних жінок із фізіологічно ослабленою імунною відповіддю, особливо, в умовах пандемії COVID-19 [111]. З іншого боку, підвищений інтерес до умовно-патогенних бактерій серед науковців свідчить про почастищення випадків реєстрації ятрогенної інфекційної патології, автоінфекцій та антибіотикорезистентності, що є результатом неадекватного призначення та неконтрольованого приймання антибіотиків населенням [112, 113].

Цікаво, що більшість системних бактеріальних інфекцій спричинені саме факультативними патогенами, які колонізують поверхні тіла людини та нерідко формують резистентність до антибіотикотерапії [114, 115, 116]. Саме тому особливу увагу привертають симбіонт *E. coli*, та коменсали-патобіоти *S. aureus* та *K. pneumoniae*, які регулярно згадуються в літературі як чинники розвитку внутрішньоутробної патології та загибелі плода [117, 118, 119, 120].

1.1.4.1. Загальна характеристика збудника *Escherichia coli*

E. coli, або *кишкова паличка*, – це грам-негативна, факультативно анаеробна округла циліндроподібна рухома бактерія родини Ентеробактерій, розмірами $0,5\text{--}3,0 \times 0,5\text{--}0,8$ мкм, яка за нормальних умов мешкає в нижній частині кишечника теплокровних організмів, в тому числі людей та щурів (рис. 1.1 [121]); спори дана бактерія не формує, проте деяким штамам властива мікрокапсула, що складається з гомополімеру сілової кислоти [122]. Патогенні штами кишкової палички класифікують на чотири основні філогенетичні групи: А, В1, В2 та D, при цьому група В2 вважається найбільш вірулентним позакишковим штамом, групи В1 та D мають менш виражену хвороботворність, а збудники групи А поведуться як типові коменсали, забезпечуючи своє існування коштом господаря [123, 124, 125]. Розмір пангеному виду *E. coli* налічує близько 2600 сімейств генів – сукупності

декількох подібних генів зі схожим біохімічним функціоналом, що утворилися через дублювання одного оригінального гена [126].

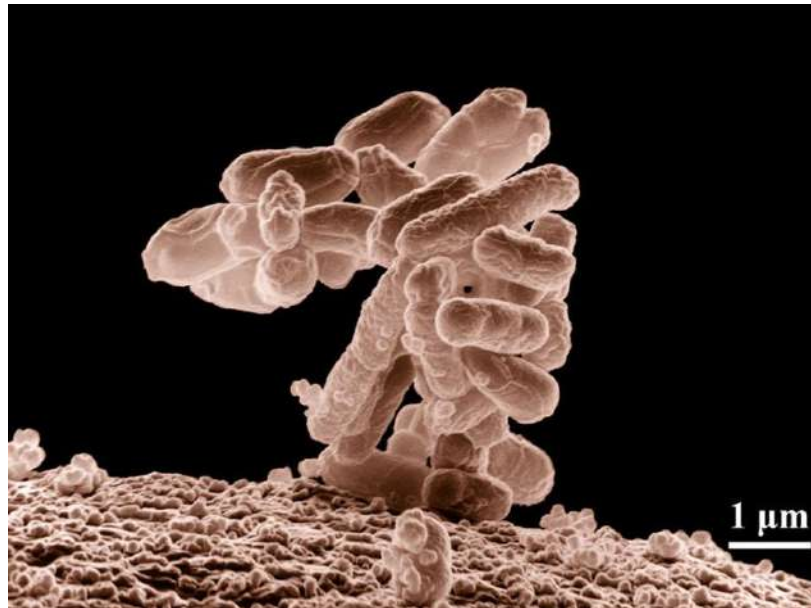


Рисунок 1.1 – Низькотемпературна електронна мікрофотографія кластера *E. coli*. Збільшення $\times 10000$ [121]

Це, своєю чергою, вказує на наявність надивовижу великого генетичного пулу кишкових паличок, що рідко зустрічаються у популяції, проте, за сприятливих умов, можуть призводити до розвитку інфекційних захворювань в організмі господаря.

Відмінною особливістю *E. coli* є її складна антигенна будова. Нині підтверджено існування 184 колибацилярних серогруп, антигенна структура яких представлена соматичним *O-антигеном*, що розташований у крайовій частині моношару зовнішньої мембрани ліпополісахаридової клітинної стінки [127, 128, 129]. Також автори виділяють імунореактивний джгутиковий *H-антиген*, або *флагелін*, який детермінує близько 57 сероварів збудника [130, 131]. Крім того, існує капсулярний *K-антиген*, що здебільшого зустрічається у патогенних штамів та має 80 відомих структурних варіацій [132]. Так доведено, що штами *E. coli*, що мають *антиген K1*, здатний спричиняти гострий бактеріальний менінгіт у новонароджених [133]. Відтак,

усі можливі антигенні комбінації даного збудника генерують понад 100000 серотипів [134, 135].

Основними факторами патогенності *E. coli* вважаються фактори адгезії, колонізації та інвазії, а також ендо- та екзотоксини. Ендотоксин являє собою токсичну речовину, що вивільнюється за умов лізису бактерії, та зазвичай представлений ліпополісахаридом, що складається з О-антигену, зовнішнього та внутрішнього ядер. Своєю чергою, екзотоксини секретуються живою бактерією у вигляді цитотоксинів (наприклад, термостабільного ентеротоксину ST, цитотоксичних некротизуючих факторів, цитолетального розширюючого токсину), мембранотоксинів (каналоутворюючих токсинів АВ та RTX) та функціональних блокаторів (колібактину, токсину Шига, термолабільного ентеротоксину LT) [136, 137].

Особливої уваги заслуговує відкритий у 2006 році *цикломодулін* – колібактин, що перешкоджає клітинному циклу еукаріотів та синтезується геномним острівцем *rks*. Останній, своєю чергою, найчастіше ідентифікується у позакишкових патогенних штамів *E. coli* з філогрупи B2, які, згідно з літературними джерелами, надмірно виявляються у біопсійному матеріалі, отриманому з епітеліальних злоякісних колоректальних пухлин [138, 139]. На думку Cuevas-Ramos G [140], бактерії, що продукують колібактин, індукують хромосомну нестабільність і пошкоджують ДНК, що призводить до передчасного старіння епітеліоцитів та апоптозу імунних клітин.

Щодо колібацилярної вірулентності, вона залежить від таких факторів: наявності певного класу адгезинів (фімбріальних, афімбріальних та зовнішньомембранних білків), системи секреції III типу, що здійснюється ін'єктисомою – білковим придатком, який використовується як сенсорний зонд, наявності позитивного хемотаксису у напрямку епітеліальних рецепторів та екзотоксинів, що продукуються [141, 142].

Згідно зі стандартизованою електронною онтологією медичних термінів та класифікацій SNOMED CT [143, 144], серед патологічних станів, спричинених *E. coli*, розрізняють:

- ешерихіозну пневмонію (51530003 [145]) у вигляді бронхопневмонії (10625111000119106) та вродженої пневмонії (206286008);
- інфекцію сечовидільних шляхів (301011002);
- колібацильоз вагітних, або colibacillosis gravidarum (129669003);
- інфекцію плода та новонародженого (721727002), що включає інтра-амніотичну плодову інфекцію (206366007), неонатальний колібацильоз (371323006), що об'єднує неонатальний ешерихіозний дакріоцистит (276688007) та/або кон'юнктивіт (268838005);
- ешерихіозний сепсис, що включає неонатальний (206379003);
- ешерихіозний артрит (21534009);
- інфекцію шлунково-кишкового тракту, спричинену ентероадгерентною кишковою паличкою (240356009), що може протікати у вигляді гострого геморагічного коліту (69810009), ентеротоксигенною кишковою паличкою (240352006), що спричиняє діарею мандрівників (11840006), та ентероінвазивною кишковою паличкою (240355008);
- інфекції, спричинені кишковими паличками, що продукують Шига-токсин (328291000119103) та β -лактамази розширеного спектра (409803007);
- інфекції, спричинені колібацилярними серотипами O157 (127531000119106) та O158 (715145003);
- ешерихіоз центральної нервової системи (406580004), що зазвичай проявляється менінгітом (192655005);
- харчову токсикоінфекцію (240335007).

Доречно згадати, що кишкова паличка є найчастішим збудником інфекцій сечовивідних шляхів серед вагітних через свою найбільшу поширеність у мікробіомі ссавців [146, 147]. Таким чином, різноманіття серотипів *E. coli* та захворювань, нею спричинених, а також її місце у структурі патології

вагітності, виправдовують вибір збудника для проведення експериментального дослідження.

1.1.4.2. Загальна характеристика збудника *Staphylococcus aureus*

S. aureus, також відомий як *золотистий стафілокок*, – це грам-позитивна, факультативно анаеробна куляста бактерія (рис. 1.2) діаметром до 1 мкм, що отримала назву через золотавий колір, зумовлений пігментом *стафілоксантином*, кількість якого, на думку Sakai [149], прямо пропорційна вірулентності. Вона не є рухомою, не утворює спор та має схильність агрегуватися у гроноподібні скупчення [150]. Клітинна стінка бактерії складається з пептидоглікану муреїну та тейхоевої кислоти [151]. Пангеном *S. aureus* налічує 7411 генів, при цьому основний геном, за різними даними, налічує від 1441 до 2600 генів із 2,8 мільйона пар основ, а специфічний – становить залишок (щонайменше 4 811 генів) [152, 153].

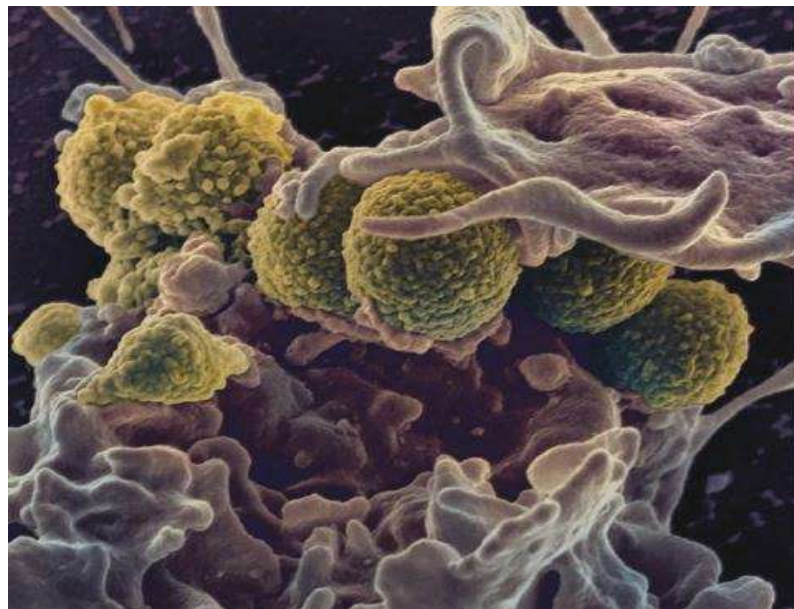


Рисунок 1.2 – Сканувальна електронна мікроскопія метицилін-резистентних стафілококів, що поглинаються нейтрофілами людини [148]

Попри те, що бактерія зазвичай діє як коменсал, та ідентифікується як представник флори верхніх дихальних шляхів, шкіри та вагінально-цервікального біотопу, вона також здатна перетворюватися в умовно-

патогенного мікроорганізм – патобіонт, що здатний колонізувати організм господаря та спричиняти інвазивні інфекції [154]. Zipperer A та співавтори [155] встановили, що носійство золотистого стафілокока у ніздрях інтенсифікує схильність господаря до розвитку інвазивної інфекції. Загалом, згідно з висновками наукових праць останніх років, від 25-50% людської популяції є довготривалими носіями *S. aureus* [156]. Патогенні штами виробляють фактори вірулентності у вигляді білкових токсинів, та експресують білок на клітинній поверхні, що зв'язує та інактивує імуноглобуліни [157]. Крім того, існують резистентні до антибіотиків штами, наприклад, метицилін-резистентний (MRSA), ванкоміцин-резистентний (VRSA) і глікопептид-резистентний *S. aureus* (GISA), які у 31% випадків призводять до загибелі хворого [158].

S. aureus є особливо небезпечним для хронічно хворих і людей з ослабленим імунітетом та продовжує залишатися однією з основних причин інфекційної смертності. Наприклад, у 2005 році смертність від MRSA у США, що становить приблизно 18000 осіб, перевершила кількість смертей від ВІЛ/СНІДу, що налічувала 17000 [159].

Практично всі штами *S. aureus* виділяють групу ферментів та цитотоксинів, яка включає чотири гемолізینی: альфа, бета, гамма та дельта, протеази, ліпази, нуклеази, колагеназу та гіалуронідазу. Їхня функція – це перетворення тканин господаря в поживні речовини, необхідні для росту бактерій [160]. Деякі штами продукують один або декілька додаткових екзопротейнів, до яких належать *токсин-1 синдрому токсичного шоку* (TSST-1), *стафілококові ентеротоксини* (SEA, SEB, SEC_n, SED, SEE, SEG, SEH та SEI), *ексfolіативні токсини* (ETA та ETB), і *лейкоцидин* [161]. TSST-1 та стафілококові ентеротоксини номенклатурно являються суперантигенами пірогенного токсину (PTSAgs) [162, 163]. Відомо, що кожен з цих токсинів має значний вплив на клітини імунної системи господаря [164].

Згідно з електронною медичною онтологією *SNOMED CT*, що має широке застосування серед представників західної наукової спільноти у сфері охорони

здоров'я, інфекції, спричинені *S. aureus* (406602003[165]), представлені такими нозологічними одиницями:

- інфекціями шкіри, на кшталт імпетиго Бокхарта (53396004), стафілококового целюліту (762284008), шанкріформної піодерми (35542008), стафілококової ектими (762283002), бульозного імпетиго (399183005);
- стафілококовою інфекцією плода та новонародженого, що містить імпетиго новонароджених (200706004), синдром ошпареної шкіри новонароджених (402967005), перинатальну інфекцію, спричинену коагулазо-негативним золотистим стафілококом (309739005) та сепсис новонароджених (206378006);
- стафілококовою пневмонією (441658007), що представлена бронхопневмонією (10625631000119108), некротичною пневмонією, яка спричинена лейкоцидином Пантона-Валентина, що продукує золотистий стафілокок (763888005), та пневмоніями, спричиненими чутливим (128711000119106) або стійким (124691000119101) до метициліну *S. aureus*;
- стафілококовим остеомієлітом (428783003);
- стафілококовим маститом (8287004);
- правостороннім стафілококовим ендокардитом (426087004);
- стафілококовим сепсисом (448417001), що включає сепсис новонароджених (206378006) та сепсис, спричинений стійким до метициліну золотистим стафілококом (448812000);
- стафілококовим менінгітом (230148000), що включає менінгіт, спричинений стійким до метициліну *S. aureus* (721749008);
- інфекціями, що спричинені чутливим до метициліну *S. aureus* (MSSA), що включає пневмонію (128711000119106) та синдром токсичного шоку (127411000119102);
- інфекціями, що спричинені мультирезистентним *S. aureus* (282028001);
- позалікарняною інфекцією, що спричинена метицилін-стійким золотим стафілококом (423561003), що може бути представлена менінгітом

(721749008), інфекцією післяопераційної рани (308155002), пневмонією (124691000119101), сепсисом (448812000) та синдромом токсичного шоку (127421000119109);

- стафілококовою пневмонією, що включає бронхопневмонію (10625631000119108), некротизуючу пневмонію (763888005), пневмонію спричинену MRSA (124691000119101) та MSSA (128711000119106);
- глікопептидною проміжною або резистентною інфекцією *S. aureus* (GISA), (406607009).

Відтак, беручи до уваги велику кількість нозологічних форм, властивих *S. aureus*, її високу інфективність, наявність інвазивних форм, вірулентність, що з роками нарастає, токсиногенність та притаманну їй антибіотикорезистентність, ми можемо дійти висновку, що все вищезазначене свідчить на користь високої патогенності збудника та підтверджує необхідність вдосконалення профілактично-діагностичних методів, спрямованих на протидію поширенню та своєчасне виявлення потенційно летального збудника в організмі вагітних жінок.

1.1.4.3. Загальна характеристика збудника *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae, або паличка Фридлендера, – це грамнегативна нерухома факультативно-анаеробна паличкоподібна бактерія роду *Klebsiella*, що має капсулу (рис. 1.3 [166]). Їй притаманний великий допоміжний геном, що сягає близько 30000 протеїн-кодуючих генів [167], що дозволяє поділяти *K. pneumoniae* на умовно-патогенні, гіпервірулентні та мультирезистентні штами, які зазвичай колонізують та інфікують важко хворих та людей з ослабленим імунітетом [168]. *K. pneumoniae* може призводити як до негоспітальної, так і госпітальної первинної лobarної пневмонії, що характеризується некротичною деструкцією альвеол та формуванням порожнин (у новонароджених включно), ранових та м'яко-тканинних інфекцій, а також до інфекцій сечовидільних шляхів [169, 170, 171]. Крім того, відомі випадки гострого бактеріального

клебсієльозного менінгіту та абсцедування мозку у новонароджених [172], людей похилого віку, у пацієнтів з травмою голови та після нейрохірургічних утручань [173].

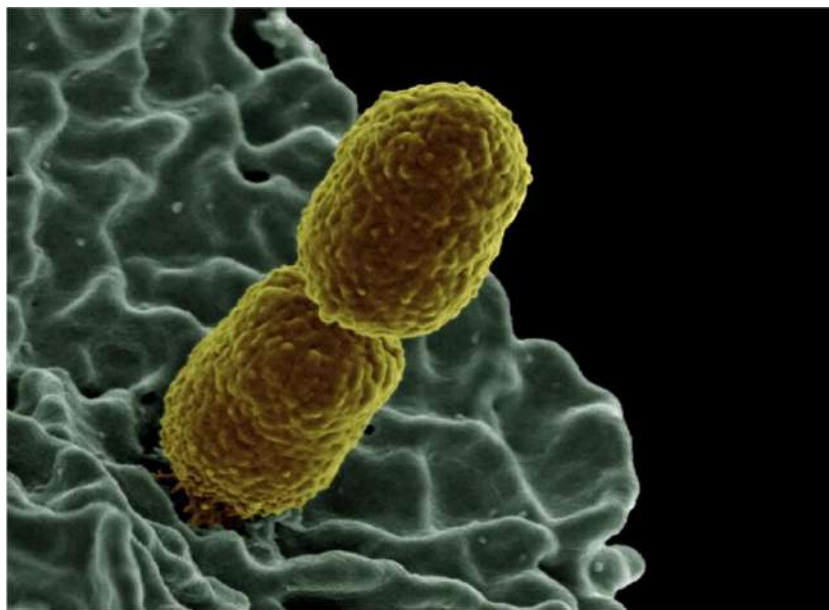


Рисунок 1.3 – Сканувальна електронна мікроскопія двох стрижнеподібних карбапенем-стійких *K. pneumoniae* (CRKP) гірничного кольору, які взаємодіють з нейтрофілом [166]

До того ж *K. pneumoniae* може призводити до інфекції жовчовивідних шляхів та холециститу, інфікування хірургічних ран, тромбофлебіту, діареї, остеомієліту, менінгіту та сепсису [174, 175].

Вважається, що використання будь-яких інвазивних пристроїв, особливо, у неонатологічних відділеннях, піддає пацієнтів підвищеному ризику розвитку інвазивної інфекції, що спричинена *K. pneumoniae* [176]. Також відомо, що *K. pneumoniae* є тригером розвитку анкілозуючого спондиліту, або хвороби Бехтерева [177].

Попри це, перелік нозологічних одиниць, що спричинені *K. pneumoniae*, у SNOMED CT виглядає неповним, та, на нашу думку, потребує розширення:

- інфекції, що спричинені *K. pneumoniae* (186435004 [178]);
- клебсієльозна пневмонія (64479007), що включає бронхопневмонію (10625311000119109);

- інфекція, що спричинена клебсієлою пневмонії, що продукує β -лактамази розширеного спектра (409804001);
- менінгіт, спричинений бацилою Фридлендера (192656006);
- клебсієльозний сепсис (762528007).

Таким чином, *K. pneumoniae* є найбільш значущим представником виду *Klebsiella*, а також одним з найважливіших представників патобіонтів серед людського мікробіому, адже саме ця бактерія має низку асоційованих патологій, що поширені серед новонароджених.

1.2. Хронічна внутрішньоутробна гіпоксія та її зв'язок із внутрішньоутробними інфекціями

1.2.1. Термінологія та класифікація внутрішньоутробної гіпоксії

Внутрішньоутробна гіпоксія (ВГ), також відома як *гіпоксія плода*, – це патологічний стан, що характеризується недостатнім надходженням кисню до організму плода або порушенням його утилізації у фетальних тканинах. До найчастіших причин даного стану належать забруднення повітря, ожиріння, голод, стрес, наркоманія, куріння, гестаційний діабет, інфаркт плаценти, пролапс та оклюзія пуповини [179].

Відповідно до клінічного класифікатора SNOMED CT, термінологічна гілка гіпоксій у нащадків розпочинає себе з групера «*гіпоксія, асфіксія та/або інше респіраторне захворювання плода та/або новонародженого*» (106012007). Своєю чергою, це поняття включає такі нозології:

- гіпоксію плода (276638004), яка може бути передпологовою, *anterpartum* (276642001), та внутрішньопологовою, *intrapartum* (276640009);
- внутрішньоутробну гіпоксію та/або асфіксію новонароджених (85425003), яка містить:
 - асфіксію при народженні (413654009);

- плодову або внутрішньоутробну аноксію та/або гіпоксію, що 1) вперше була помічена до пологів у живонародженого немовляти (33721007); 2) під час пологів та/або розродження у живонародженого немовляти (62714009); 3) невідомо, до чи після пологів або розродження, у живонародженого немовляти (90108007);
- внутрішньопологову гіпоксію плода (276640009);
- внутрішньоматкову асфіксію (276641008);
- внутрішньоматкову гіпоксію (275367000);
- пологову аноксію плода (275368005);
- плодову або внутрішньоматкову асфіксію встановлену до пологів у живонародженого немовляти (33721007);
- синдром масивної аспірації (10269001);
- перинатальну асфіксію окремо (281578009);
- перинатальну гіпоксію та асфіксію (276570006);
- респіраторні стани плода або новонародженого (17849001), до яких належать:
 - набутий підглотковий стеноз новонародженого (276635001);
 - хронічні респіраторні захворювання в перинатальному періоді (20322005), як от бронхолегенева дисплазія новонародженого (67569000), інтерстиціальний легеневий фіброз недоношених (90610005), перинатальна легенева фіброплазія (361194002), синдром Вільсона-Мікіті, або легенева незрілість (51577008);
 - меконієвий пневмоніт (86649001);
 - респіраторний ацидоз новонароджених (95612000);
 - респіраторний алкалоз новонароджених (95613005);
 - дихальний дистрес-синдром новонароджених (46775006);
 - дихальна недостатність новонароджених (95619009), що може бути уточнена як синдром дихальної недостатності новонародженого (276536005);

- перинатальна гіпоксія (281579001), що може бути класифікована як аноксія (30828007) або гіпоксія (22137006) живонародженого немовляти.

Подібна кількість нозологій, що реєструються у закладах охорони здоров'я по всьому світові сьогодні, свідчить про те, що наразі існує велике різноманіття етіопатогенетичних шляхів, які можуть призвести до розвитку ВГ.

За часом виникнення розрізняють *антенатальну*, або *пренатальну*, ВГ, що розвивається до початку родової діяльності, та *інтранатальну*, що виникає під час пологів [180]. Разом з тим, за клінічним перебігом та пов'язаними ефектами виділяють *хронічну ВГ* (ХВГ), що триває від кількох днів до кількох тижнів, та *гостру*, протяжністю від кількох хвилин до кількох годин, що зазвичай розвивається в пологах [181].

Стосовно етіопатогенезу ХВГ, вважається, що вона може бути обумовлена станами матері, плаценти або плода [182]. Відтак, у контексті походження, класифікують три типи ХВГ: 1) *передплацентарну*, коли плацента функціонує повноцінно, проте і мати, і плід гіпоксичні 2) *матково-плацентарну*, що характеризується гіпоксичними плацентою та плодом на тлі нормоксії матері та 3) *постплацентарну*, де гіпоксичний тільки плід [183].

До найчастіших чинників предплацентарної гіпоксії належать зовнішнє гіпоксичне середовище (велика висота над рівнем моря), хронічна респіраторна патологія матері (астма, хронічний бронхіт), серцево-судинні захворювання (хронічна серцева недостатність), гематологічні захворювання (анемії, гемоглобінопатії), ожиріння, недоїдання, вогнища хронічного запалення, інфекційна патологія та тютюнопаління жінки під час вагітності [184, 185, 186]. Щодо останнього, материнська тютюнова залежність має комплексний негативний вплив на вагітність: оксид вуглецю спершу призводить до плацентарної недостатності, за умов якої зменшується кровотік від матки до плаценти, а пізніше – до розвитку прееклампсії, в той самий час, коли нікотин, як тератоген, порушує формування вегетативної нервової системи, що зі свого боку підвищує вразливість мозку плода до гіпоксії [187, 188].

Матково-плацентарна гіпоксія пов'язана із системними судинними захворюваннями матері, вродженими судинними аномаліями та патологічною імплантацією плаценти. При цьому вона нерідко супроводжується розвитком гестаційної гіпертензії, прееклампсії та ЗВУР [189].

Постплацентарна гіпоксія, згідно з даними літературного огляду, асоціюється зі вродженими вадами серця та генетичними захворюваннями плода, патологією пуповини, зменшенням кровотоку у маткових артеріях через механічну компресію судин, емболію або тромбоз [190, 191, 192].

Беручи до уваги все вище зазначене, можна дійти висновку, що в даному дисертаційному дослідженні з МП, з метою визначення вираженості морфофункціональних змін, доцільно порівнювати саме хронічну предплацентарну ВГ, що також може бути експериментально змодельована за вже відомою методикою [43, 193].

1.2.2. Патогенез та патологічна анатомія хронічної внутрішньоутробної гіпоксії

В умовах ХВГ зниження оксигенації в організмі плода активує ряд реакцій, які регулюються групою індукованих гіпоксією транскрипційних факторів (hypoxia-inducible factors, HIFs), що контролюють морфофункціональну відповідь організму на низьку концентрацію кисню у клітині [194].

Наукові праці останніх років виявили, що до сигнального каскаду HIFs належать такі білки: 1) фактор індукований гіпоксією 1, субодиниця альфа (HIF-1 α), який кодується геном HIF1A, 2) ядерний транслокатор рецепторів ароматичних вуглеводнів (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, AHRNT), також відомий як фактор індукований гіпоксією 1, субодиниця бета (HIF-1 β), що кодується геном ARNT; 3) ендотеліальний білок сигнального домену PAS1, або фактор індукований гіпоксією 2, субодиниця альфа (HIF-2 α), який кодується геном EPAS1; 4) ядерний транслокатор рецепторів ароматичних

вуглеводнів 2, або фактор індукований гіпоксією 2, субодиниця бета (HIF-2 β), який кодується геном ARNT2; 5) фактор індукований гіпоксією 3, субодиниця альфа (HIF-3 α), що кодується геном HIF3A; 6) ядерний транслокатор рецепторів ароматичних вуглеводнів 3, також відомий як фактор індукований гіпоксією 3 бета (HIF-3 β), що кодується геном ARNTL [195, 196, 197, 198, 199, 200].

Особливої уваги серед HIFs заслуговує група активаторів транскрипції HIF-1, що ініціюють експресію набору генів, який допомагає клітинам адаптуватися до гіпоксичного середовища, а також програмує функціонування щонайменше мозку, серця, ЩЗ та нирок у дорослому віці [201].

Завдяки HIF-1 організм починає продукувати гліколізні ферменти, що дають змогу синтезувати аденозинтрифосфат (АТФ) в умовах дефіциту кисню, та фактор росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factor, VEGF), який сприяє ангіогенезу у будь-яких гіпоксичних зонах [202]. Цікаво, що на регуляцію продукції HIF-1 в умовах гіпоксії, як прямий модулятор експресії однойменного гена HIF1, впливає NF- κ B, синтез якого, і собі, індукується TNF [203, 204]. Проте, попри широкі знання стосовно молекулярних процесів, що супроводжують гіпоксію, досі бракує інформації щодо механістичних аспектів, які впливають на регуляцію HIF-1.

На окрему увагу заслуговують гемодинамічні зміни, що характеризуються адаптивною централізацією кровотоку, під час якої посилюється кровопостачання життєво важливих органів, а саме – головного мозку, міокарда та верхньої частини тіла, в той час, коли у нирках, шлунково-кишковому тракті та нижніх кінцівках перфузія значно зменшується [205].

В дослідженнях останніх років було визначено, що ХВГ спричиняє морфофункціональні зміни, спрямовані на компенсацію зниженої оксигенації життєво важливих органів. На користь цього свідчать дані про те, що ХВГ зумовлює ремоделювання серця через посилення апоптозу та збільшення кількості двоядерних кардіоміоцитів [206]. Надалі, у плода розвивається гіпертрофія міокарда на тлі уповільнення загального розвитку плода, та

відбувається посилення експресії колагенів I та III типів та знижується активність металопротеїнази-2 [207].

Паралельно, церебральна вазодилатація в організмі плода призводить до зменшення післянавантаження лівого шлуночка, тоді як системне артеріальне звуження судин нижніх відділів тіла збільшує післянавантаження правого шлуночка [208]. За умов поступної аноксії цей захисний механізм вичерпується, відбувається зниження серцевого викиду та розвивається дистрес плода [209]. В цей час, як компенсаторна реакція, підвищується рівень гемоглобіну, що деякий час підтримує адекватний транспорт кисню до тканин [210].

Надалі відбувається зниження як систолічної, так і діастолічної серцевої діяльності плоду, що призводить до ішемії міокарда, яка формує морфологічне підґрунтя для внутрішньоутробної загибелі плода та раптової смерті новонароджених. У випадках, коли нащадок залишається живим, він одразу потрапляє до групи ризику щодо передчасного розвитку артеріальної гіпертензії та серцево-судинних захворювань [211].

Згідно з даними *Hutter D et al.*, на тлі ХВГ у серцях щурів зменшується кількість генів, що контролюють комунікацію, сигналізацію та виживання клітин, і це, очікувано, має довгострокові наслідки [180].

На користь значущості вивчення морфологічного субстрату ХВГ порівняно з МПІ свідчить теорія *Barker DJP* [212] про фетальне походження захворювань дорослих, згідно з якою адаптивні реакції, що дозволяють плоду пережити період внутрішньоутробної депривації, призводять до перепрограмування фізіологічного онтогенезу з несприятливими наслідками в постнатальному житті. Деякі автори відокремлюють тератогенний ефект ХВГ, що відзначається формуванням вроджених органічних вад розвитку [213].

Було встановлено, що ХВГ підвищує ризик розвитку синдрому раптової смерті немовлят, неврологічних і психоневрологічних розладів, як-от хвороба Альцгеймера, епілепсія, синдром дефіциту уваги та гіперактивності, церебральний параліч, порушення харчової поведінки, когнітивні розлади,

метаболічні та гематологічні порушення [214, 215, 216, 217]. Отже, існують наукові дані про те, що гіпоксія опосередковує зміни траєкторії росту плода через модуляцію експресії генів, які під час фізіологічного онтогенезу визначають майбутній стан здоров'я людини.

На клітинно-тканинному рівні ХВГ порушує диференціювання клітин та ремоделює процеси плацентації, ангіогенезу та кровотворення плода таким чином, що його розвиток уповільнюється [218]. При цьому головним негативним наслідком ХВГ сьогодні можна вважати неспроможність плода досягти генетично обумовленого потенціалу росту [219]. Однак досі бракує досліджень стосовно динаміки впливу ХВГ на морфофункціональний стан органів плода, а саме – ЩЗ.

Стосовно зв'язку між МПІ та ХВГ, *Товажнянська ВД* у власному дослідженні стверджує, що ВУІ «практично в усіх випадках супроводжується розвитком ХВГ, оскільки у клінічній практиці ці два стани неможливо розділити» [220]. Проте ми припускаємо, що дані стани можуть бути незалежними та мати схожу морфофункціональну картину через однакове молекулярне підґрунтя, що формує морфологічний субстрат даної патології. Крім того, ми вважаємо доцільним зіставлення ХВГ як добре вивченого стресового стану з менш вивченою патологією, як-от МПІ, що спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*. Саме тому було вирішено порівнювати вплив МПІ з ХВГ на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків.

1.3. Сучасний погляд на органогенез щитовидної залози

Щитовидна, або щитоподібна залоза, є ендокринним органом хребетних, структура якого цікавить людей ще з давніх часів. Визнання ЩЗ як анатомо-фізіологічної сутності у тілі людини стало можливим з кінця 15 сторіччя після перших розсічень тіл померлих людей. Перша ілюстрація ЩЗ була виконана Леонардо да Вінчі у 1500 році, а пізніше, у 1543 році анатом Андреас Везалій також проілюстрував цей орган та дав їй перший анатомічний опис, а у 1656

році ЩЗ дістала сучасну назву від анатома Томаса Уортонна. З того часу науковцями всього світу створено доказову базу знань, що дає вичерпну інформацію про органогенез ЩЗ.

1.3.1. Ембріологія щитовидної залози

Ембріогенез ендокриноцитів ЩЗ має дуалістичне походження, адже орган формується з двох областей первинної ентодермальної глотки. Медіальний зачаток залози, який згодом утворює фолікулярний епітелій, формується з серединного випинання вентральної стінки глотки між першою і другою парами глоткових кишень. Там він тісно прилягає до місця закладки міобластів серця. Два латеральних зародки, також відомих як ультімобранхіальні тіла, на думку деяких авторів, мають складніше походження через те, що беруть свій початок з четвертої пари глоткових кишень і нервового гребня [221].

Закладання ЩЗ відбувається поряд з коренем язика на 16-17 день внутрішньоутробного розвитку у вигляді скупчення ентодермальних клітин, які надалі врастають у мезенхіму уздовж глоткової кишки до рівня 3-4 пар зябрових кишень, після чого мігрує в область шийі.

До кінця 4-го тижня зародок ЩЗ, представлений епітеліальним тяжем, приймає форму порожнини, що з'єднана з горлом через щитовидно-язикову протоку – вузький отвір на корені язика, і продовжує опускатися. Пізніше дистальний кінець зародка роздвоюється та формує праву і ліву частки органа, які з'єднані перешийком. До 8-го гестаційного тижня щитовидно-язикова протока атрофується, при цьому дистальна частина зародка у половині випадків зберігається та отримує назву пірамідальної частки ЩЗ. Надалі, на рівні 4 пари зябрових кишень, зародок ЩЗ зливається з парними ультімобранхіальними тілами, що утворені скупченням клітин, що проліферують, у вигляді хвостових випинань зябрових кишень [222].

Впродовж 6-8 тижнів зародок розвивається як *пласт епітеліальних клітин* кубічної форми, оточений мезенхімальною капсулою, що пронизана примітивними капілярами. З 8-го тижня мезенхіма починає активно проростати в товщу зародка та поділяти її на часточки, водночас диференціація епітелію краще виражена в периферійних відділах органа. З 10-12-го тижнів ЩЗ плода демонструє здатність накопичувати йод, а вже з 20-го тижня – синтезувати колоїд та продукувати тиреоїдні гормони, тоді під капсулою розправляються поодинокі фолікули [223].

1.3.2. Нормальна анатомія щитовидної залози людини

ЩЗ, або *glandula thyroidea*, є непарним ендокринним органом у формі метелика вагою 20-50 г. Зазвичай вона має дві частки, що лежать по обидва боки від щитовидного хряща гортані, розмірами 5×2×3 см кожна. Вони з'єднані між собою тканинним тяжем – перешийком, розміри якого – 1,25×1,25 см.

ЩЗ залягає у передній частині шиї, спереду прикрита грудинно-під'язиковими та грудинно-щитовидними м'язами, збоку межує з судинно-нервовим сплетінням шиї, а ззаду прилягає до передньої частини трахеї. Щитовидний та персневидний хрящі знаходяться трохи вище залози, перешийок простягається від 2-го до 3-го кільця трахеї, а верхні полюси часток сягають щитовидного хряща, а найнижчі – 4-6-го кільця трахеї [224]. Таким чином, позаду ЩЗ розташована трахея, а також гортань, нижня частина глотки та стравохід [6]. Зовні ЩЗ вкрита сполучнотканинною капсулою, від якої у товщу органа відходять тяжі-екструдати, що поділяють паренхіму на мікроскопічні часточкові одиниці неправильної форми. На задній поверхні часток ЩЗ зазвичай знаходяться 4 паращитовидні залози, по 2 з кожної сторони, що представлені невеликими овальними тільцями масою 0,05-0,09 г.

Іннервація ЩЗ реалізовується нервовими волокнами вегетативної нервової системи, серед яких є симпатичні (верхній шийний ганглії разом з верхніми та нижніми щитовидними нервами, які він утворює) та

парасимпатичні (гілки блукаючого нерву – верхній і зворотний гортанний нерви).

ЩЗ дуже добре васкуляризована, що полегшує вихід тиреоїдних гормонів до кровотоку. Постачання оксигенованої крові відбувається з верхніх артерій, що беруть початок від зовнішніх сонних, та нижніх артерій ЩЗ, що починаються з підключичних. Судинні гілки артерій ЩЗ мають багате розгалуження з великою кількістю анастомозів задля підтримки належної перфузії (рис. 1.4 [225]). Цікаво, що на одну одиницю ваги ЩЗ припадає більше крові ніж на одну одиницю ваги нирки, а під час гіпертиреоїдних станів через стетоскоп можна почути специфічний судинний шум. Венозний дренаж здійснюється нижньою, середньою та верхньою венами ЩЗ.



Рисунок 1.4 – Сканувальна електронна фотографія кровоносних судин ЩЗ [225]

1.3.3. Гістологія щитовидної залози

Паренхіма ЩЗ представлена епітеліальною тканиною, яка формує структурно-функціональну одиницю органа – *фолікул*, що являє собою замкнуту бульбашку, стінки якої виповнені фолікулярними та парафолікулярними клітинами, а просвіт заповнений колоїдом. Також окремо

виділяють *подушечки Сандерсона* – осередки екстрафолікулярного епітелію, який бере участь у фолікулогенезі.

Фолікулярні клітини, також відомі як *тироцити* (рис. 1.5), мають унікальну гістологічну будову, оскільки, на відміну від інших ендокриноцитів, зберігають секрет поза своїми межами, у порожнині фолікула.

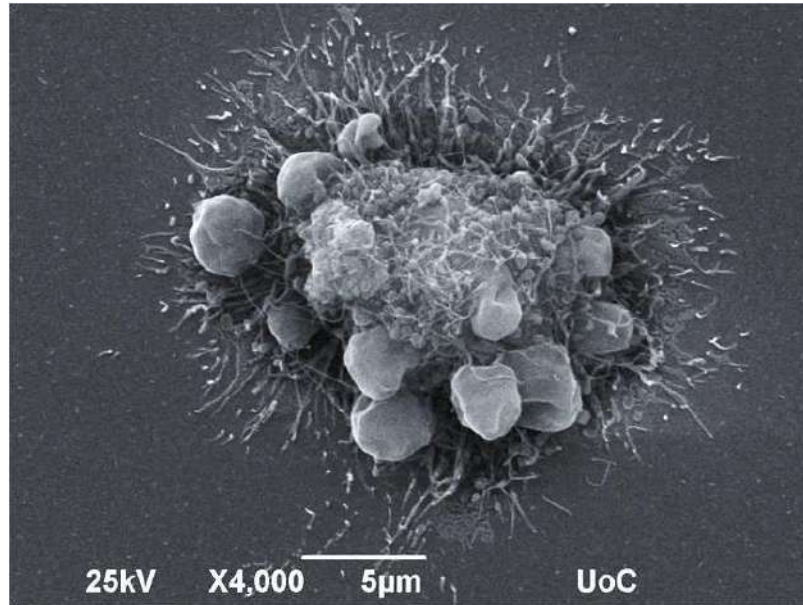


Рисунок 1.5 – Сканувальна електронна фотографія тироцита в нормі [227]

Вони лежать в один шар і пов'язані між собою щільними контактами – десмосомами, – що забезпечують функціонування високорозвиненої міжклітинної сигнальної системи. Відповідно до функціонального стану ЩЗ, тироцити можуть бути різної форми – циліндричної під час гіперфункції, кубічної під час нормофункції та плоскої в умовах гіпофункції. Крім того, вважається, що в умовах гіпофункції тироцити стають щільнішими, а фолікули збільшуються в розмірах через накопичення колоїду, який не використовується повною мірою, натомість при гіперфункції об'єм колоїду зменшується [226].

Паренхіма ЩЗ у фізіологічних умовах представлена двома типами клітин: фолікулярними тироцитами, також відомими як А-клітини, та оптично прозорими парафолікулярними кальцитоніноцитами, або С-клітинами [228], що в роботі не вивчаються. Також існують круглі клітини Ашкеназі-Гюртлє, або В-клітини, які вважаються патологічними [229].

Фолікулярні тироцити мають добре розвинений синтетичний апарат, який включає гранулярні цистерни, рибосоми, полісоми, апарат Гольджі, мітохондрії з кристами пластинчастого типу. На апікальній поверхні, що спрямована в просвіт фолікула та тісно контактує з капілярами, вони мають мікрворсинки, в той час, коли на базальній поверхні розташовані інвагінації плазмолемми. Вочевидь, саме через це ознакою високої транспортно-синтетичної активності тироцитів являється наявність складок та ворсинок на їхній поверхні [230]. Щодо гістологічних характеристик, загальновідомо, що тироцити, а саме межі клітин та їхні ядра, забарвлюються Н&Е у фіолетовий колір.

Колоїд, що міститься у фолікулах, являє собою в'язку рідину, до складу якої входить йодований *тиреоглобулін* (ТГ) – глікопротеїн, попередник тиреоїдних гормонів, який утворюється при поєднанні залишків тирозину з йодом і зберігається у вигляді напівтвердої речовини, що забарвлюється Н&Е в рожевий колір. Розрізняють нейодований, або частково йодований, незрілий колоїд, та повністю йодований, або зрілий [231]. Також вважається, що фолікулярні просвіти неактивної ЩЗ більші, а колоїд здається оптично щільнішим, в той час, коли за умов підвищеної активності просвіт фолікула стає меншим, а колоїд стає прозорим, об'єм його зменшується, реєструються осередки резорбції [232].

Кожна молекула ТГ містить 100-120 залишків тирозину, з яких лише десята частина піддається йодуванню у колоїді ферментом *тиреопероксидазою* (ТПО). Цікаво, що одна молекула ТГ утворює приблизно 10 молекул гормонів ЩЗ [233].

Фолікули ЩЗ оточені тонким шаром ніжної сполучнотканинної стромы, що виповнена колагеновими та поодинокими еластичними волокнами, фібробластами, фіброцитами, макрофагами, плазмоцитами, лаброцитами, фенестрованими капілярами, симпатичними нервовими волокнами та лімфатичними вузлами.

1.3.4. Фізіологія щитовидної залози

Нині відомо, що синтез та накопичення тиреоїдних гормонів відбувається у процесі тісної взаємодії фолікулярних тироцитів та колоїду, при цьому у межах одного органа фолікули можуть перебувати в різних станах активності. Синтез гормонів ЩЗ регулюється гомеостатичним циклом зворотного зв'язку гіпоталамо-гіпофізарної системи. Процес починається з того, що гіпоталамічні нейрони продукують *тиреорелін*, або *тиреотропін-рилізінг-гормон* (ТРГ), який, своєю чергою, стимулює *тиреотрофи*, – базofilні клітини аденогіпофіза – до секреції тиреотропного гормону (ТТГ). Надалі ТТГ стимулює фолікулярні тироцити до вивільнення Т4 та Т3. Оцінка рівня ТТГ відбувається однойменними рецепторами, що розташовані у базолатеральній області фолікулярних тироцитів.

В той самий час, коли рівень ТТГ у крові підвищується, з капілярів ЩЗ через трансмембранний глікопротеїн – *натрію/йодиду (Na^+/I) контраспортер*, або *симпортер*, що розташований у базолатеральній мембрані тироцита, починає захоплюватися і надходити в середину клітини йодид (I^-). Його транспортування здійснюється крізь клітинну мембрану завдяки електрохімічному градієнту натрію, внутрішньоклітинна концентрація якого – 12 ммоль, а позаклітинна – 140 ммоль. Всередині фолікулярних клітин йодид дифундує до апікальної мембрани, де окислюється під дією ферменту ТПО до йоду (I^+), який у колоїді фолікула йодує і перетворює залишки тирозину, що містить у собі ТГ, в *монойодтирозин* (MIT), а потім – в *дйодтирозин* (DIT). Згодом ТПО, у межах однієї молекули або між димеризованими молекулами ТГ, зв'язує молекули MIT та DIT між собою й утворює *трийодтиронін* (3,5,3'-три-йод-1-тиронін, Т3) або дві молекули DIT з подальшою продукцією *тетрайодтироніну*, також відомого як *тироксин* (3,5,3',5'-тетрайодо-1-тиронін, Т4). Після цього, в результаті піноцитозу, молекули ТГ захоплюються фолікулярними клітинами, де вони зливаються з лізосомами та піддаються

гідролізу. Затим відбувається вивільнення Т3 та Т4, 80% якого зазнає подальшого перетворення в Т3 у печінці та нирках [234].

У більшості тканин людини гормони ЩЗ контролюють належну швидкість метаболізму через своєчасне збільшення кількості та розміру мітохондрій, активацію синтезу ферментів дихального ланцюга та збільшення концентрації ферменту $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATP}\text{ази}$, основна функція якого – підтримка потенціалу спокою клітини й регулювання клітинного об'єму.

Таким чином, ЩЗ має багато функцій, серед яких диференціювання клітин, регуляція швидкості основного метаболізму та температури тіла, розвиток ЦНС в організмі плода (рис 1.6 [235]) та її становлення в організмі дитини, стимуляція соматичного та психічного визрівання, стимуляція серцевого ритму та скорочень, регуляція вуглеводного, жирового та білкового обмінів, метаболізм вітамінів, участь в деградуванні холестерину та тригліцеридів, регуляція обміну кальцію, підтримка електролітного балансу, підтримка еритропоезу, посилення мітохондріального метаболізму, збільшення споживання кисню клітинами та тканинами, регуляція настрою та поведінки, стимуляція моторики кишечника і посилення чутливості бета-адренергічних рецепторів до катехоламінів [236, 237, 238, 239, 240, 241].

1.4. Порівняльна характеристика органогенезу щитовидних залоз людини та щура

Враховуючи стійкий приріст тиреоїдної патології, порівняння морфологічних особливостей ЩЗ людини та щура є надзвичайно необхідним, адже саме щуряча модель є економічно доступною та ефективною у моделюванні патологічних процесів. Тому в літературі вже доступна інформація стосовно подібностей та відмінностей даної ендокринної залози у людей та щурів (рис. 1.6).

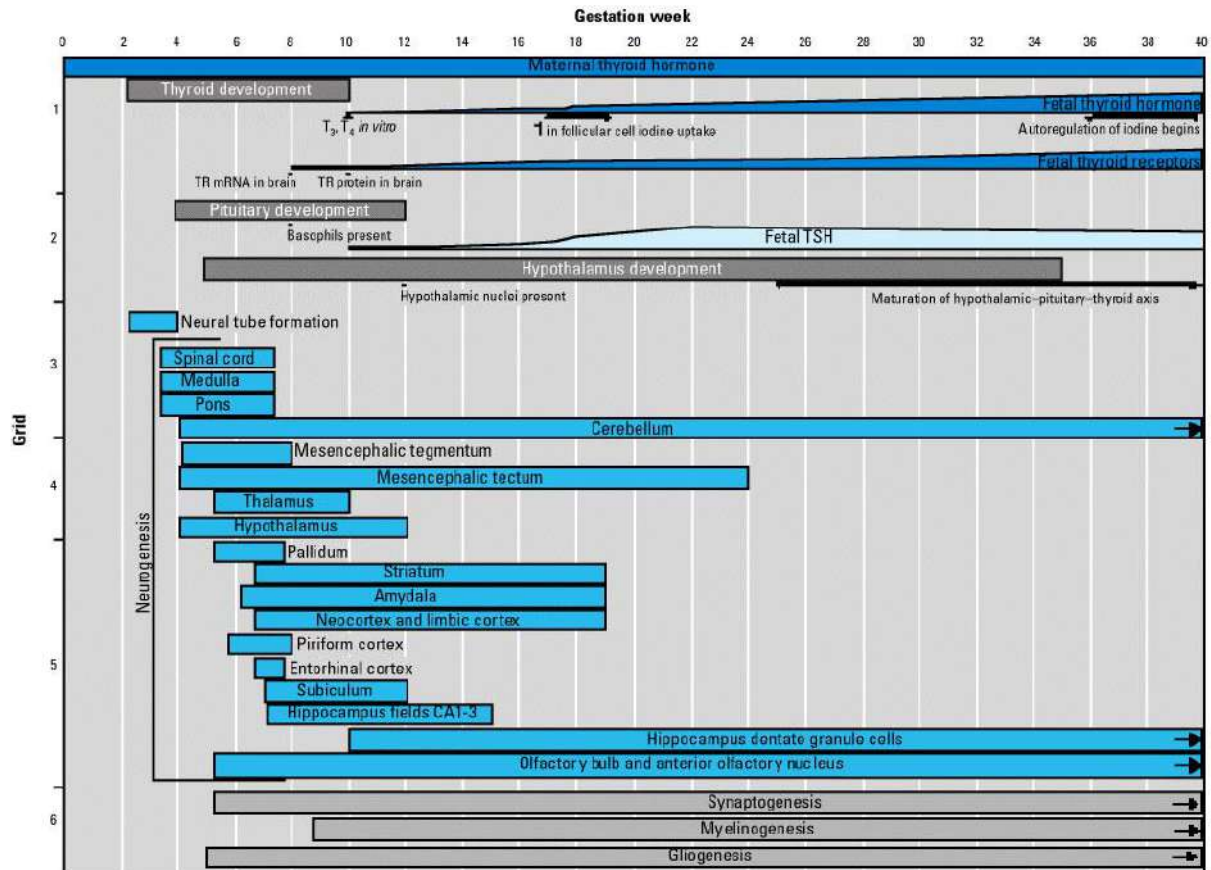


Рисунок 1.6 – Послідовність розвитку ЩЗ та нервової системи людини [235]

Макроскопічно ЩЗ дорослих щурів має вигляд двох овальних часток білуватого кольору (внаслідок наявності капсули), які наче огортають кільце трахеї та можуть бути поєднані перешийком. Дана картина, за топографічною та зовнішньою будовою, вочевидь, нагадує ЩЗ людини. При цьому вага ЩЗ людини, згідно з даними літератури, становить 0,028-0,041% від маси тіла, в той час, коли вага ЩЗ щура становить 0,007-0,021% від маси тіла, що може свідчити на користь міжвидової подібності органа. Крім того, вага та розмір ЩЗ у жінок, аналогічно до ЩЗ самиць щурів, дещо домінує над вагою та розміром ЩЗ чоловіків та щурів чоловічої статі відповідно [242].

Щодо порівняльної характеристики мікроскопічних параметрів ЩЗ людини та щура, відомо, що, попри більшу варіативність у кількості та структурі часток, ЩЗ людини має аналогічну до щурачої мікроархітектуру [33, 243, 244]. Це свідчить на користь того, що результати дослідження ЩЗ

нащадків з використанням щурячої моделі можуть бути екстрапольовані на людину.

Висновки до розділу 1

Аналіз сучасних літературних джерел дозволив встановити, що поняття ВУІ представлено низкою синонімічних концепцій, які з різного боку характеризують цей патологічний стан. Проте в патологічній анатомії використання терміну МПІ повинно бути обґрунтовано щонайменше наявністю морфологічного субстрату як в плаценті, так і в організмі нащадка.

Також виявлено, що ВУІ становить від 11 до 45% у структурі перинатальної смертності в Україні, а у світовому масштабі є причиною передчасних пологів у 40% випадків.

Встановлено, що до основних факторів ризику розвитку бактеріальних ВУІ належать, по-перше, осередки хронічної бактеріальної інфекції в організмі матері, по-друге, інвазивні процедури, що проводяться для оцінки плинності вагітності та можуть призводити до забруднення навколоплідних вод. Разом з тим, найбільш значущим фактором розвитку МПІ вважається надмірна сприйнятливість до неї плода, механізми якої досі залишаються дискусійними.

При цьому більшість інфекційних агентів, з якими стикаються акушери та гінекологи, менш вірулентні, ніж ті, з якими їм доводилося мати справу раніше. Особливої уваги заслуговує той факт, що все частіше подібні збудники представлені представниками мікробіоти та умовно-патогенної мікрофлори людини, як-от *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, генетична гетерогенність яких дозволяє їм проявляти незвичну або несподівану модель стійкості до антибіотикотерапії.

Також було з'ясовано, що з метою визначення морфофункціональних змін у ЩЗ, з МПІ доцільно порівнювати хронічну предплацентарну гіпоксію плода, що також може бути експериментально змодельована за вже відомою методикою. У зв'язку з тим, що дані стани можуть мати схожий морфологічний

субстрат через спільне молекулярне підґрунтя, а ХВГ, крім того, є добре вивченим стресовим станом, було прийняте рішення щодо її зіставлення з МПІ, що спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*.

Встановлено, що іншою важливою проблемою сьогодення є бактеріальна МПІ з субклінічним перебігом, яка може залишитися непоміченою та мати згубні наслідки. Адже сьогодні патологічна анатомія ВУІ охоплює порушення гемодинаміки, дистрофічні зміни, десквамацію та атрофію епітелію, активацію процесів проліферації та апоптозу, епітеліально-мезенхімальну трансформацію, інтенсифікацію колагеногенезу та, відповідно, передчасного склерозування разом з порушенням місцевого імунітету та доведеними морфофункціональними змінами в аорті та легеневій артерії, гепатобіліарній, адреналовій та сечовидільній системах. Проте механістичні аспекти розвитку даної патології у деяких органах та тканинах досі залишаються невивченими, і до їхнього числа належить ЩЗ, яка відіграє ключову роль в онтогенезі людини.

Отже, розуміння морфологічного відбиття МПІ в організмі нащадків, а особливо – у їхній ЩЗ, є необхідним для обґрунтування профілактично-діагностичних методів, що можуть бути спрямовані на боротьбу з цією патологією, а також – для розвитку клінічного мислення у лікарів.

Також важливо зазначити, що аналіз публікацій останніх років дозволив дійти висновку, що результати дослідження ЩЗ нащадків з використанням щурячої моделі можуть бути екстрапольовані на людину.

Відтак, можна стверджувати, що результати літературного огляду обґрунтовують актуальність проблеми стосовно визначення впливу МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків і не суперечать можливості реалізації даного дослідження.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Дизайн дослідження

З метою відтворення та вивчення впливу субклінічних МПІ, спричинених *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків, ми провели контрольоване експериментально-патоморфологічне дослідження з блоковою рандомізацією за участю лабораторних тварин, а саме – статевозрілих щурів породи WAG (Україна, Харків) та їхніх нащадків: плодів та новонароджених.

Робота виконувалася в ХНМУ на матеріально-технічній базі кафедри патологічної анатомії, в експериментальній біологічній клініці та центральній науково-дослідній лабораторії.

Дизайн дослідження будували згідно з відомими експериментальними моделями за участю щурів [42, 43, 245, 246]. Вибір популяції щурів WAG був обґрунтований тим, що вона, крім того, що вважається багатоцільовою, прицільно використовується в моделях з імунологічним фокусом [247].

За основу для експерименту були обрані патенти UA 108806 «Спосіб моделювання внутрішньоутробного інфікування плода та новонародженого як наслідку підгострого інфекційно-запального процесу матері» та UA 88459 «Спосіб моделювання внутрішньоутробної гіпоксії з асфіксією новонародженого в пологах» [42, 43].

На етапі планування експериментального дослідження нами були висунуті такі гіпотези:

- Н0 – *нульова гіпотеза* – між морфофункціональними станами ЩЗ нащадків щурів у нормі та за умов МПІ та/або ХВГ у віковій динаміці відмінностей немає;
- Н1 – *альтернативна гіпотеза* – між морфофункціональними станами ЩЗ нащадків щурів у нормі та за умов МПІ та/або ХВГ у віковій динаміці відмінності є.

Перевірка даних гіпотез виконувалася в 3 етапи:

- 1 етап: експериментальне моделювання впливу МПІ, що спричинені окремо *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, з субклінічним перебігом, а також ХВГ як позитивного контролю в організмі нащадків задля відтворення відповідного морфофункціонального стану в органах і системах плода, в тому числі – в ЩЗ;
- 2 етап: патоморфологічне дослідження ЩЗ нащадків щурів, які розвивалися за умов МПІ, що спричинені окремо *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, з субклінічним перебігом, а також – з ХВГ задля визначення морфофункціонального стану органа за даних умов;
- 3 етап: статистичний аналіз отриманих результатів.

Згідно з рекомендаціями *Systematic Review Centre for Laboratory animal Experimentation (SYRCLE)* [248], для оцінки ризику систематичних помилок в дослідженнях на тваринах, нами була розроблена та застосована методика генерування послідовності відбору тварин у групи, що базувалася на критеріях включення, представлених у таблиці 2.1.

Формування критеріїв та реєстрація всіх даних про стан тварин у ході експерименту відбувалася із застосуванням кодів з медичної термінологічної бази *The Observational Medical Outcomes Partnership Common Data Model (OMOP CDM)* [249, 250], використання якої дозволяє стандартизувати підхід до зберігання інформації через створення локальної інформаційної бази даних, що може бути застосована повторно в інших аналітичних дослідженнях як прототип.

Таблиця 2.1

Критерії включення тварин до експерименту

№	Змінна	Характеристика	Код
1	Вид	Щури популяції WAG	74127002 Wistar rat
2	Карантин	Адаптація тварин після транспортування в груповій ізоляції з використанням бар'єрної системи, не менше 10 діб	40174006 Isolation technique
3	Умови утримання	Постійна експериментальна середа (окреме приміщення зі стандартними освітленням та температурою, однаковий розмір кліток, ізолюваність від сторонніх подразників). Кількість тварин у клітках не більше 10 особин одної статі	276339004 Environment 88323005 Adequate
4	Умови годування	Повноцінний харчовий раціон (комбікорм с йодованим преміксом), годування в однаковий час згідно з тваринними біоритмами	161837007 Feeds normally
5	Передбачуваний мікробіологічний статус щурів	Покращені конвенціональні	92239-3 Infectious pathogen carried [Identifier] 385425000 Improved
6	Температура тіла	38,5-39,5°C	386725007 Body temperature 38,5-39,5 {degree Celsius}
7	Стать	Самиці Самці	248152002 Female 248153007 Male
8	Вік	Для самиць: 8-10 місяців Для самців: 10-12 місяців	397669002 Age Between 8 and 10 {months} Between 10 and 12 {months}
9	Репродуктивний стан	Нормальний репродуктивний стан: завершений розвиток статевих органів, диференційовані вторинні статеві ознаки. Для самиць додатково: протяжність естрального циклу – 4-5 днів, відсутність попередньої вагітності (nulligravida)	7075003 Normal reproductive state 53881005 Gravida 0
10	Маса тіла щура	Самиці: 210-230 г Самці: 300-335 г	27113001 Body weight F: 210-230 {G} M: 300-335 {G}

Випадки виключення особин з експерименту реєструвалися у журналі проведення експерименту з поясненням причин. Критерії виключення тварини з експерименту наведені у таблиці 2.2. Для належної реєстрації випадків загибелі лабораторних тварин використовували «419620001 Death».

Таблиця 2.2

Критерії виключення тварини з експерименту

№	Змінна	Характеристика	Код
1	Стан здоров'я	Виникнення будь-яких симптомів захворювань чи загибель тварини в ході експерименту	64572001 Disease або 419620001 Death
2	Апетит	Відмова від їжі довше ніж на добу	105481005 Refusing food >1{day}
3	Вага	Зменшення ваги понад 10% від початкової	309257005 Excessive weight loss
4	Факт вагітності	Відсутність очікуваної вагітності у самиці щура	Відсутність коду 118185001 Finding related to pregnancy після фази 2

2.2. Формування груп експериментального дослідження

Необхідна кількість експериментальних тварин, що відповідала критеріям включення, була випадковим чином розподілена на 5 груп, що представлені у таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

Загальна характеристика експериментальних груп самиць щурів

№ групи	Умовна назва групи	Кількість тварин у групі	№ клітки	Кількість тварин у клітці	Умовне позначення підгрупи	Характеристика групи
1	2	3	4	5	6	7
1	МС – Mothers, control	10	1	5	МС1	Група негативного контролю: здорові самиці щурів, що отримали плацебо у вигляді введення води для ін'єкцій, завагітніли та дали нащадків
			2	5	МС2	
2	МЕС – Mothers, E. coli	25	3	5	МЕС1	Група дослідження: здорові самиці для відтворення МПІ, спричиненої E. coli, з субклінічним перебігом
			4	5	МЕС2	
			5	5	МЕС3	
			6	5	МЕС4	
			7	5	МЕС5	

Продовження табл. 2.3

1	2	3	4	5	6	7
3	MSA – Mothers, S. aureus	25	8	5	MSA1	Група дослідження: здорові самиці щурів для відтворення МПІ, спричиненої S. aureus, з субклінічним перебігом
			9	5	MSA2	
			10	5	MSA3	
			11	5	MSA4	
			12	5	MSA5	
4	МКР– Mothers, K.pneumoniae	25	13	5	МКР1	Група дослідження: здорові самиці щурів для відтворення інфекції, спричиненої К. pneumoniae, з субклінічним перебігом
			14	5	МКР2	
			15	5	МКР3	
			16	5	МКР4	
			17	5	МКР5	
5	МСІН – Mothers, chronic intrauterine hypoxia	10	18	5	МСІН1	Група позитивного контролю: здорові самиці щурів для відтворення ХВГ у нащадків
			19	5	МСІН2	
Разом		95				

Різниця у кількості тварин між групами була обґрунтована такими факторами:

- кінцевою віхою експерименту, що полягала в отриманні нащадків від самиць щурів. При цьому ми очікували, що середній розмір першого приплоду у щурів породи Wistar складе 6 особин [251];
- ризиками, пов'язаними із запланованим експериментальним впливом: групи, що будуть експоновані до інфекційних агентів, у 2,5 раза більші за групи контролю, через більшу ймовірність розвитку гострих станів та настання смерті в ході експерименту;
- принципами біоетики: з урахуванням вимог до вибірки, чим менше тварин ми долучаємо, тим краще.

До кожної клітки у віварії заселялася однакова кількість голів (n=5).

2.3. Експериментальне моделювання материнсько-плодової інфекції та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії

Згідно з рекомендаціями *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE)* [252] щодо проведення експериментів на тваринах, нами були встановлені *кінцеві точки експерименту*, серед яких виділялися *первинні* та *вторинні*. Для досягнення кінцевих точок, дослідження було розподілено на *фази*, що представлені у таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Фази та кінцеві точки експерименту

Фаза	Характеристика кінцевої точки	Умовне позначення кінцевої точки	Доба експерименту та відповідна маніпуляція
1	2	3	4
I	Відтворення у черевній порожнині самиць щурів підгострого інфекційно-запального процесу, як еквіваленту субклінічної МПІ, за відомою методикою	Вторинна віха 1	0 доба – сенсibilізація 10 доба – інфікування 1-ю дозою 20 доба – інфікування 2-ю дозою 30 доба – інфікування 3-ю дозою
II	Одночасне запліднення якомога більшої кількості самиць щурів всіх груп впродовж 1 доби через підсаджування здорових самців до кліток	Вторинна віха 2	31 доба
III	Відтворення ХВГ у частини інтактних до інфікування самиць щурів після запліднення	Вторинна віха 3	32-53 доба – щоденне експонування самиць до висотного гіпоксичного впливу у барокамері у кількості 21 сеанс
IV	Вилучення плодів щурів та плацент під час автопсії самиць задля верифікації МПІ та ХВГ	Вторинна віха 4	52 доба
V	Отримання ІЦЗ плодів щурів з субклінічними МПІ, що спричинені <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> (окремо кожним збудником)	Первинна віха 1А	52 доба
VI	Отримання ІЦЗ плодів щурів від матерів з ХВГ	Первинна віха 1В	52 доба

Продовження табл. 2.4

1	2	3	4
VII	Отримання ІЦЗ новонароджених щурів з субклінічними МПІ, що спричинені <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> (окремо кожним збудником)	Первинна віха 2А	53 доба
VIII	Отримання ІЦЗ новонароджених щурів, що розвивалися за умов ХВГ	Первинна віха 2В	54 доба
IX	Патоморфологічне дослідження отриманих зразків з подальшим збором та аналізом даних	Первинна віха 3	-

Не враховуючи час заселення та адаптації тварин до кліток, експеримент тривав 54 доби, та мав таку хронологію:

- 0 доба: підшкірне введення самицям щурів групи МС 0,1 мл води для ін'єкцій у стегнову ділянку як плацебо та сенсibilізація тварин з груп МЕС, МКР та МSA одноразовими підшкірними ін'єкціями суспензії убитих нагріванням клітин референтних штамів *E. coli* (ATCC 25922 (F50)), *S. aureus* (ATCC 25923) та *K. pneumoniae* (NCTC 5055) у дозі 0,1 мл щільністю 1 од., 3 од. та 1 од. за шкалою McFarland відповідно. Тварини групи МСІН – інтактні (до 30 доби включно);
- 1-9 доба: спостереження;
- 10 доба: внутрішньоочеревинне (ВО) введення води для ін'єкцій у дозі 0,1 мл самицям групи МС та ВО інфікування тварин груп дослідження суспензією мікробних клітин, розведених у 0,1 мл 20% розчину маніту, у кількості від 300×10^6 до 2×10^9 для групи МЕС, від 200×10^6 до 2×10^9 для групи МSA та від 100×10^6 до 2×10^9 для групи МКР;
- 11-19 доба: спостереження, оцінка фізіологічних показників;
- 20 доба: ВО введення води для ін'єкцій у дозі 0,1 мл самицям групи МС та ВО інфікування тварин груп дослідження суспензією мікробних клітин, розведених у 0,1 мл 20% розчину маніту, у кількості від 300×10^6 до 2×10^9 для групи МЕС, від 200×10^6 до 2×10^9 для групи МSA та від 100×10^6 до 2×10^9 для групи МКР;

- 21-29 доба: спостереження, оцінка фізіологічних показників;
- 30 доба: ВО введення води для ін'єкцій у дозі 0,1 мл самицям групи МС та ВО інфікування тварин груп дослідження суспензією мікробних клітин, розведених у 0,1 мл 20% розчину маніту, у кількості від 300×10^6 до 2×10^9 для групи МЕС, від 200×10^6 до 2×10^9 для групи MSA та від 100×10^6 до 2×10^9 для групи МКР;
- 31 доба: підсадження самців з розрахунку 2 особини на 1 клітку, спроба запліднення самиць з еструсом через спарювання. Забір вагінальних мазків для підтвердження факту запліднення в особин з об'єктивною підставою (факт коїтусу);
- 32 доба (1 доба вагітності): відсадка самців, відсадка інтактних самиць, перегрупування самиць, що залишилися згідно з датою умовного запліднення;
- 33-45 доба (2-14 доба вагітності): спостереження за групами МС, МЕС, МКР, MSA та щоденне експонування групи МСІН до впливу підвищеного атмосферного тиску (287 мм рт. ст.) у герметичній барокамері впродовж 20 хвилин у той самий час;
- 46 доба (15 доба вагітності): фіксація зовнішніх ознак вагітності (зміни поведінки, збільшення округлості живота та молочних залоз) у тварин всіх груп та експонування групи МСІН до впливу підвищеного атмосферного тиску (287 мм рт. ст.) у герметичній барокамері впродовж 20 хвилин в однаковий час;
- 47-50 доба (16-19 доба вагітності): спостереження за групами МС, МЕС, МКР, MSA та експонування групи МСІН до впливу підвищеного атмосферного тиску (287 мм рт. ст.) у герметичній барокамері впродовж 20 хвилин у той самий час;
- 51 доба (20 доба вагітності): виведення частини самиць усіх груп, які обиралися випадковим чином, з експерименту з подальшою евтаназією через миттєву декапітацію, вилученням та автопсією плодів задля отримання їхніх органів, спостереження за тваринами, що залишилися,

у групах МС, МЕС, МКР, МSA та експонування тварин групи МСІН до впливу пониженого атмосферного тиску (287 мм рт. ст.) у герметичній барокамері упродовж 20 хвилин в однаковий час;

- 53-54 доба (22-23 доба вагітності): фіксація природних пологів у самиць щурів всіх груп, відсадка частини новонароджених щурят, які обиралися випадковим чином, з їхнім подальшим виведенням з експерименту через миттєву декапітацію, автопсією та вилученням внутрішніх органів.

Таким чином, після завершення експериментального моделювання МПП, що спричинені *E. coli*, *S. aureus*, та *K. pneumoniae*, з субклінічним перебігом, а також – ХВГ, необхідні патологічні стани було відтворено у 19 самиць з 95-тьох, залучених до дослідження на його початку. Процес подальшого відбору тварин відбувався таким чином. На 20-ту добу 15 самиць, – по 5 з груп МЕС, МКР, та МSA, – були рандомізовано виведені з експерименту задля евтаназії, автопсії та гістологічного дослідження змін в очеревині, які, своєю чергою, засвідчили наявність підгострого запалення. Залишилося 80 тварин.

На 30-ту добу 15 самиць, – по 5 з груп МЕС, МКР, та МSA, – були випадковим чином виведені з експерименту задля евтаназії, автопсії та гістологічного дослідження змін в очеревині, які засвідчили наявність підгострого запалення. Також тієї ж доби 3 особини загинули під час маніпуляції з інфікування. Відтак залишилося 62 тварини з успішно змодельованим підгострим інфекційно-запальним процесом у черевній порожнині, що надалі ляже в основу інспаратної МПП.

На 31-шу добу було підсаджено 26 самців (по 2 голови на 1 клітку). На 32-гу добу було виведено всіх самців, а також 42 інтактні до запліднення самиці, які відповідали критерію виключення №4 про «Відсутність очікуваної вагітності», залишилося 19 самиць (14 з інфекцією та 5 готових для відтворення ХВГ).

На 46-ту добу експерименту (15-ту добу після запліднення) у всіх тварин, що залишилися, об'єктивно була підтверджена вагітність за наявності зміни

поведінки, збільшення округлості живота та молочних залоз. Це дозволило продовжити експеримент.

На 51-шу добу (20-ту добу вагітності) випадковим чином було вилучено 10 тварин з їхньою подальшою евтаназією, автопсією, вилученням 43 плодів та отриманням їхніх органів. Також для подальшого гістологічного дослідження було отримано 43 плаценти.

З використанням соматометричного методу було визначено середні значення *ваги плодів* щурів після вилучення, що склала $4,197 \pm 0,437$ г, *довжини тіла*, що склала $4,140 \pm 0,379$ см, та *довжини хвоста*, що склала $1,331 \pm 0,088$ см.

На 52-гу добу експерименту (21-шу добу вагітності) 2 самиці самостійно народили щурят у кількості 15 особин.

На 53-тю добу експерименту (22-гу добу вагітності) 4 самиці самостійно народили щурят у кількості 26 особини.

На 54-ту добу експерименту (23-тю добу вагітності) останні 3 самиці самостійно народили 22 щурят, крім того, були вилучені плаценти для гістологічного дослідження.

45 новонароджених щурят підлягали евтаназії, соматометрії, а затим – автопсії з подальшим вилученням їхніх органів, в тому числі – ЩЗ.

Після завершення експериментальної частини дослідження ми використовували соматометричний метод, згідно з яким було визначено середні значення *ваги* новонароджених, що склала $5,648 \pm 0,478$ г, *довжини тіла*, що склала $5,378 \pm 0,162$ см, та *довжини хвоста*, що склала $1,675 \pm 0,157$ см. Порівняння соматометричних показників між групами в даній роботі не наводяться, адже вони вже публікувалися у роботах, виконаних у межах НДР кафедри патологічної анатомії ХНМУ [11, 32, 33].

Всі дані щодо експерименту, лабораторних тварин та процедур, що виконувалися, були занесені у *«Протокол експериментального дослідження з моделювання морфофункціонального стану органів і систем у нащадків щурів популяції Wistar Albino Glaxo за умов материнсько-плодових інфекцій, що*

спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, а також хронічної внутрішньоутробної гіпоксії» (Додаток Г).

Затим виконували патоморфологічне дослідження експериментального матеріалу.

2.4. Патоморфологічне дослідження щитовидної залози нащадків

Дизайн патоморфологічного дослідження моделювали таким чином, щоб дати змогу дослідникові визначити вплив субклінічної бактеріальної МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків щурів.

Для визначення топографії та алгоритму екстракції ЩЗ був застосований *макроморфологічний метод*, у ході якого ЩЗ плодів та новонароджених через вкрай малі розміри та високий ризик пошкодження під час евісцерації вилучалися разом із суміжними тканинами у вигляді шийно-головних сегментів за методом Пирогова. Так, було відпрепаровано 88 *тканинних фрагментів*, що містили ЩЗ, а також стравохід, трахею, хрящ (щитовидний або персневидний), сполучні тканини та м'язи. Вилучені зразки випадковим чином були розподілені згідно з віком та впливом під час внутрішньоутробного розвитку на 10 груп (табл. 2.5).

Таблиця 2.5

Розподіл ЩЗ нащадків за групами для подальшого патоморфологічного дослідження

№ групи	Умовне позначення групи	Фактор впливу	Кількість ЩЗ плодів	Кількість ЩЗ новонароджених
1 6	FC NC	Щурята від матерів з фізіологічною вагітністю	10	7
2 7	FEC NEC	МПІ, <i>Escherichia coli</i>	10	13
3 8	FKP NKP	МПІ, <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	7
4 9	FSA NSA	МПІ, <i>Staphylococcus aureus</i>	8	7
5 10	FCIH NCIH	ХВГ	6	11
Разом			43	45

З використанням гістологічного методу було залито 88 парафінових блоків, з яких на мікротомі було виготовлено зрізи завтовшки 5-6 мкм у кількості 271 зразок, 171 з яких надалі забарвлювали Н&Е для ідентифікації органа і його основних структур, пікрофуксином за методом Ван Гізона та за Маллорі – для вивчення його сполучнотканинного компонента; 100 препаратів, що залишилися, були використані пізніше для ІФД.

Заради визначення морфофункціонального стану ЩЗ нащадків, що розвивалися за умов субклінічної бактеріальної МПІ, був застосований мікоморфологічний метод з використанням оптичної мікроскопії на мікроскопі *Carl Zeiss PrimoStar* та фотографування полів зору на камеру *Carl Zeiss AxioCam 105* з захопленням зображень у програмному забезпеченні *ZEN Blue Edition* (версія 2.0) [253], розгорнутої морфометрії з вимірюванням 7 гістоструктурних параметрів ЩЗ у програмі з обробки зображень, у тому числі біологічних, *ImageJ* (версії 1.52a-1.52o) [254, 255], а саме – площі фолікула, діаметра фолікула, висоти тироцита, площі тироцита, площ цитоплазми та ядра, які, згідно з результатами наукових праць, вважаються показовими в контексті оцінки морфофункціонального стану [256, 257, 258]; та імунофлуоресцентне дослідження 5 маркерів морфофункціонального стану ЩЗ, а саме – оптичної щільності (ODF) та площі флуоресценції (SF) T4, як прямих маркерів функціональної активності залози [259, 260], колагенів I та III типів, як показників стану стромального компонента органа [261], IL6 та TNF, як індикаторів клітинного пошкодження [262, 263], у мікроскопі *Carl Zeiss Axioskop 40 FL* з захопленням зображень камерою *Canon A520* та подальшим аналізом у програмному забезпеченні *ImageJ* (версії 1.52a-1.52o).

Результати реплікаційних вимірювань, проведених на одному зразкові під час морфометрії та ІФД, усереднювалися до одного значення.

2.4.1. Формування груп патоморфологічного дослідження

Усі зразки ЩЗ нащадків були розподілені на групи залежно від вікової категорії нащадка та впливу, що був отриманий під час внутрішньоутробного розвитку (табл. 2.6).

Таблиця 2.6

Групи патоморфологічного дослідження

Вікова категорія	Повна назва групи	Коротка назва групи	Фактор впливу, до якого експонується група
ПЛОДИ	Fetuses, control	FC	Плацебо (негативний контроль)
	Fetuses, E. coli	FEC	Субклінічна МПІ, що спричинена E. coli
	Fetuses, K. pneumoniae	FKP	Субклінічна МПІ, що спричинена K. pneumoniae
	Fetuses, S. aureus	FSA	Субклінічна МПІ, що спричинена S. aureus
	Fetuses, chronic intrauterine hypoxia	FCIH	ХВГ (позитивний контроль)
НОВОНАРОДЖЕНІ	Newborns, control	NC	Плацебо
	Newborns, E. coli	NEC	Субклінічна МПІ, що спричинена E. coli
	Newborns, K. pneumoniae	NKP	Субклінічна МПІ, що спричинена K. pneumoniae
	Newborns, S. aureus	NSA	Субклінічна МПІ, що спричинена S. aureus
	Newborns, chronic intrauterine hypoxia	NCIH	ХВГ

2.4.2. Методика виконання розгорнутої морфометрії щитовидної залози нащадків

Отримані фотографії гістологічних препаратів ЩЗ конвертувалися з формату .png у формат .jpeg та відкривалися у програмі *ImageJ*. Після цього ми виконували таку послідовність дій:

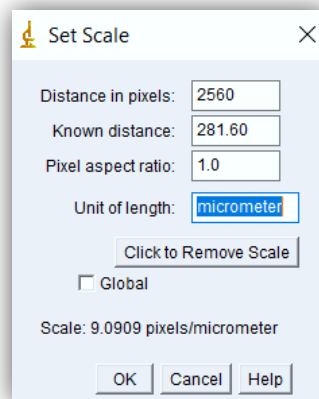
1. Калібрували зображення (Analyze>Calibrate) та масштабували його (Analyze>Set Scale) згідно з вихідними даними *ZEN Blue Edition* (табл. 2.7). Скриншот діалогового вікна зображень на рисунку 2.1;

2. Налаштовували необхідні вимірювання [264], що надалі автоматично виконувалися програмою (Analyze>Set Measurements), скриншот діалогового вікна наведений на рисунку 2.2.

Таблиця 2.7

Масштабування зображень, зроблених у програмі ZEN Blue Edition, для виконання точних замірів програмою ImageJ

Збільшення об'єктива	Масштабування на піксель, мкм	Розмір зображення масштабований, мкм	Розмір зображення, піксель
×400	0,11×0,11	281,6×211,2	2560×1920
×250	0,176×0,176	450,56×337,92	2560×1920
×100	0,44×0,44	113000×844,80	2560×1920
×40	1,1×1,1	282000×211000	2560×1920

Рисунок 2.1 – Масштабування мікрофотографії у програмі *ImageJ*

Для проведення морфометрії гістоструктур ЩЗ, ми використовували такі заміри:

- *Area* – площа виділення у квадратних пікселях, вказана у відкаліброваних одиницях для розрахунку площі;
- *Mean Gray Value*, або середнє значення сірого в межах виділення, – сума всіх сірих значень пікселів у виділенні, поділена на кількість пікселів, що повідомляється у відкаліброваних одиницях – для контролю кольорової однорідності зображень;

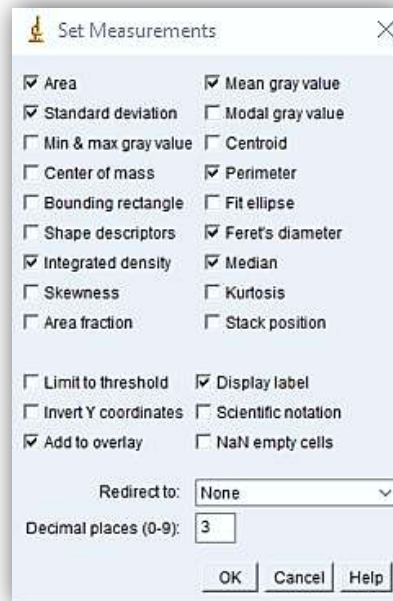


Рисунок 2.2 – Налаштування необхідних вимірювань у програмі ImageJ

- *Perimeter* – довжина зовнішньої межі виділення – для розрахунку периметрів;
- *Feret's diameter*, або діаметр Ферета, – найдовша відстань між будь-якими двома точками вздовж межі виділення, також відома як максимальний супорт – для визначення діаметра овальних структур;
- *IntDen*, або інтегрована щільність, – обчислює та відображає два значення: «*IntDen*» (добуток площі та середнього значення сірого) і «*RawIntDen*» (сума значень пікселів на зображенні або виділеному – для контролю кольорової однорідності зображень з однієї групи);
- *StdDev* – стандартне відхилення значень сірого, що використовуються для генерації середнього значення сірого – для статистичного аналізу;
- *Mediana* – медіана значення пікселів на зображенні чи виділенні – для статистичного аналізу.

3. Почергово маркували необхідні структури, що вказані нижче, за допомогою *лупи* (Панель інструментів>Magnifying glass) та інструменту «*вибір від руки*» (Панель інструментів>Freehands selection) разом з автоматичною реєстрацією результатів замірів після кожного маркування

(Analyze>Measure, або комбінація клавіш Ctrl+M). Використовуючи вищезазначені налаштування, ми виміряли такі морфометричні параметри:

- Площа фолікула ЩЗ, Sfol;
 - Діаметр фолікула ЩЗ (розраховується за Феретом), Dfol;
 - Висота тироцита, Hthyr;
 - Площа тироцита, Sthyr;
 - Площа цитоплазми, Scyt;
 - Площа ядра тироцита, Snuc;
4. Зберегли результати вимірювання у .csv форматі (Analyze>Measure>File>Save As).
 5. Виконали постпроцесинг результатів, отриманих у програмі *ImageJ*, у вигляді розрахунку таких параметрів, як:
 - площа цитоплазми тироцита: $Scyt = Sthyr - Snuc$;
 - ядерно-цитоплазматичне відношення: $NCR = Snuc / Scyt$.

Таким чином, для кожного зразка, на збільшенні $\times 400$, замірялися окремо Dfol (120 замірів у 10-тих полях зору для кожного зразка), Hthyr та Sthyr (210 замірів у 10-тих полях зору для кожного зразка), Snuc та Scyt з підрахуванням NCR для кожної клітини, параметри якої вимірювалися (210 замірів у 10-тих полях зору для кожного зразка).

2.4.3. Методика проведення імунофлуоресцентного дослідження

З використанням непрямого методу Кунса, частину зрізів ($n=100$) обробляли моноклональними антитілами (МоАт) до T4 (*Chemicon International*), колагенів I та III типів (*Novocastra Laboratories Ltd*), IL6 (*Novocastra Laboratories Ltd*) та фактору некрозу пухлини (TNF) (*Novocastra Laboratories Ltd*). Отримані препарати ($n=100$) вивчали у люмінесцентному мікроскопі *Carl Zeiss Axioskop 40 FL* на збільшеннях $\times 100$, $\times 250$ та $\times 600$ з подальшим захопленням зображень цифровою камерою *Canon A520* та

вимірюванням площі та інтенсивності флуоресценції вищезазначених аналітів у програмі *ImageJ*. Методика даного дослідження виглядала таким чином:

1) Згідно з рекомендаціями розробників програмного забезпечення [265], кожне зображення конвертували у «weighted RGB» (Edit>Options>Conversions) та калібрували (Analyze>Calibrate).

2) Затим, з використанням порогу кольорів та математичного алгоритму максимальної ентропії (Image>Adjust>Threshold Color; Tresholding method: MaxEntropy, Brightness – 55, інші параметри – без змін>кнопка «Select»), визначали області інтересу (region of interest, ROI), представлені відокремленими ділянками флуоресценції.

3) Далі проводили аналіз часток (Analyze>Analyze Particles, налаштування: Size (pixel ²): 0-Infinity, Circularity: 0.00-1.00, Show: Count Masks, відмітки поряд з Display results та Summarize> кнопка «Ок») з кількісним визначенням загальної площі зон флуоресценції («Total Area»), далі – SF, та оптичної щільності («Mean Gray Value»), далі – ODF.

4) Результати вимірювань аналогічно зберігали у форматі .csv.

Щодо інтерпретації результатів ІФД, значення ODF вважали позитивним, коли воно було більшим або дорівнювало 50 (порогова величина, встановлена експериментально), менші показники вважали індикатором слабкої реакції.

2.5. Алгоритм статистичного дослідження

Перед проведенням статистичної обробки результатів дослідження, ми визначили такі типи змінних:

А) *Незалежні змінні* – впливи, що вчиняються:

- Плацебо;
- Експонування до однієї з МПІ;
- Експонування до ХВГ.

Б) *Залежні змінні*:

- Площа фолікула ЩЗ, Sfol;
- Діаметр фолікула ЩЗ, Dfol;
- Висота тироцита, Hthyr;
- Площа тироцита, Sthyr;
- Площа цитоплазми тироцита, Scyt;
- Площа ядра тироцита, Snucl;
- Ядерно-цитоплазматичне відношення, NCR;
- Оптична щільність світіння T4, ODF T4;
- Площа світіння T4, SF T4;
- Оптична щільність світіння колагену I типу, ODF Col1;
- Площа світіння колагену I типу, SF Col1;
- Оптична щільність світіння колагену III типу, ODF Col3;
- Площа світіння колагену III типу, SF Col3;
- Оптична щільність світіння TNF, ODF TNF;
- Площа світіння TNF, SF TNF.

В) *Контрольовані змінні* відповідали критеріям включення до експерименту (вид, стать, вік тварини, умови утримання, температура тіла тощо).

Статистичний аналіз даних проводили у вільному середовищі розробки програмного забезпечення з відкритим вихідним кодом *RStudio* для мови програмування *R*, що призначена для статистичної обробки даних і їхньої візуалізації (версія 1.3.1073, ліцензія: GNU GPL v2) з використанням пакетів – наборів функцій у вигляді коду, даних, документації та тестів – *ggplot2*, *dplyr*, *pastecs* та *graphics* [266, 267, 268, 269]. Бібліотеки даних пакетів застосовували для виявлення мір центральної тенденції та мінливості набору даних, проведення тесту Шапіро-Уїлка на нормальність розподілення [270] та перевірки рівності дисперсій декількох вибірок за допомогою критерію *Бартлетта* [271]. У тому випадку, коли дані не відповідали нормальному розподілу чи однорідності дисперсії, вони нормалізувалися за методом *Бокса-*

Кокса [272]. Після цього виконували ANOVA для порівняння середніх значень кількісних ознак для кожного показника [273] та апостеріорні порівняння за методом *Бонферроні* та тесту *T'юкі HSD* (honestly significant difference, чесно істотна різниця) з 95% рівнем вірогідності для контролю групової ймовірності помилки [274, 275].

Крім того, для зберігання експериментальних, патоморфологічних та статистичних даних і генерування таблиць з описовою статистикою використовували мову запитів *PostgreSQL* (Додаток Д) у програмному забезпеченні *Workbench/J* (версія 1.8.0_291).

Для всіх статистичних критеріїв помилку першого роду встановили рівною 0,001. Нульову гіпотезу про відсутність відмінностей між групами відкидали у тому випадку, коли вірогідність помилки (p) не перевищувала помилку першого роду ($p < 0,001$). Отримані результати наводили як $M \pm SD$, де M – середня арифметична величина, а SD – стандартне квадратичне відхилення.

Дані, зібрані під час експерименту та патоморфологічного дослідження зберігали у вигляді таблиць в електронній базі даних під назвами *experiment_registry* та *morphometry_registry*.

Детальний опис процесу статистичного аналізу викладений у звітному документі: «*Протокол статистичної обробки результатів патоморфологічного дослідження щитовидних залоз нащадків щурів, які розвивалися за умов материнсько-плодових інфекцій, що спричинені Escherichia coli, Staphylococcus aureus та Klebsiella pneumoniae, а також хронічної внутрішньоутробної гіпоксії*».

2.6. Рандомізація під час дослідження

Відомо, що рандомізація – це метод експериментального контролю, який полягає у випадковому розподілі об'єктів досліджень у групах із використанням спеціальних засобів: генерації випадкових чисел, підкидання монет тощо [276]. При цьому рандомізація наукових досліджень запобігає

упередженому вибору, страхує від випадкового упередження та усуває джерело упередженості протягом дослідження. Іншими словами, вона гарантує, що переваги дослідників не вплинуть на формування груп з різними видами впливу, а результати дослідження не будуть спотворені особистими інтересами та судженнями дослідників [277].

Дане експериментальне дослідження було рандомізоване за допомогою засобів блокової рандомізації, яка полягала в тому, що всі умови використовувалися лише раз, перш ніж будь-яка з них зустрічалася вдруге, тобто у межах кожного блоку дослідження порядок розташування умов був випадковим, що допомогло виключити можливість передбачення ходу подій учасниками [278].

Блоки та їхні розміри на експериментальному етапі дослідження відповідали кількості тварин чи об'єктів, маніпуляцію з якими потрібно було рандомізувати:

- для розміщення та кодування самиць – 95;
- для розміщення та кодування самців – 25;
- для розміщення, заселення та кодування кліток – 19;
- для маркування отриманих плодів – 43;
- для маркування отриманих новонароджених – 45;
- для маркування зразків ЩЗ – 88.

Задля виключення стороннього впливу на тварин впродовж набору груп, порядок віднесення тварин, що відповідали критеріям включення до тієї чи іншої групи, приховували від дослідника працівником віварію. Розміщення тварин по клітках працівник віварію виконував рандомізовано через використання мобільного застосунку «Генератор випадкових чисел». Після цього біля кліток дослідник проводив неінвазійне маркування тварин способом фарбування шерсті 0,5% спиртовим розчином карболового фуксину, а також маркування кліток через випадкове присвоєння дванадцятизначних числових кодів, автоматично згенерованих за допомогою мови запитів PostgreSQL [279] у вигляді конструкції: $\text{floor}(\text{random}() \times (b - a + 1)) + a$, де floor – найближче ціле

число, що менше або рівне аргументу, *random* – випадкове число в діапазоні $0.0 \leq x < 1.0$, *a* – нижня межа заданого діапазону, *b* – його верхня межа. Готову таблицю з унікальними ідентифікаторами та переліком учасників експерименту було отримано за допомогою запиту, що зображений на рис. 2.3:

```

1 CREATE TABLE experiment
2 AS
3 (WITH t1
4 AS
5 (SELECT GENERATE_SERIES(1,95)::INT AS num,
6      'Mother' AS animal_type UNION SELECT GENERATE_SERIES(1,95)::INT AS num,
7      'Father' AS animal_type UNION SELECT GENERATE_SERIES(1,26)::INT AS num,
8      'Fetus' AS animal_type UNION SELECT GENERATE_SERIES(1,45)::INT AS num,
9      'Newborn' AS animal_type)
10  SELECT *,
11      FLOOR(RANDOM()*(8000000000000 -9000000000000 +1)) +9000000000000 AS animal_id
12 FROM experiment);

```

Рисунок 2.3 – Запит для генерування унікального дванадцятизначного коду мовою PostgreSQL

Надалі, у періоди спостереження та догляду, ці коди приховували інформацію про групу, до якої належала тварина, від контактної особи. Раз на тиждень, а також після експериментальних маніпуляцій, клітки переставлялися працівниками віварію. Декодування відбувалося за планом експерименту.

Згідно з рекомендаціями *American Veterinary Medical Association (AVMA) Guidelines for the Euthanasia of Animals* [280], ми вводили у хвостову вену самиці 2,5% тіопентал натрію (UA/3916/01/01), з розрахунку 1 мг/100 г маси тіла щура, з подальшою декапітацією. Евтаназія плодів при цьому відбувалася методом декапітації без введення препарату, що допускається для новонароджених мишей, щурів та хом'яків віком до 10 днів.

2.7. Дотримання етичних аспектів

Утримання та догляд лабораторних тварин, маніпуляції під час проведення експерименту, евтаназія та утилізація біологічних матеріалів під час дослідження виконувалася відповідно до Директиви Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу від 22 вересня 2010 року «Про

захист тварин, що використовуються в наукових цілях» та стандартів Good Laboratory Practice (GLP) [281].

Дані, що пов'язані з лабораторними тваринами, залученими до експерименту, зберігали у вигляді облікових карток, що створювалися окремо для кожного щура (Додатки Г.1, Г.2, Г.3), а первинний матеріал реєстрували у журналах реєстрації первинного матеріалу, що містили протоколи морфометричного та імунофлуоресцентного дослідження ЩЗ нащадків щурів, які розвивалися за умов МПІ, що спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, фізіологічного онтогенезу, а також ХВГ.

Висновки до розділу 2

У розділі був детально висвітлений дизайн дослідження, згідно з яким ми виконували контрольоване експериментально-патоморфологічне дослідження з блоковою рандомізацією за участю лабораторних тварин, а саме – щурів популяції WAG та їхніх нащадків.

Важливою умовою проведення дослідження було жорстке дотримання етичних аспектів з приводу поводження з лабораторними тваринами.

За основу для експерименту були обрані відомі способи моделювання внутрішньоутробного інфікування плода та новонародженого як наслідку підгострого інфекційно-запального процесу матері та моделювання ВГ з асфіксією новонародженого в пологах з використанням щурячої моделі.

Нульова гіпотеза полягала в тому, що між морфофункціональними станами ЩЗ нащадків щурів у нормі та за умов МПІ та/або ХВГ у віковій динаміці відмінностей немає в той час, коли альтернативна гіпотеза свідчила про протилежне.

Перевірка цих гіпотез виконувалася в 3 етапи, де першим був експеримент з моделювання впливу МПІ, спричинених окремо *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, з субклінічним перебігом та ХВГ, що порівнювалися з нормальним органогенезом. Другим етапом стало патоморфологічне

дослідження ЩЗ нащадків щурів, які розвивалися за вищезазначених умов, а третім – статистичний аналіз отриманих результатів.

Важливо зазначити, що в роботі були визначені критерії включення тварин до експерименту та їхнього виключення, належним чином сформовано 5 груп, чітко встановлені фази та кінцеві точки експерименту, детально описана хронологія експерименту та маніпуляцій.

Пізніше, на експериментальному матеріалі у вигляді зразків ЩЗ, отриманих від нащадків, було виконано патоморфологічне дослідження, спочатку якого було сформовано 10 груп спостережень.

Під час мікроморфологічного методу була встановлена наявність 88 ЩЗ у зразках та зроблено 813 мікрофотографій на збільшеннях $\times 40$, $\times 100$ та $\times 400$. Протягом виконання ІФД було створено 200 цифрових мікрофотографій і надалі, у програмі ImageJ, було досліджено 5 молекулярних маркерів морфофункціонального стану ЩЗ, а саме – тироксин, колагени I та III типів, фактор некрозу пухлини, інтерлейкін-6 на збільшеннях $\times 100$, $\times 250$ та $\times 600$.

Також було детально викладено методики виконання розгорнутої морфометрії, проведення ІФД ЩЗ нащадків у цифровому середовищі та реалізації статистичного аналізу. Під час морфометрії та ІФД проводили усереднення реплікаційних вимірювань, що виконувалися на одному зразкові.

Крім того, була надана характеристика методам рандомізації, які застосовувалися у дослідженні. Згідно з цими методами, умови утримання тварин різних груп були однаковими, а дослідник та персонал були осліплені достатньою мірою. Випадки виключення результатів експерименту реєстрували дослідником у журналі патоморфологічного дослідження.

Таким чином, матеріали та методи дослідження відповідають заданим цілям. Наявність відповідної первинної документації виключає можливість вибіркового або неповного представлення даних.

РОЗДІЛ 3

ВИЗНАЧЕННЯ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЩИТОВИДНИХ ЗАЛОЗ НАЩАДКІВ ЩУРІВ У НОРМІ, ЗА УМОВ СУБКЛІНІЧНОЇ МАТЕРИНСЬКО-ПЛОДОВОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ХРОНІЧНОЇ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ГІПОКСІЇ

3.1. Результати патоморфологічного дослідження щитовидних залоз нащадків

Методом оглядової мікроскопії зразків ЩЗ, забарвлених за методом Н&Е, на збільшенні $\times 40$ в усіх 10-тьох групах визначено, що залоза зовні вкрита сполучнотканинною капсулою та має дві, а в поодиноких випадках – одну, бічні частки й перешийок, що залежить від рівня декапітації та висоти зрізу. Бічні частки прилягають до латеральних поверхонь щитовидного або персневидного хрящів трахеї. В деяких випадках спереду від трахеї знаходиться перешийок, а дорсальномедіальні поверхні бічних часток ЩЗ прилягають до стравохідно-трахейних жолобків. До зовнішніх відділів бічних часток залоз прилягають судинно-нервові сплетення ший. У більшості випадків у товщі ЩЗ виявляються паращитовидні залози.

При цьому гістологічна будова часток серед груп, що досліджувалися, була однотипною: у часточках, що розмежовані прошарками сполучнотканинної капсули, знаходилися секреторні клітини, які формували структури двох видів – *фолікули* та *острівці екстрафолікулярного епітелію*. Стінка фолікулів була вистелена одним шаром клітин, прилеглих до базальної мембрани, а вміст, за наявності, був представлений колоїдом різної щільності. Екстрафолікулярний епітелій складався з компактних скупчень клітин з базально розташованими ядрами поза межами фолікулів. С-клітини

відрізнялися овальною формою, круглим базофільним ядром та зернистою цитоплазмою. Візуально ознаки деструкції та тканинного запалення у вигляді судинно-мезенхімальної реакції були відсутні в усіх випадках. Тому, в цій роботі не проводилася кількісна оцінка таких загальнопатологічних процесів як дистрофія, некроз та гемодинамічні порушення у ЩЗ.

Під час електронної морфометрії, що виконувалася у програмі *ImageJ*, для кожного спостереження в усіх групах для показників Sfol та Dfol було виконано по 120 замірів у 10 полях зору для кожного зразка, а для Nthyr, Sthyr, Scyt та Snuc – по 210 замірів у 10 полях зору, що склало 12000 замірів загалом.

3.1.1. Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків щурів, що розвивалися за умов фізіологічної вагітності

Під час оглядової мікроскопії зразків ЩЗ груп нащадків щурів, що розвивалися за умов фізіологічної вагітності (FC, n = 10 | NC, n = 7), було встановлено, що ЩЗ плодів, на збільшенні $\times 40$, виглядає компактною та щільною, фолікули здебільшого не візуалізуються (рис. 3.1). Лише в деяких зразках ми спостерігали поодинокі фолікули, що були розправлені.

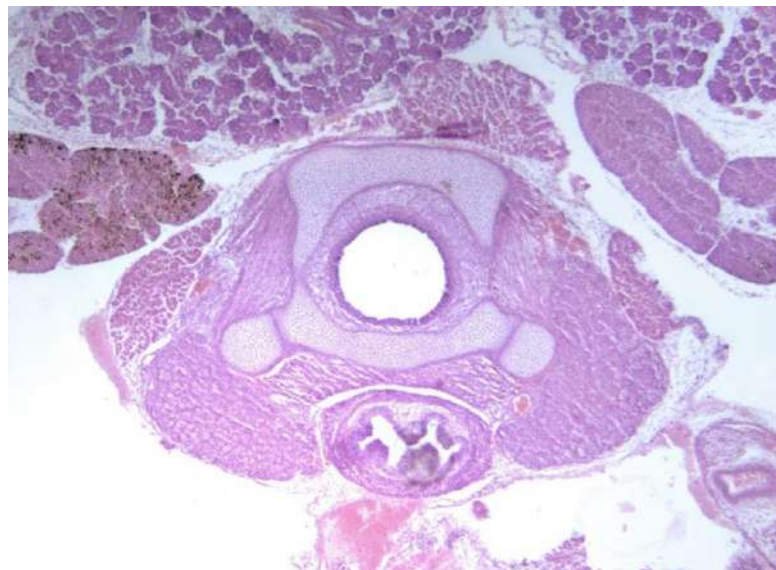


Рисунок 3.1 – ЩЗ плода щура групи FC. Ліва та права частки, що представлені оптично щільною паренхімою з нерозвиненими фолікулами.

Забарвлення Н&Е, $\times 40$

Паралельно, у новонароджених залоза виглядала більш розвинутою через дифузно розправлені фолікули різного ступеня розвитку (рис. 3.2, 3.3).

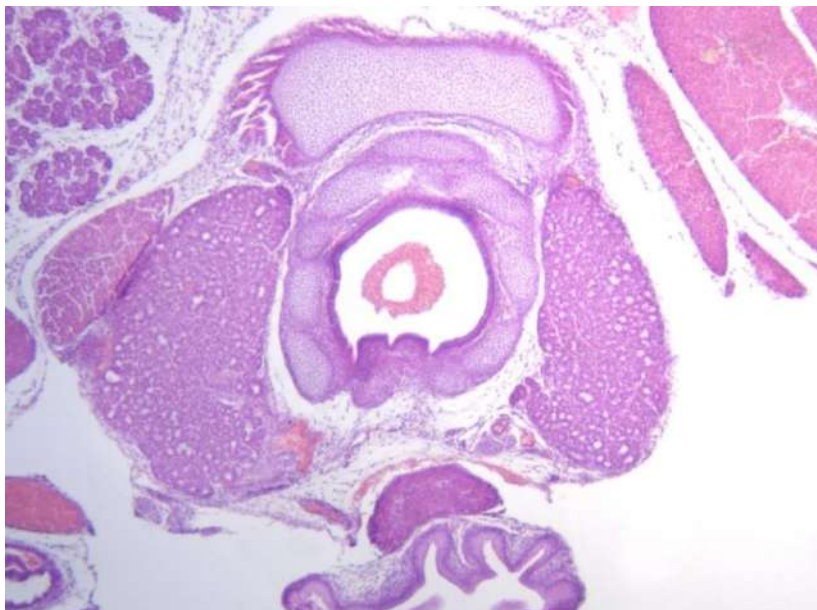


Рисунок 3.2 – ЩЗ новонародженого щура групи NC. Ліва та права частки, представлені оптично пористою паренхімою з добре розвиненими фолікулами. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

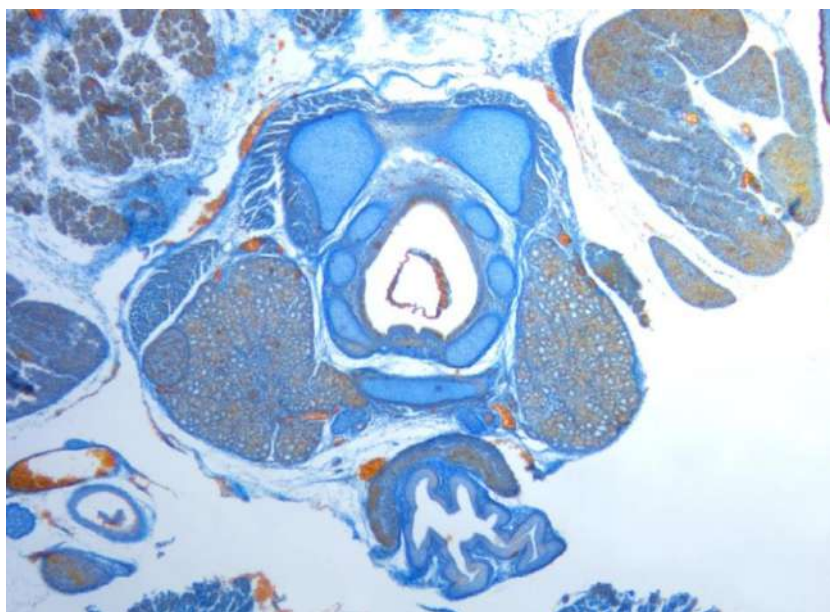


Рисунок 3.3 – ЩЗ новонародженого щура групи NC. Ліва та права частки, що представлені оптично пористою паренхімою з добре розвиненими фолікулами. Забарвлення за Маллорі, $\times 40$

На збільшенні $\times 400$ ЩЗ плодів була представлена острівцями фолікулярного епітелію, які відмежовані тонкими прошарками сполучної тканини з ледь помітними капілярами.

Було підмічено, що фолікулярний епітелій плодів щурів на даному етапі розвитку може нагадувати десквамований через щільне розташування тироцитів та недостатню тонкість зрізу.

Переважає у периферійних відділах ЩЗ плодів спостерігаються поодинокі фолікули, заповнені оптично густим колоїдом. Тироцити, плоскої або кубічної форми, мали великі базально розташовані ядра з дрібними грудочками хроматину і вінчиком еозинофільної цитоплазми (рис. 3.4).

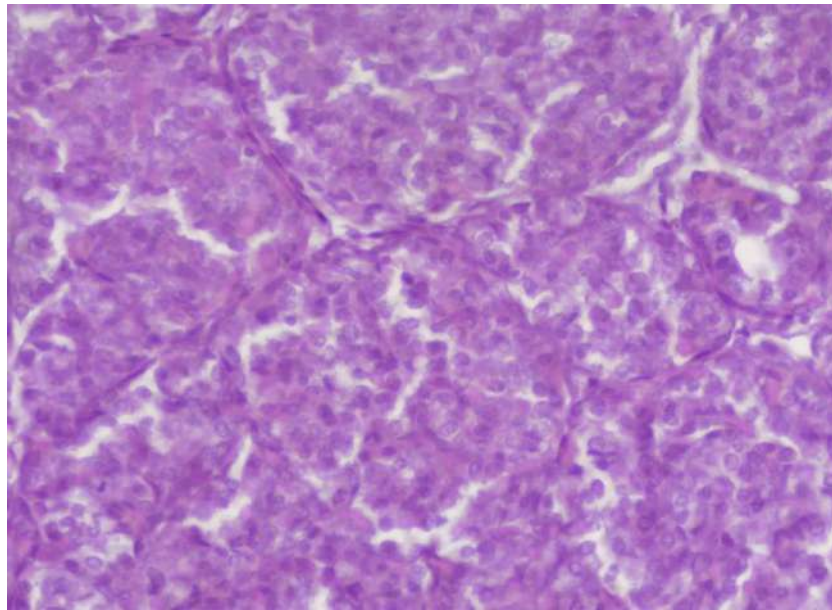


Рисунок 3.4 – ЩЗ плода щура групи FC. Острівці щільно розташованих тироцитів, відокремлених сполучнотканинними прошарками та поодинокий розвинений фолікул. Забарвлення Н&Е, $\times 400$

Разом з тим, у ЩЗ новонароджених візуалізувалися добре розвинені фолікули правильної овальної форми, при цьому фолікулярний епітелій візуально здавався більш плоским, а площа подушечок Сандерсона виглядала меншою (рис. 3.5).

В результаті цифрової морфометрії ЩЗ даних груп, що виконувалася у програмі *ImageJ*, було визначено середні значення Dfol, Sfol, Hthyr, Scyt, Snuc та NCR, а також вказано *морфогенетичний тренд* (MT) – спрямованість морфогенетичних змін у бік їхнього посилення або пригнічення (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Середні значення морфометричних параметрів ЩЗ груп негативного контролю

Група	Dfol, мкм	Sfol, мкм ²	Hthyr, мкм	Sthyr, мкм ²	Scyt, мкм ²	Snuc, мкм ²	NCR
FC	16,213 ±0,661	233,804 ±2,145	5,934 ±0,070	20,833 ±0,587	12,731 ±0,086	14,404 ±0,055	1,112 ±0,067
NC	25,157 ±0,112	437,931 ±2,127	8,191 ±0,027	36,923 ±0,098	26,684 ±0,11	10,296 ±0,095	0,486 ±0,058
/MT	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↓*	↓*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

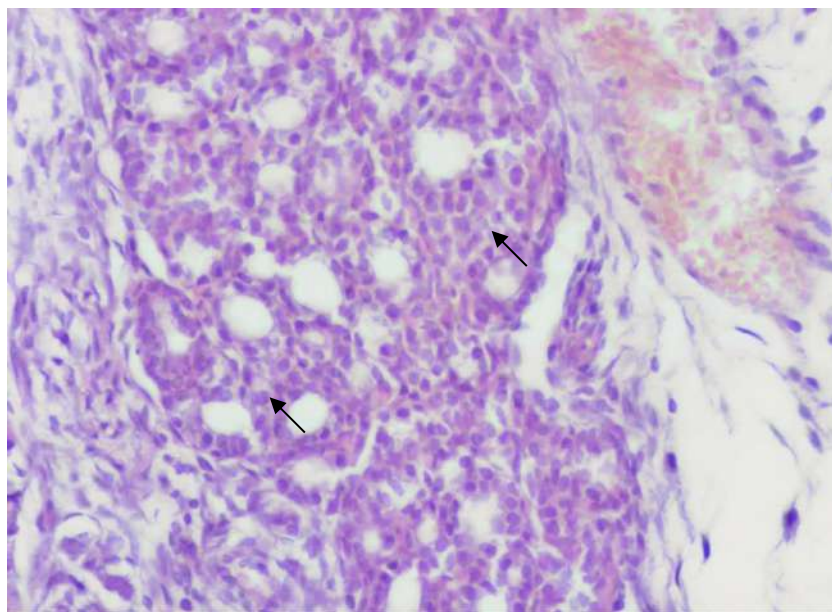


Рисунок 3.5 – ЩЗ новонародженого щура групи NC. Добре розвинені фолікули правильної форми з острівцями екстрафолікулярного епітелію (стрілки).
Забарвлення Н&Е, ×400

Так можна дійти висновку, що в умовах фізіологічної вагітності, з плином часу, у ЩЗ нащадків збільшуються діаметр та площа фолікула, висота та площа тироцита разом із площею цитоплазми, проте зменшуються площа ядра та ядерно-цитоплазматичне відношення.

В результаті імунофлуоресцентного дослідження, аналіз результатів якого також виконували в програмному забезпеченні *ImageJ*, було визначено середні значення ODF і SF для T4, Col1 та Col3, IL6 та TNF (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Середні значення результатів ІФД ЩЗ груп негативного контролю

Група	ODF T4, у.о.	SF T4, піксель	ODF Col1, у.о.	SF col1, піксель	ODF Col3, у.о.	SFcol3, піксель	ODF TNF, у.о.	SFtnf, піксель	ODF IL6, у.о.	SFil6, піксель
FC	79,82 ±0,199	129090,4 ±544,064	33,842 ±0,158	79113,5 ±65,430	31,522 ±0,188	38351,3 ±1040,482	31,474 ±0,157	5408,4 ±217,299	30,316 ±0,234	4931,6 ±3,693
FEC	80,652 ±0,217	133376,7 ±709,907	36,505 ±0,183	98338,5 ±105,002	38,246 ±0,336	40110 ±971,881	42,983 ±0,181	11904,1 ±133,869	37,7 ±0,190	7037,1 ±2,773
/MT	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*

* - різниця між показниками статистично значуща ($p < 0,001$)

Аналізуючи дані, наведені вище, можна стверджувати, що у віковій динаміці, в ЩЗ за умов фізіологічного органогенезу посилюється оптична щільність та площа флуоресценції всіх показників. Проте інтенсивному світінню відповідає значення лише T4 – як у плодів (рис. 3.6), так і у новонароджених (рис. 3.7).

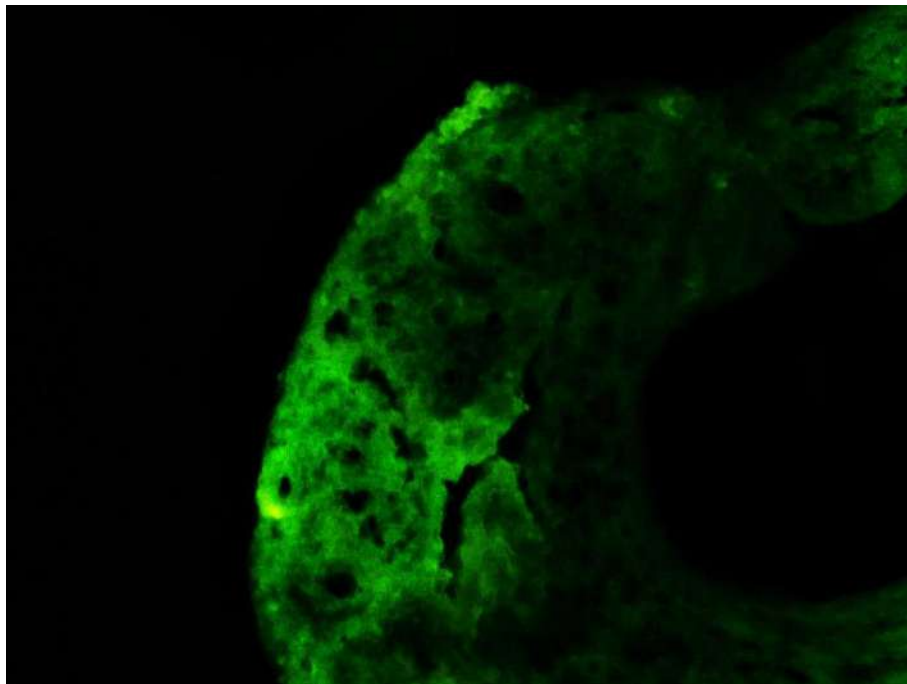


Рисунок 3.6 – ЩЗ плода щура групи FC. Інтенсивна флуоресценція T4 в паренхімі. Непрямий метод Кунса з МоАт до T4, $\times 100$

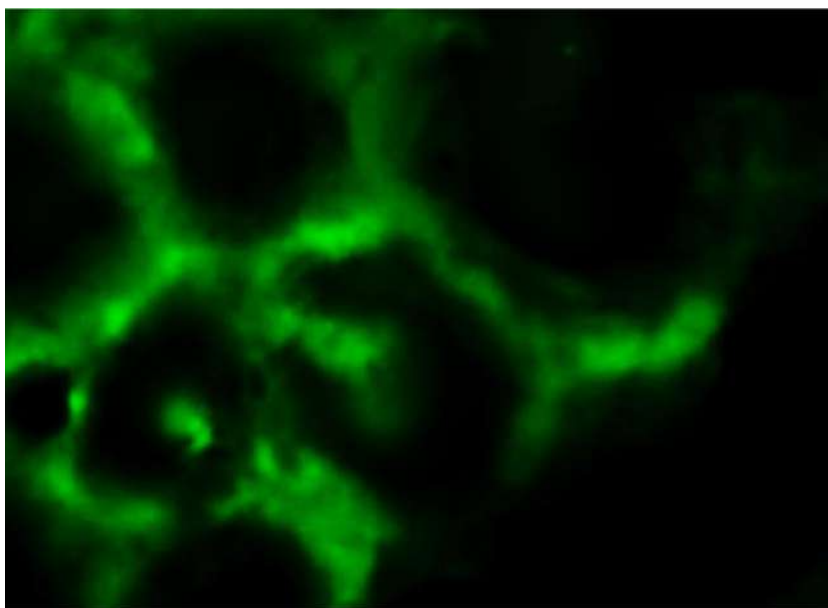


Рисунок 3.7 – ЩЗ плода щура групи FC. Яскрава флуоресценція тироцитів та колоїду у препараті. Непрямий метод Кунса з МоАт до T4, $\times 600$

Люмінесценція колагенів I та III типів (рис. 3.8, 3.9) була слабкою за інтенсивністю, але була здебільшого рівномірною. Показники імунофлуоресценції IL6 та TNF, своєю чергою, реєструвалися фокально та відповідали слабкій реакції.

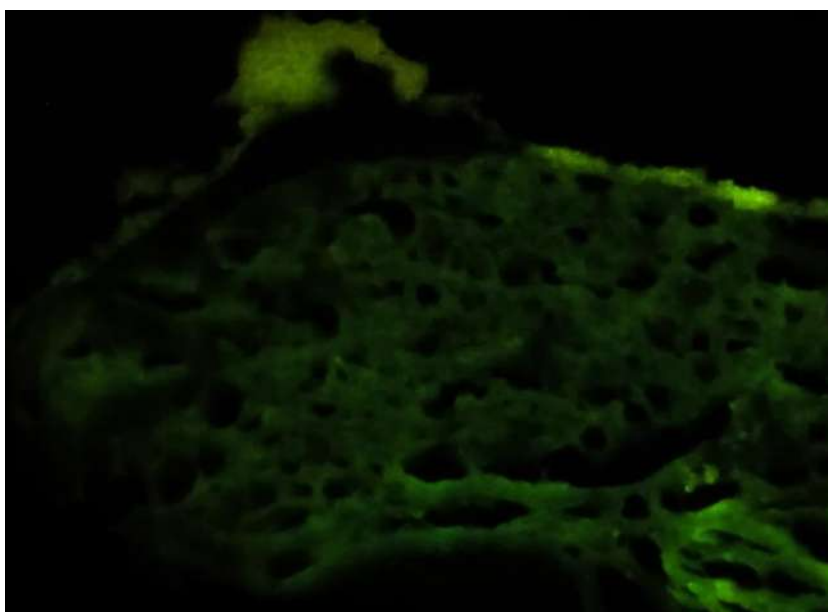


Рисунок 3.8 – ЩЗ новонародженого щура групи NC. Помірна флуоресценція колагену I типу. Непрямий метод Кунса з МоАт до Coll1, $\times 100$

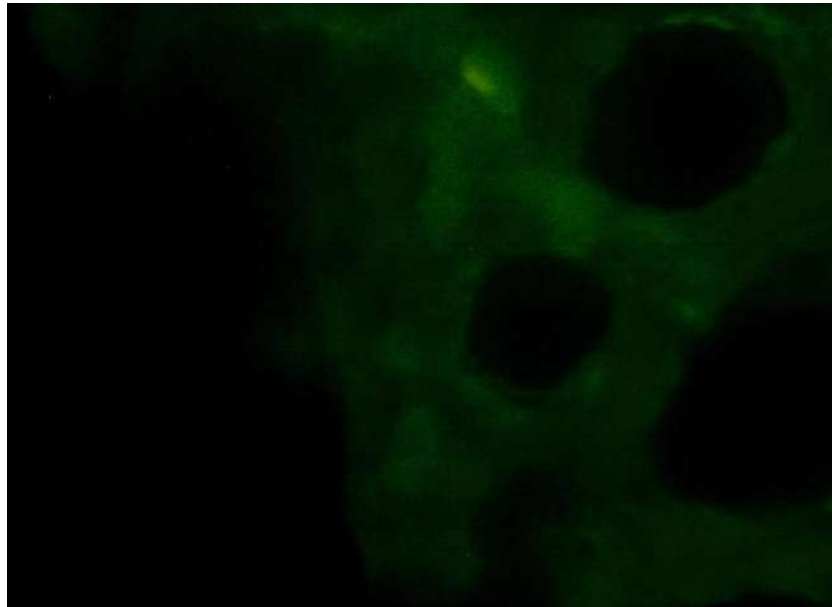


Рисунок 3.9 – ЩЗ новонародженого щура групи NC. Слабка флуоресценція колагену III типу. Непрямий метод Кунса з МоАт до Col3, $\times 600$

Резюме підрозділу 3.1.1

Отримані дані дозволи встановити нормативні значення морфологічних та імуногістохімічних параметрів ЩЗ нащадків, що досліджуються, і використати їх при зіставленні з групами, які зазнали експериментального впливу, для визначення впливу МПІ та ХВГ на морфофункціональний стан органа. Результати цього порівняння представлені у розділі 4.

3.1.2. Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків щурів, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, що спричинена *Escherichia coli*

Оглядова мікроскопія зразків ЩЗ груп нащадків щурів, що розвивалися за умов МПІ, що спричинені *E. coli* (FEC, $n = 10$ | NEC, $n = 13$), при збільшенні $\times 40$ дозволила визначити, що ЩЗ зовні вкрита тонким шаром сполучнотканинної капсули, від якої у товщу органа відділяються септи, що формують часточки. Паренхіма залози виглядала пухкою через фолікулярний епітелій, який активно розвивався (рис. 3.10).

Як порівняти, ЩЗ плодів та новонароджених мали схожі морфологічні риси, проте другі відрізнялися більш вираженою дірчастістю паренхіми (рис. 3.11).

При збільшенні $\times 400$ ЩЗ плодів була представлена великою кількістю фолікулів овальної форми, що розвиваються, відмічали щільне розташування клітин, базофільні ядра. Орган втрачав оптичну компактність притаманну цьому віку в умовах нормального розвитку.

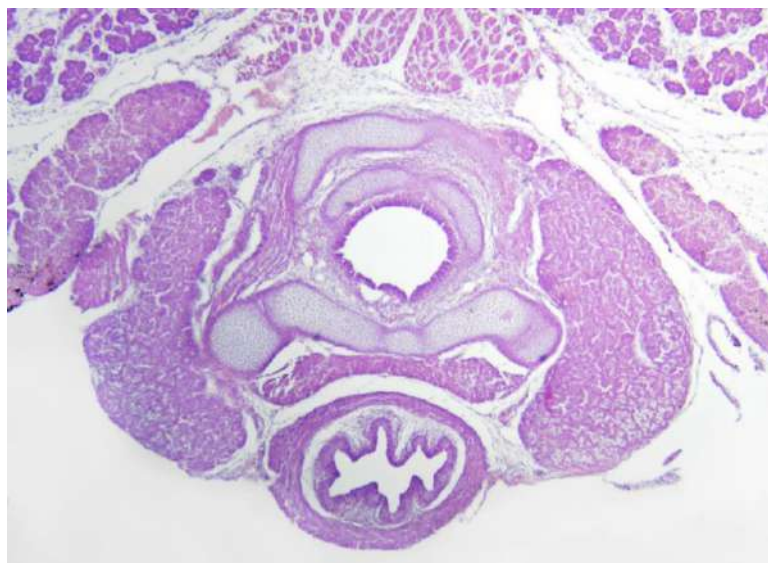


Рисунок 3.10 – ЩЗ плода щура групи FEC. Ліва та права частки, що представлені менш щільною паренхімою з більш розвиненими фолікулами. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

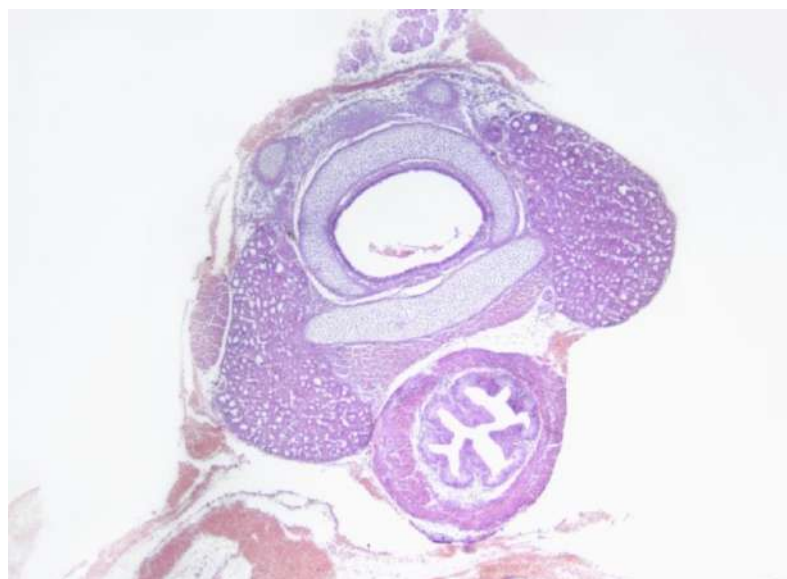


Рисунок 3.11 – ЩЗ новонародженого щура групи NEC. Ліва та права частки з інтенсивно розвиненими фолікулами. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

Тироцити у плодів набули рис призматичності, мали великі ядра, облямовані обідком еозинофільної цитоплазми (рис. 3.12).

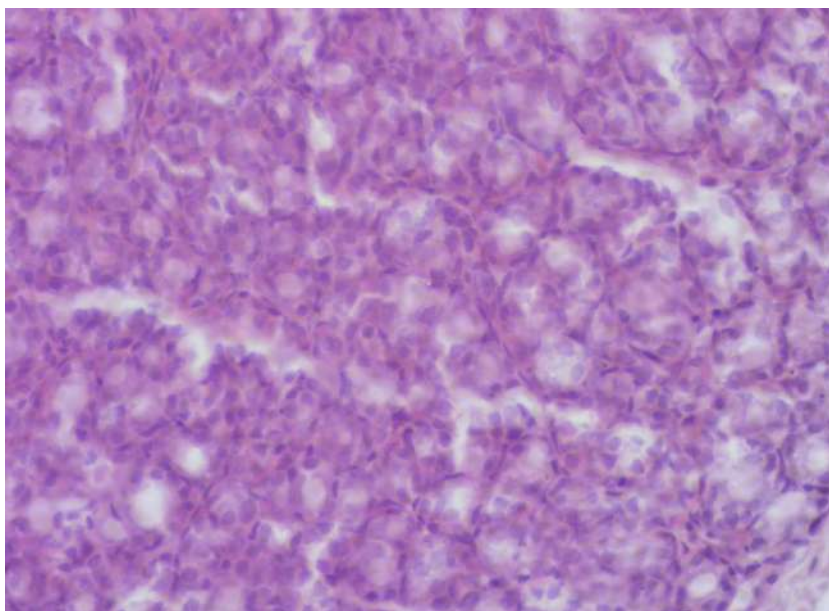


Рисунок 3.12 – ЩЗ плода щура групи FES. Рясна фолікулярна паренхіма з фолікулами, що активно розвиваються, в полі зору. Забарвлення Н&Е, $\times 400$

У новонароджених реєструвалися великі фолікули, деякі з яких були кістозно розширеними, епітелій – сплюснений, з фокусами десквамації тироцитів (рис. 3.13).

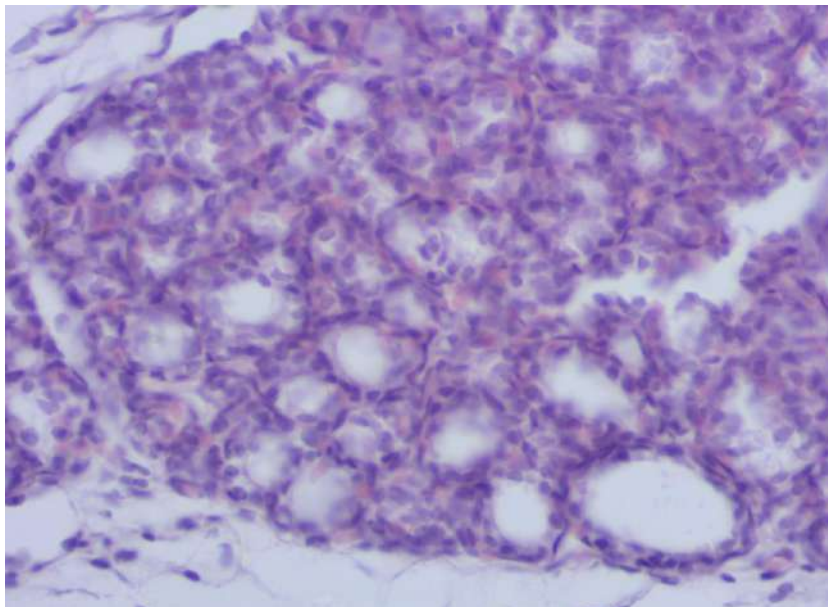


Рисунок 3.13 – ЩЗ новонародженого щура групи NES. Великі фолікули, поодинокі – кістозно розширені, епітелій сплюснений, фокуси десквамації тироцитів. Забарвлення Н&Е, $\times 400$

В результаті цифрової морфометрії ЩЗ даних груп, було встановлено середні значення Dfol, Sfol, Hthyr, Scyt, Snuc та NCR, а також вказано МТ (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Середні значення морфометрії ЩЗ груп нащадків з МПІ,
що спричинена E. coli**

Група	Dfol, мкм	Sfol, мкм ²	Hthyr, мкм	Sthyr, мкм ²	Scyt, мкм ²	Snuc, мкм ²	NCR
FEC	17,655 ±0,641	445,012 ±2,313	10,353 ±0,077	56,506 ±0,332	38,520 ±0,175	22,624 ±0,069	0,619 ±0,096
NEC	29,603 ±0,097	780,974 ±2,339	7,635 ±0,032	33,656 ±0,215	23,635 ±0,13	10,042 ±0,083	0,419 ±0,073
/MT	↑*	↑*	↓*	↓*	↓*	↓*	↓*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

В процесі аналізу даних морфометрії, було встановлено, що протягом визрівання у ЩЗ нащадків, які розвивалися в умовах МПІ, що спричинена E. coli, збільшуються діаметр та площа фолікула, висота та площа тироцита, проте зменшуються висота тироцита, площа тироцита, площа цитоплазми та площа ядра разом з ядерно-цитоплазматичним відношенням.

Впродовж ІФД було визначено середні значення ODF і SF для T4, колагенів I та III типів, IL6 та TNF для даних груп (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Середні значення ІФД ЩЗ груп нащадків з МПІ, що спричинена E. coli

Група	ODF T4, у.о.	SF T4, піксель	ODF Col1, у.о.	SF col1, піксель	ODF Col3, у.о.	SFcol3, піксель	ODF TNF, у.о.	SFtnf, піксель	ODF IL6, у.о.	SFil6, піксель
FEC	80,652 ±0,217	133376,7 ±709,907	36,505 ±0,183	98338,5 ±105,002	38,246 ±0,336	40110 ±971,881	42,983 ±0,181	11904,1 ±133,869	37,7 ±0,19	7037,1 ±2,773
NEC	78,619 ±0,269	183006,385 ±634,329	63,131 ±0,174	103042,077 ±78,17	61,268 ±0,115	49292,462 ±908,072	57,264 ±0,084	12188,615 ±169,48	60,239 ±0,293	13540,385 ±2,618
/MT	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*	↑*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

З огляду на отримані результати, можна відмітити, що в процесі визрівання за даних обставин у ЩЗ нащадків помірно зменшується продукція T4 (рис. 3.14), проте інтенсифікується колагеногенез (рис. 3.15).

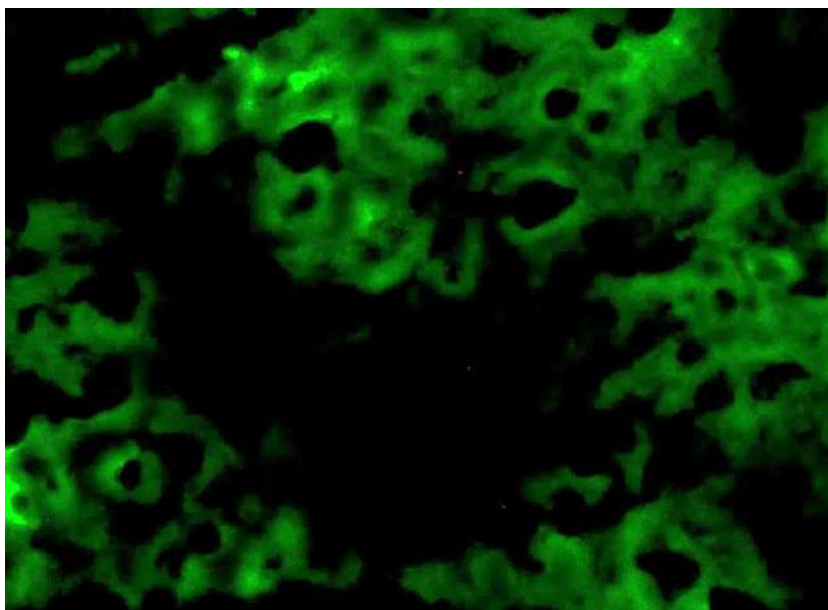


Рисунок 3.14 – ЩЗ новонародженого щура групи NEC. Яскрава флуоресценція фолікулярного епітелію. Непрямий метод Кунса з МоАт до T4, $\times 250$

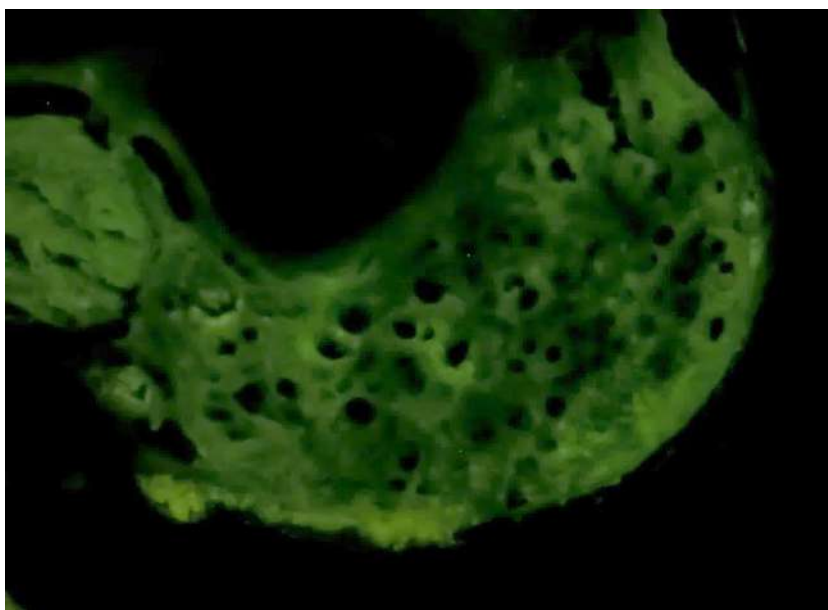


Рисунок 3.15 – ЩЗ новонародженого щура групи NEC. Виражена флуоресценція колагену I типу. Непрямий метод Кунса з МоАт до Col1, $\times 100$

Крім того, у зразках з'являються значні ділянки накопичення маркерів клітинного пошкодження – TNF та IL6 (рис. 3.16).

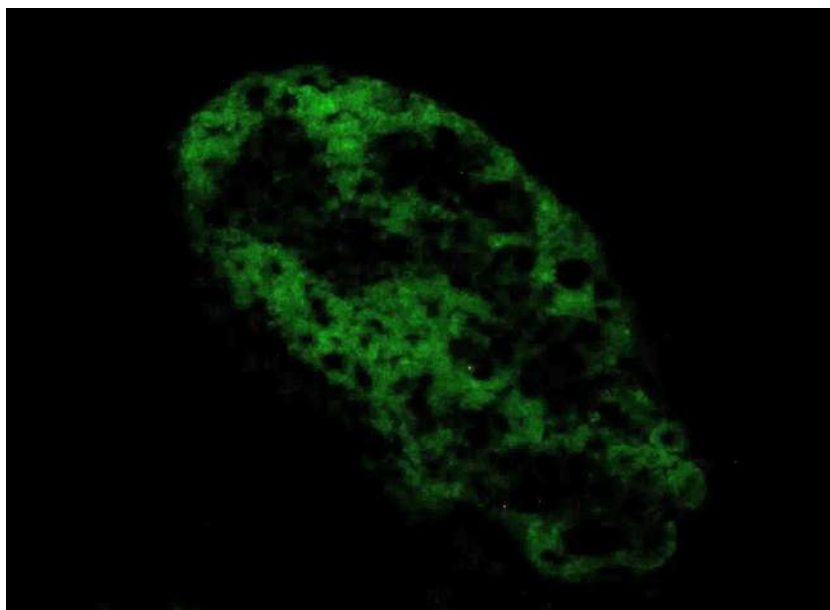


Рисунок 3.16 – ЩЗ новонародженого щура групи NEC. Фокуси помірної флуоресценції IL6. Непрямий метод Кунса з МоАт до IL6, $\times 100$

Резюме підрозділу 3.1.2

ЩЗ плодів і новонароджених, які розвивалися в умовах МПІ, що спричинена *E. coli*, мають схожі між собою макроскопічні характеристики, проте зі статистичною значущістю відрізняються одна від одної на мікроскопічному рівні згідно з результатами морфометрії та ІФД.

3.1.3. Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, що спричинена *Staphylococcus aureus*

Під час оглядової мікроскопії зразків ЩЗ груп нащадків щурів, що розвивалися за умов МПІ, що спричинена *S. aureus* (FSA, $n = 8$ | NSA, $n = 7$), на збільшенні $\times 40$ було встановлено, що ЩЗ плодів також мала сполучнотканинну капсулу з перегородками, що відходять у товщу залози та поділяють її на часточки. Паренхіма органа була представлена скупченнями добре розвинених

фолікулів від малого до середнього розміру (рис. 3.17). Також відмічали виражене повнокрів'я судин.

Своєю чергою, у новонароджених ЩЗ виглядала більш розвинутою – набувала вираженості «дірчастість» паренхіми, навіть на малому збільшенні проглядалися кістозно розширені фолікули (рис. 3.18).

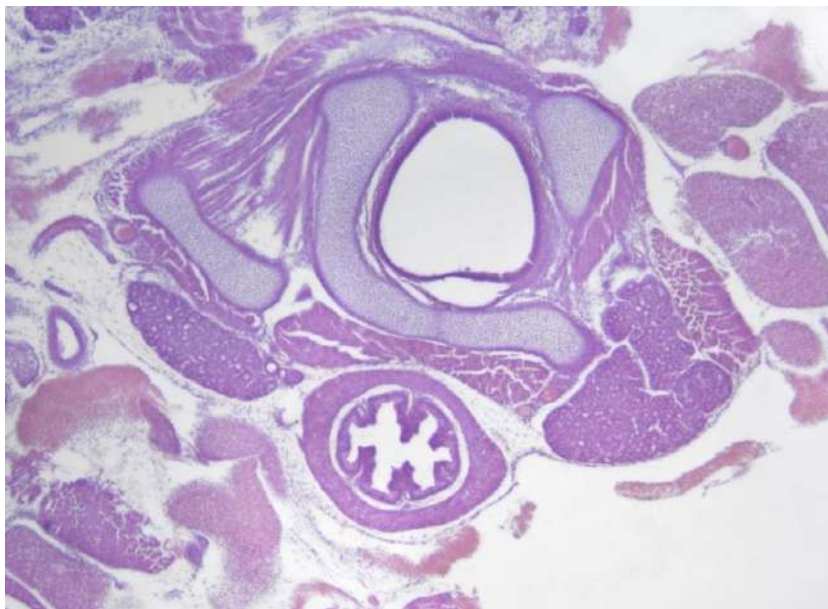


Рисунок 3.17 – ЩЗ плода щура групи FSA. Ліва та права частки, що представлені менш щільною паренхімою з більш розвиненими фолікулами та парашитовидною залозою праворуч. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

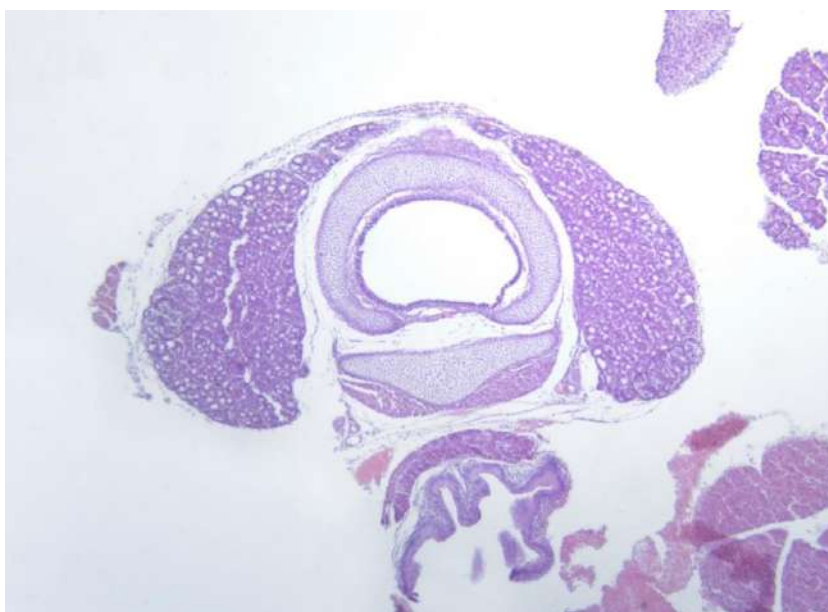


Рисунок 3.18 – ЩЗ новонародженого щура групи NSA. Ліва та права частки, що з'єднані перешийком, з інтенсивно розвиненими фолікулами та парашитовидними залозами. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

На збільшені $\times 400$ ЩЗ плодів була представлена паренхімою з великою кількістю розправлених фолікулів, що подекуди заповнені рідким та пінистим колоїдом (рис. 3.19). При мікроскопії препаратів, забарвлених за методом Ван Гізона, встановлена активна проліферація колагенів у вигляді осередків помірної фуксинофілії (рис. 3.20).

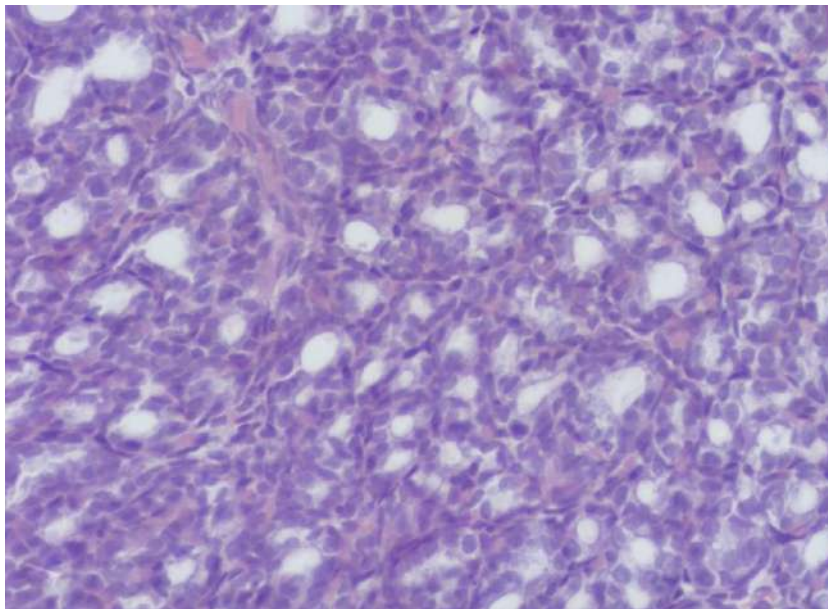
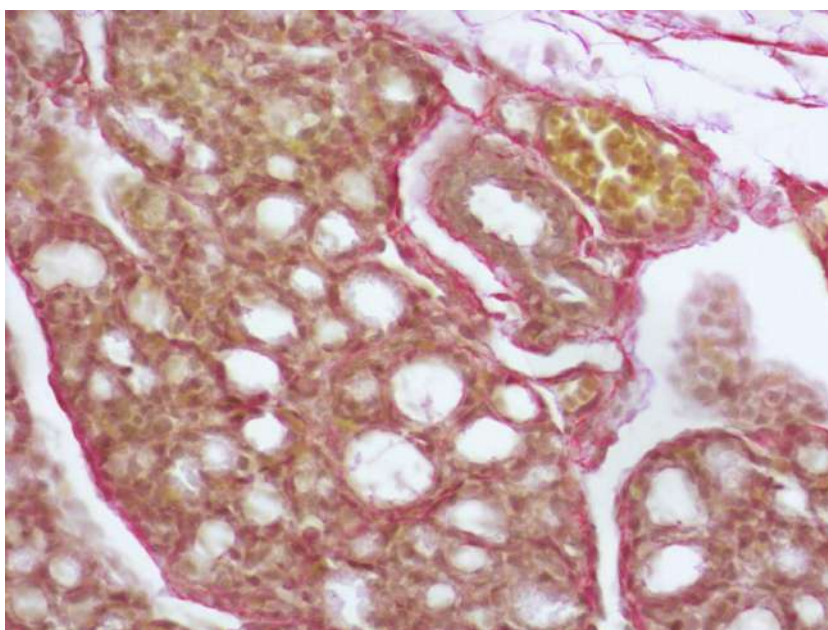


Рисунок 3.19 – ЩЗ плода щура групи FSA з множинними фолікулами, що інтенсивно розвиваються та осередково заповнені рідким пінистим колоїдом. Забарвлення Н&Е, $\times 400$



В той час, коли фолікули ЩЗ новонароджених щурів були великими, подекуди неправильної форми, місцями – кістозно розширені (рис. 3.21).

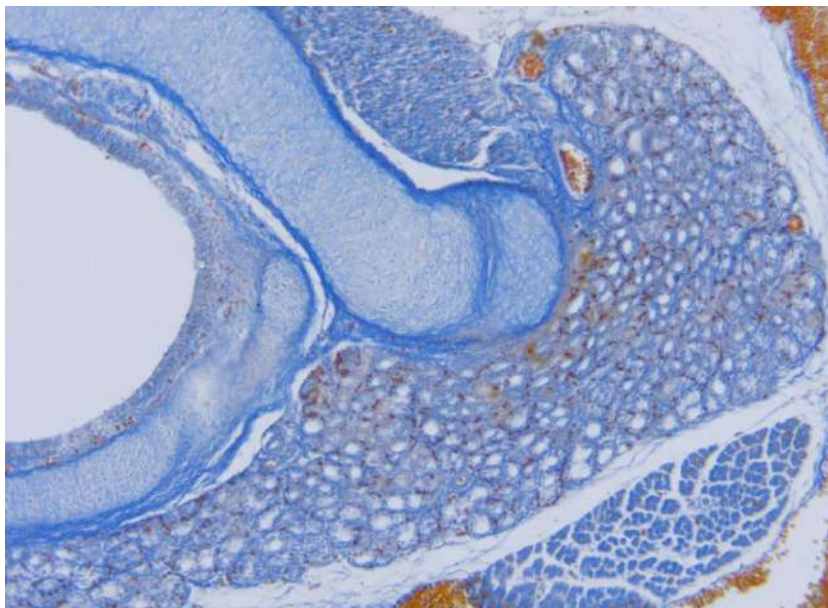


Рисунок 3.21 – ЩЗ новонародженого щура групи NSA з добре розвиненими фолікулами, що місцями кістозно розширені. Забарвлення за Маллорі, $\times 100$

Зі свого боку, фолікули були представлені сплосченим епітелієм. До того ж у деяких полях зору відмічалися фокуси десквамації тироцитів (рис. 3.22).

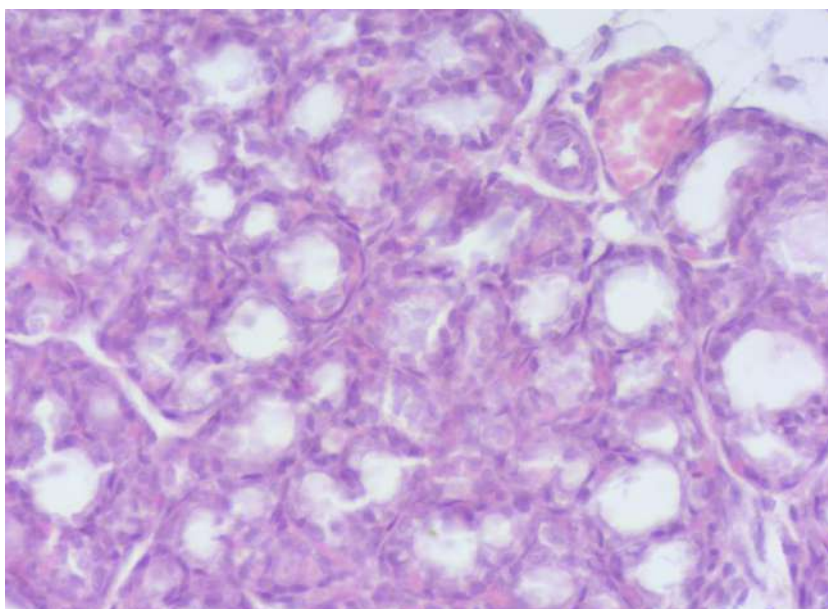


Рисунок 3.22 – ЩЗ новонародженого щура групи NSA з великими фолікулами, що місцями кістозно розширені та вистелені сплосченим епітелієм, фокуси десквамації тироцитів (чорні стрілки). Н&Е, $\times 400$

В результаті цифрової морфометрії ЩЗ даних груп, було встановлено середні значення Dfol, Sfol, Hthyr, Scyt, Snuc та NCR, а також визначено МТ (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Середні значення морфометрії ЩЗ груп нащадків з МПІ,
що спричинена *S. aureus***

Група	Dfol, мкм	Sfol, мкм ²	Hthyr, мкм	Sthyr, мкм ²	Scyt, мкм ²	Snuc, мкм ²	NCR
FSA	19,284 ±0,322	497,304 ±2,984	12,406 ±0,056	65,413 ±0,199	41,931 ±0,069	27,388 ±0,075	0,651 ±0,091
NSA	30,579 ±0,127	794,574 ±1,495	6,487 ±0,093	23,557 ±0,235	20,479 ±0,094	14,219 ±0,091	0,603 ±0,084
/MT	↑*	↑*	↓*	↓*	↓*	↓*	↓*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

Наведені морфометричні дані свідчать про те, що з плином часу, МПІ, що спричинена *S. aureus*, зумовлює зміни морфофункціональних параметрів ЩЗ нащадків у вигляді збільшення діаметра та площі фолікула на тлі зменшення діаметра фолікула, висоти та площі тироцита, площі цитоплазми, площі ядра та ядерно-цитоплазматичного відношення.

За результатами ІФД для даних груп було визначено середні значення ODF і SF для T4, колагенів I та III типів, IL6 та TNF (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Середні значення ІФД ЩЗ груп нащадків з МПІ, що спричинена *S. aureus*

Група	ODF T4, у.о.	SF T4, піксель	ODF Col1, у.о.	SF col1, піксель	ODF Col3, у.о.	SFcol3, піксель	ODF TNF, у.о.	SFtnf, піксель	ODF IL6, у.о.	SFil6, піксель
FSA	87,084 ±0,204	169088,625 ±791,535	51,915 ±0,234	98137,75 ±61,192	49,673 ±0,138	59094 ±1178,458	47,173 ±0,083	18226 ±91,082	43,096 ±0,148	13172,5 ±3,808
NSA	81,45 ±0,192	174536 ±554,963	74,230 ±0,2	105535,714 ±120,815	69,406 ±0,146	53367,286 ±773,436	65,917 ±0,223	12797,429 ±155,002	65,271 ±0,06	28933,143 ±3,523
MT	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↓*	↑*	↓*	↑*	↑*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

Отримані дані показали, що при субклінічній МПІ, яка спричинена *S. aureus*, реєструється високий показник ODF T4 у плодів (рис. 3.23), проте у віковій динаміці, в новонароджених порівняно з плодами вони знижуються на тлі збільшення SF T4 (рис. 3.24).

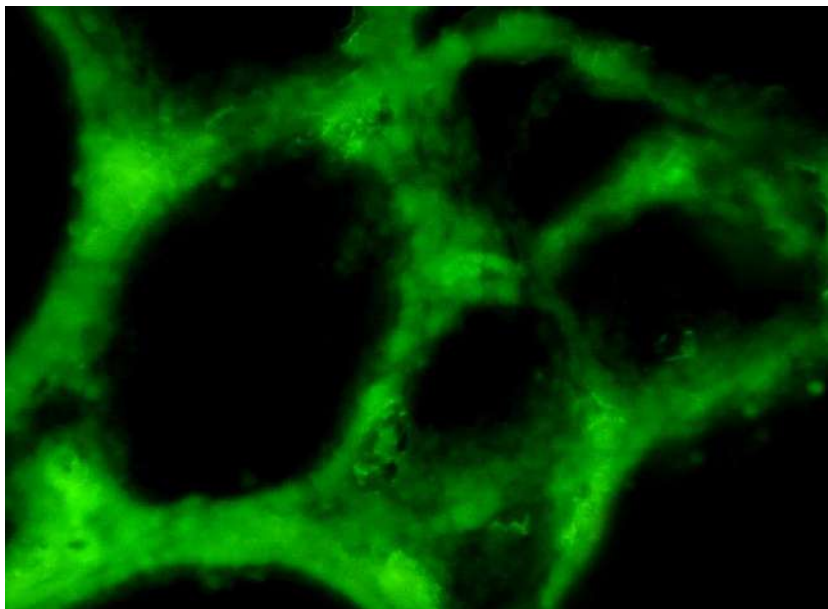


Рисунок 3.23 – ЩЗ плода щура групи FSA. Яскрава флуоресценція фолікулярного епітелію. Непрямий метод Кунса з МоАт до T4, $\times 600$

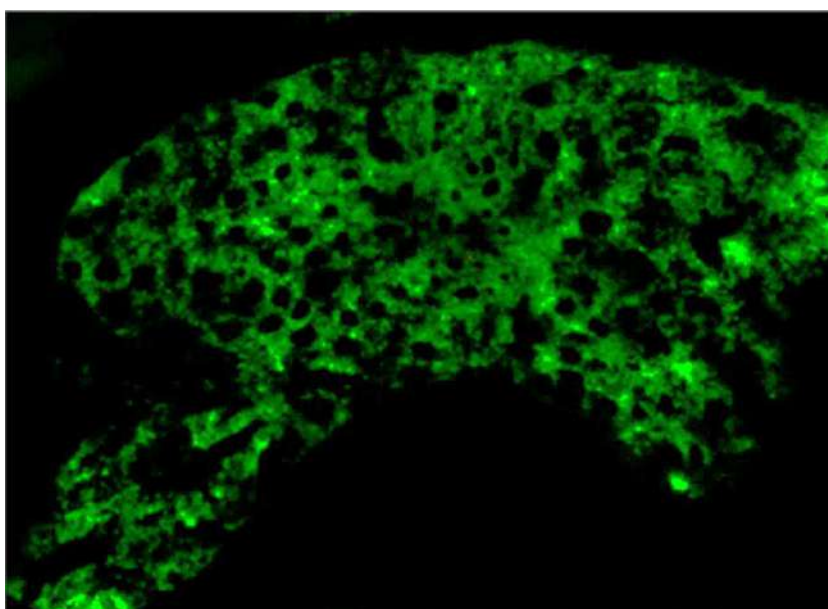


Рисунок 3.24 – ЩЗ новонародженого щура групи NSA. Помірне послаблення флуоресценції T4 у паренхімі. Непрямий метод Кунса з МоАт до T4, $\times 100$

Крім того, відмічається збільшення показників ODF Col1 та Col3 в умовах збільшення SF Col1 (рис. 3.25) та зменшення SF Col3.

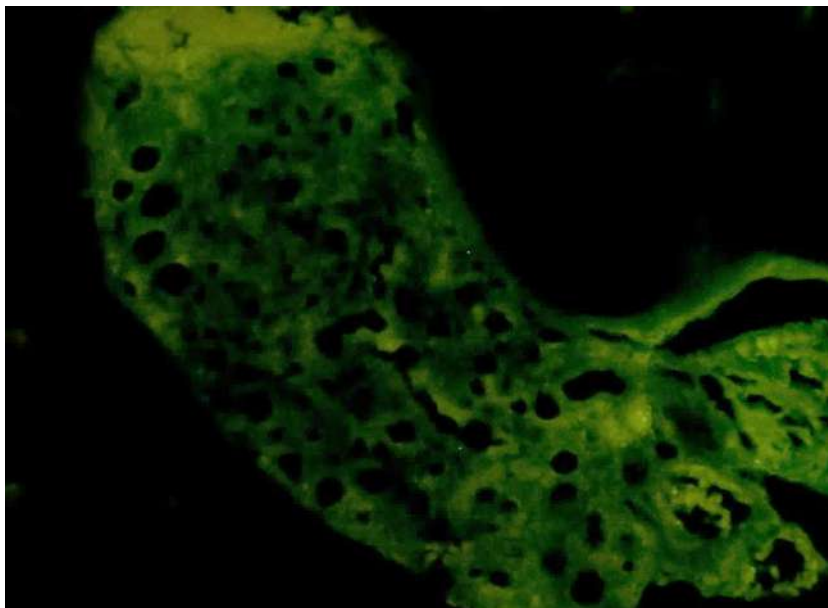


Рисунок 3.25 – ЩЗ новонародженого щура групи NSA. Інтенсивна флуоресценція Col1 у стромі. Непрямий метод Кунса з МоАт до Col1, $\times 100$

Також підвищуються ODF TNF та IL6, при цьому SF TNF зменшується (рис. 3.26), а SF IL6 збільшується (рис. 3.27).

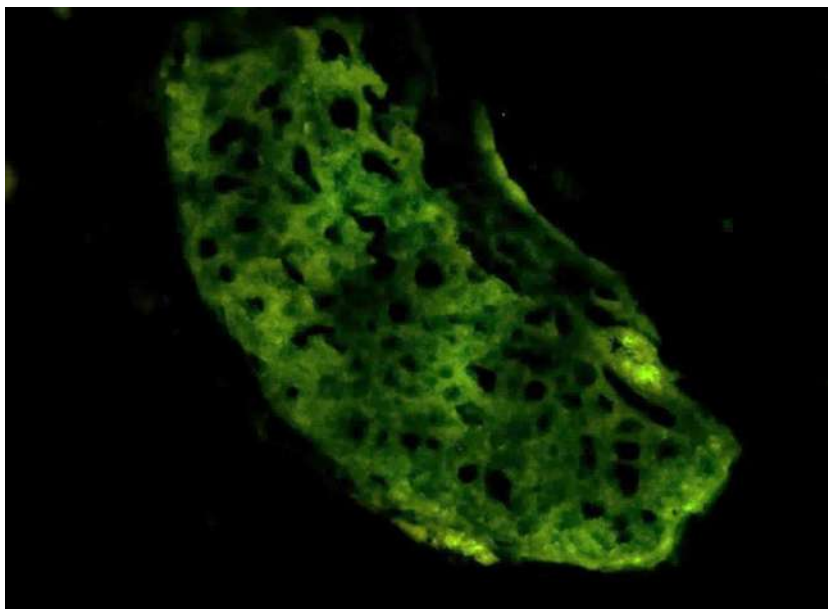


Рисунок 3.26 – ЩЗ плода новонародженого групи NSA. Осередки яскравої флуоресценції TNF. Непрямий метод Кунса з МоАт до TNF, $\times 100$

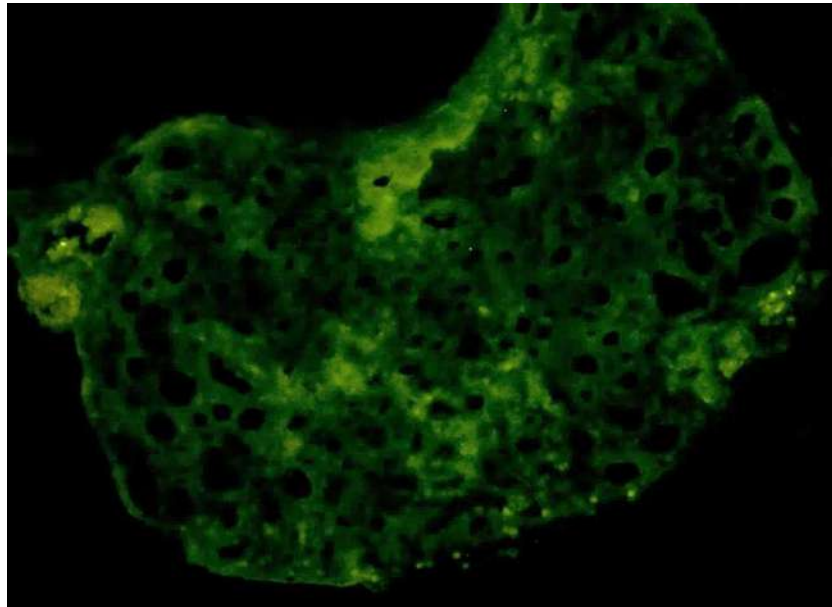


Рисунок 3.27 – ЩЗ новонародженого щура групи NSA. Осередки яскравої флуоресценції маркеру клітинного пошкодження – IL6. Непрямий метод Кунса з МоАт до IL6, $\times 100$

Резюме підрозділу 3.1.3

Комплексне морфологічне дослідження ЩЗ плодів та новонароджених, які розвивалися в умовах МПІ, що спричинена *S. aureus*, дозволило виявити статистично значущу різницю між морфометричними та імуногістохімічними параметрами органа на різних етапах розвитку органа при порівнянні.

3.1.4. Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції, що спричинена *Klebsiella pneumoniae*

Оглядова мікроскопія зразків ЩЗ груп нащадків щурів, які розвивалися за умов МПІ, що спричинена *K. pneumoniae* (ФКР, $n = 9$ | НКР, $n = 7$), на збільшенні $\times 40$ продемонструвала, що ЩЗ плодів складається з двох часток та перешийку, вкрита сполучнотканинною капсулою, містить паренхіму, що активно проліферує (рис. 3.28).

Своєю чергою, ЩЗ новонароджених явила аналогічну будову, проте паренхіма відрізнялася наявністю добре розвинених гетероморфних фолікулів та помірним повнокрів'ям судин (рис. 3.29).

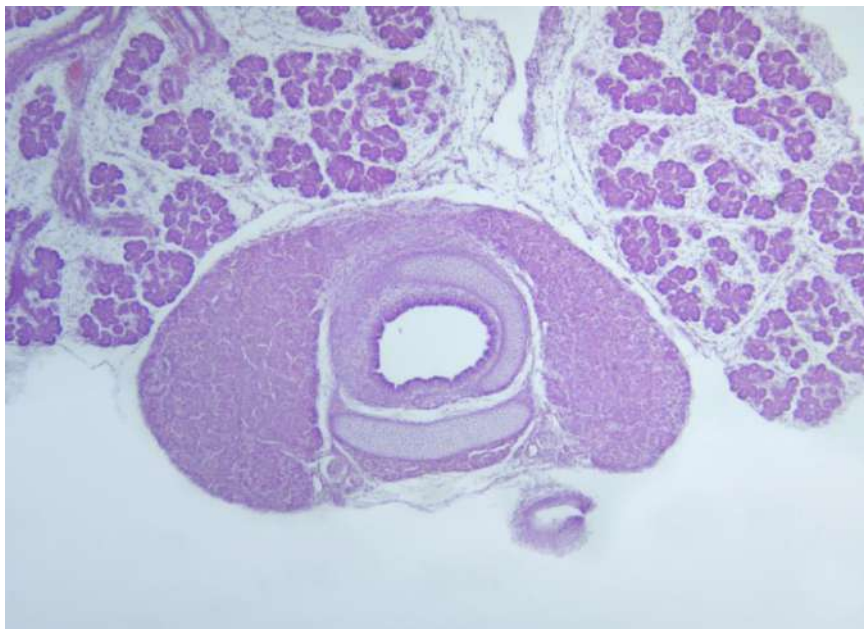


Рисунок 3.28 – ЩЗ плода щура групи ФКР. Ліва та права частки, що з'єднані перешийком, представлені менш щільною паренхімою з фолікулами, що активно розвиваються. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

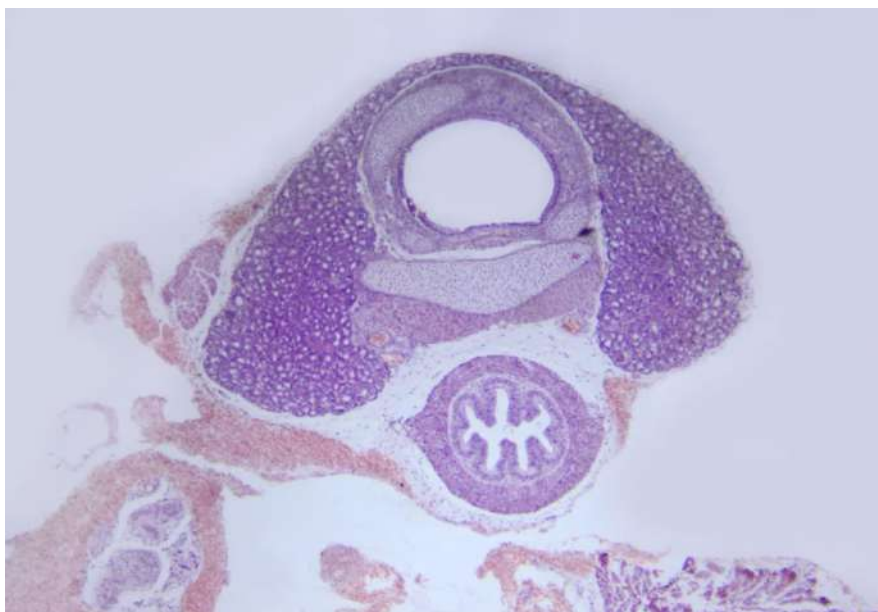


Рисунок 3.29 – ЩЗ новонародженого щура групи НКР. Ліва та права частки, що з'єднані перешийком, представлені паренхімою з великою кількістю добре розвинених гетероморфних фолікулів. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

При збільшенні $\times 400$ ЩЗ плодів була представлена паренхімою з розвиненими фолікулами, які подекуди заповнені рідким та пінистим колоїдом (рис. 3.30).

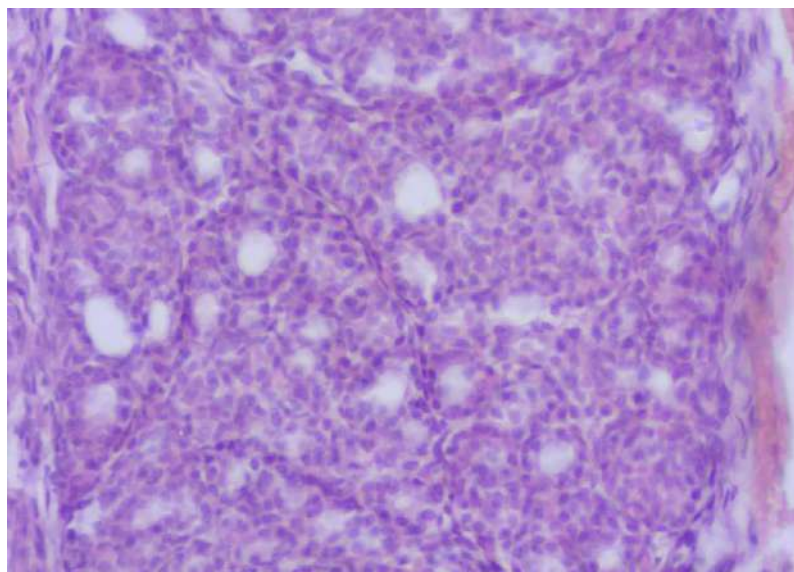


Рисунок 3.30 – ЩЗ плода щура групи FKP з широкими острівцями екстрафолікулярного епітелію та фокусами скупчення розвинених фолікулів, що подекуди заповнені колоїдом. Зabarвлення H&E, $\times 400$

Разом з тим, ЩЗ новонароджених щурів характеризувалася великими фолікулами різних форми та розміру, що місцями були кістозно розширені та вистелені сплосченим епітелієм (рис. 3.31), крім того, у деяких спостереженнях, відмічалися осередки десквації тироцитів.

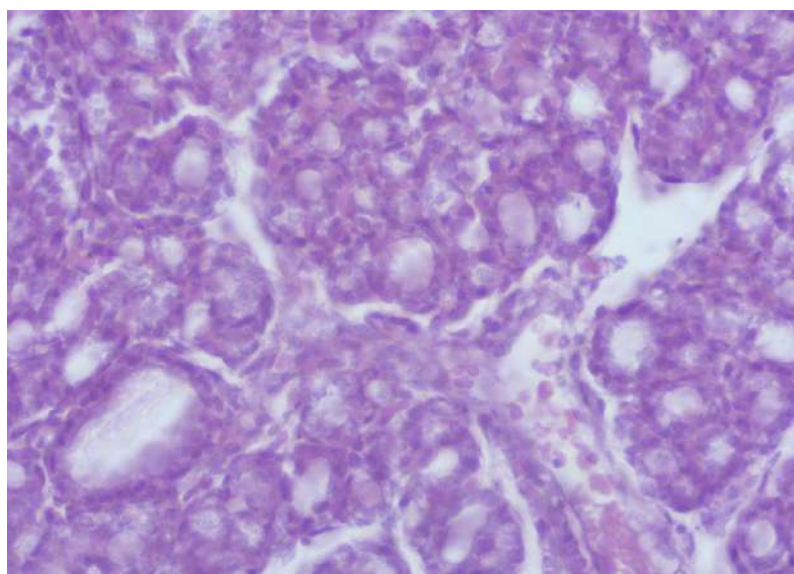


Рисунок 3.31 – ЩЗ новонародженого щура групи NKP з великою кількістю розвинених фолікулів різного розміру, деякі з них кістозно розширені та заповнені пінистим колоїдом. Зabarвлення H&E, $\times 400$

Морфометрично було виміряно середні значення Dfol, Sfol, Hthyr, Scyt, Snuc та NCR, а також визначено МТ (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Середні значення морфометрії ЩЗ груп нащадків з МПІ,
що спричинена *K. pneumoniae***

Група	Dfol, мкм	Sfol, мкм ²	Hthyr, мкм	Sthyr, мкм ²	Scyt, мкм ²	Snuc, мкм ²	NCR
ФКР	20,227 ±0,169	491,160 ±1,531	11,911 ±0,054	64,581 ±0,133	40,761 ±0,088	24,389 ±0,08	0,606 ±0,07
НКР	29,636 ±0,181	806,447 ±2,27	6,760 ±0,07	25,634 ±0,166	15,906 ±0,175	9,847 ±0,059	0,686 ±0,06
/МТ	↑*	↑*	↓*	↓*	↓*	↓*	↑*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

Таким чином, у віковій динаміці, реєстрували збільшення діаметра та площі фолікула, а також NCR, разом зі зниженням показників Hthyr, Sthyr, Scyt.

З використання методу ІФД для груп ФКР та НКР були визначені середні значення ODF і SF для Т4, колагенів І та ІІ типів, ІІ6 та TNF (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Середні значення ІФД ЩЗ груп нащадків з МПІ, що спричинена
*K. pneumoniae***

Група	ODF Т4, у.о.	SF Т4, піксель	ODF Col1, у.о.	SF col1, піксель	ODF Col3, у.о.	SFcol3, піксель	ODF TNF, у.о.	SFtnf, піксель	ODF ІІ6, у.о.	SFil6, піксель
ФКР	85,53 ±0,132	138246,778 ±747,181	40,17 ±0,266	97878,778 ±101,218	43,150 ±0,165	55147,667 ±883,949	43,96 ±0,222	13393,667 ±159,397	36,633 ±0,285	10466,333 ±86,638
НКР	82,66 ±0,213	177068,857 ±680,971	70,633 ±0,342	103026,429 ±112,602	63,059 ±0,145	54400,571 ±1288,753	59,379 ±0,158	18674,286 ±141,054	62,320 ±0,171	20842,571 ±4,17
/МТ	↓	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↑	↑

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

Результати ІФД в динаміці продемонстрували зниження показника ODF Т у новонароджених порівняно з плодами в той час, коли SF Т4 з плином часу збільшилася (рис. 3.32).

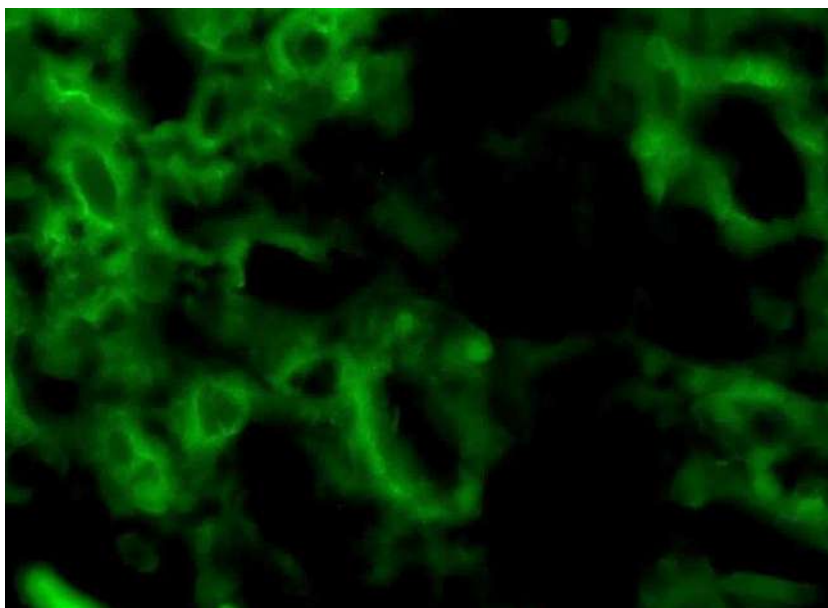


Рисунок 3.32 – ЩЗ плода щура групи НКР. Інтенсивна флуоресценція Т4 у фолікулярному епітелії. Непрямий метод Кунса з МоАт до Т4, $\times 250$

Паралельно, при зіставленні з групами ЩЗ плодів, у новонароджених відмічали посилення ODF Col1 (рис. 3.33) та Col3 разом зі збільшенням SF Col1 та зниженням SF Col3.

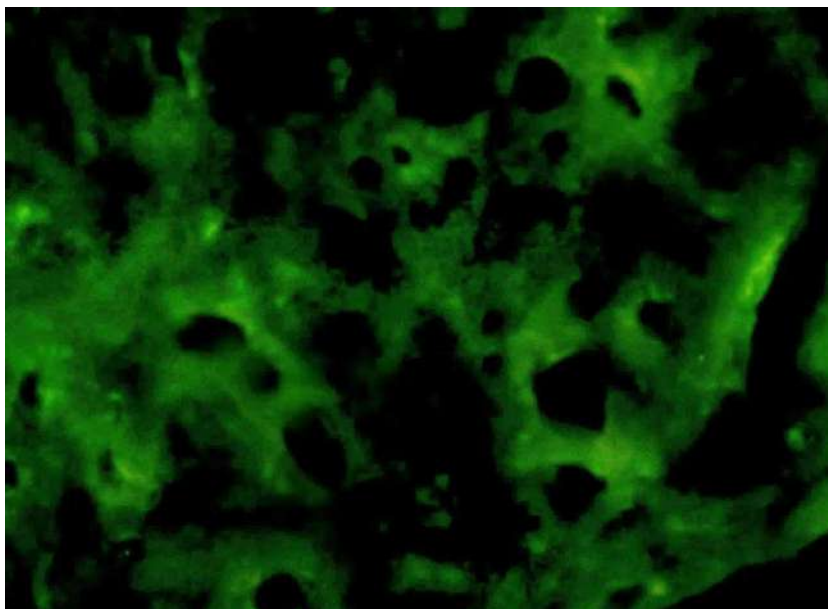


Рисунок 3.33 – ЩЗ новонародженого щура групи НКР. Виражена люмінесценція колагену І типу. Непрямий метод Кунса з МоАт до Col1, $\times 250$

При цьому показники ODF та SF для TNF та IL6 (рис. 3.34) зазнали синхронного підвищення.

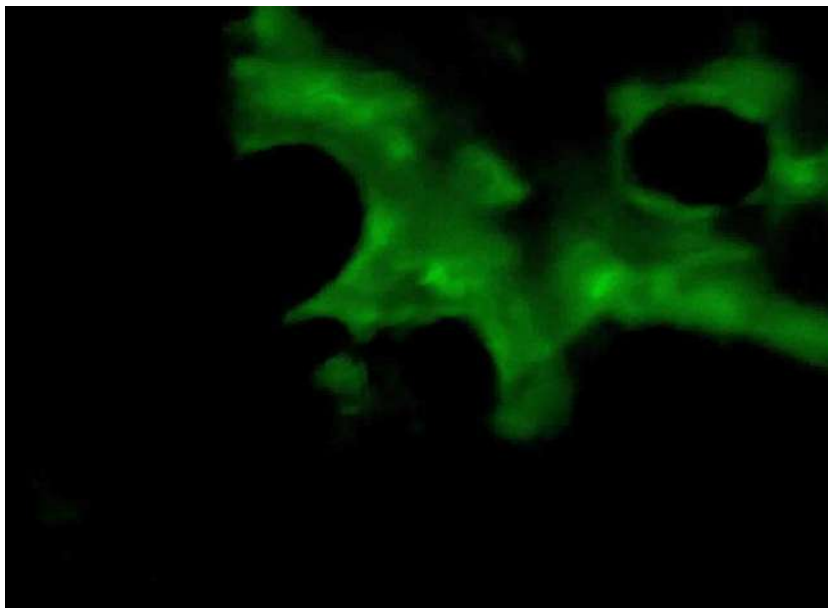


Рисунок 3.34 – ЩЗ новонародженого щура групи НКР. Помірна флуоресценція IL6. Непрямий метод Кунса з МоАт до IL6, $\times 600$

Резюме підрозділу 3.1.4

Таким чином, було встановлено, що на рівні морфометричного та імуногістохімічного досліджень ЩЗ плодів і новонароджених, які розвивалися в умовах МПІ, що спричинена *K. pneumonia*, зі статистичною значущістю різняться між собою та дозволяють встановити динаміку морфофункціональних змін.

3.1.5. Морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, які розвивалися в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії

Оглядова мікроскопія забарвлених за методом Н&Е зразків ЩЗ груп нащадків щурів, що розвивалися в умовах ХВГ (ФСІН, $n = 6$ | НСІН, $n = 11$), при збільшенні $\times 40$ дозволила встановити, що паренхіма ЩЗ плодів виповнена фолікулами, які активно розвиваються (рис. 3.35), при цьому у новонароджених фолікулярний епітелій виглядає ще більше розвиненим, що надає органу ефекту

фенестрованості (рис. 3.36). При збільшенні $\times 400$ мікроскопічне дослідження аналогічно забарвлених зразків ЩЗ плодів демонструвало часточки, які склалися з фолікулів, що чітко візуалізувалися.

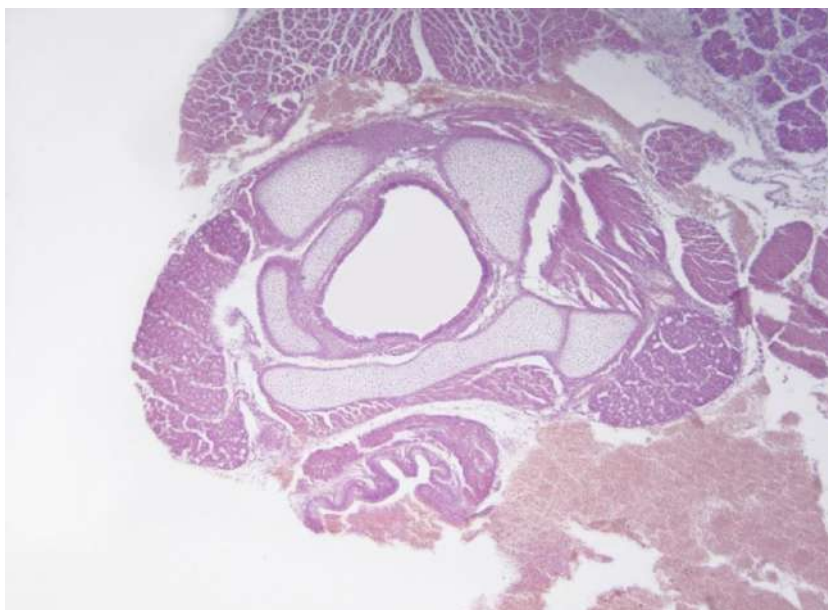


Рисунок 3.35 – ЩЗ плода щура групи FCIN. Ліва та права частки, що представлені візуально фенестрованою паренхімою унаслідок розправлених фолікулів, що добре візуалізуються. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

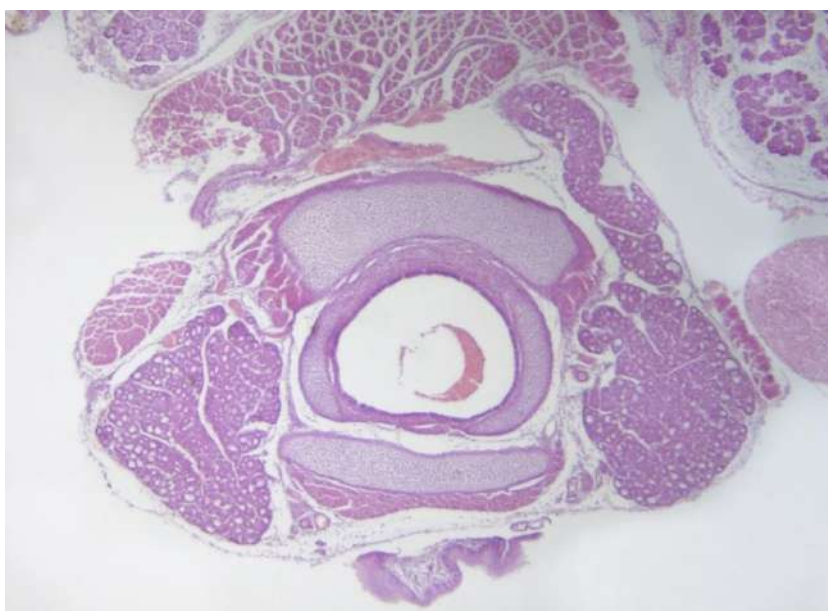


Рисунок 3.36 – ЩЗ новонародженого щура групи NCIN. Ліва та права частки з добре розмежованими часточками та великими фолікулами, деякі з яких – кістозно розширені. Забарвлення Н&Е, $\times 40$

Разом з тим, останні були повсюдно заповнені густим колоїдом, поодинокі з яких являли кістозне розширення, а фолікулярний епітелій з кубічного трансформувався у призматичний (рис. 3.37).

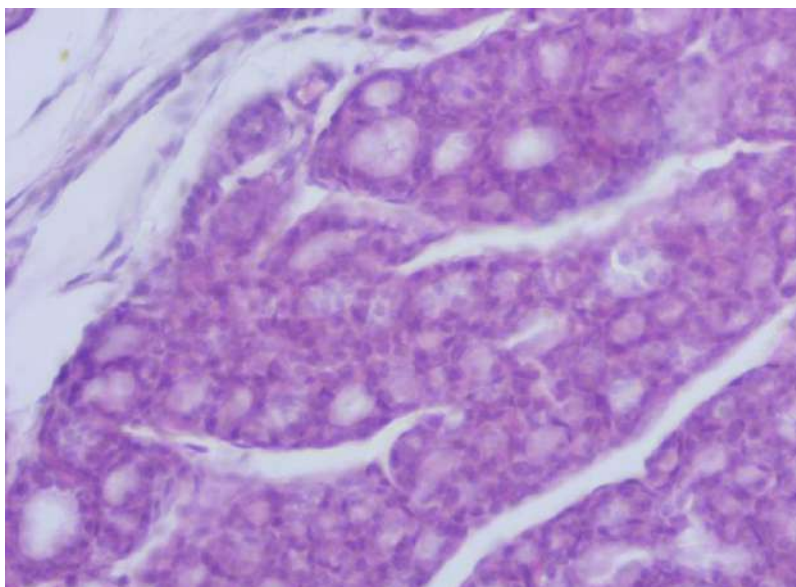


Рисунок 3.37 – ЩЗ плода щура групи FCIN з великою кількістю розвинених фолікулів, які повсюдно заповнені густим колоїдом та осередково кістозно розширені. Забарвлення Н&Е, $\times 400$

Порівняно з плодами, в новонароджених фолікули об'єктивно були більшими, деякі з них також кістозно розширені, епітелій сплюснений, відмічалися фокуси десквамації тироцитів (рис. 3.38).

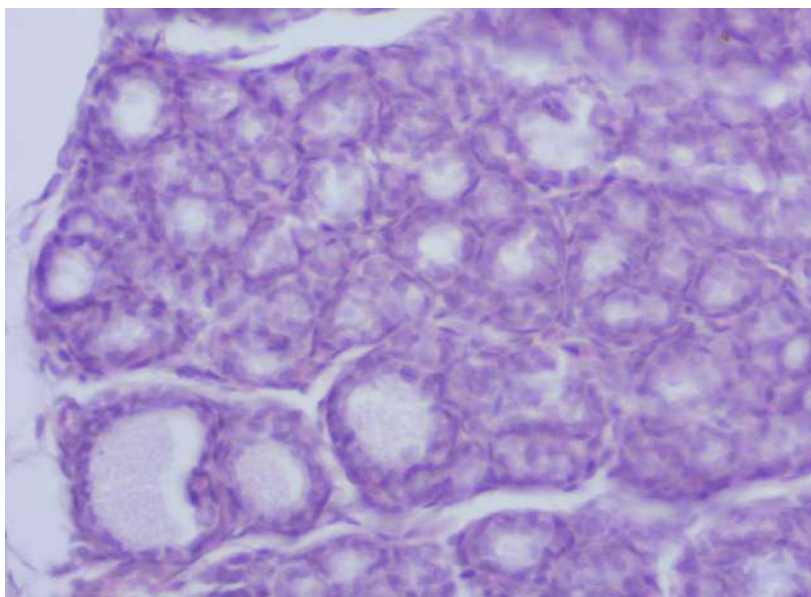


Рисунок 3.38 – ЩЗ плода щура групи NCIN з великими добре розвиненими фолікулами, фокусами пінистого колоїду та десквамації тироцитів. Н&Е, $\times 400$

Водночас мікроморфологічне дослідження препаратів ЩЗ новонароджених, забарвлених за методом Ван Гізона при збільшенні 100 дозволило встановити, що орган мав добре розвинену строму, чітко відмежовані часточки та розвинений фолікулярний епітелій (рис. 3.39).

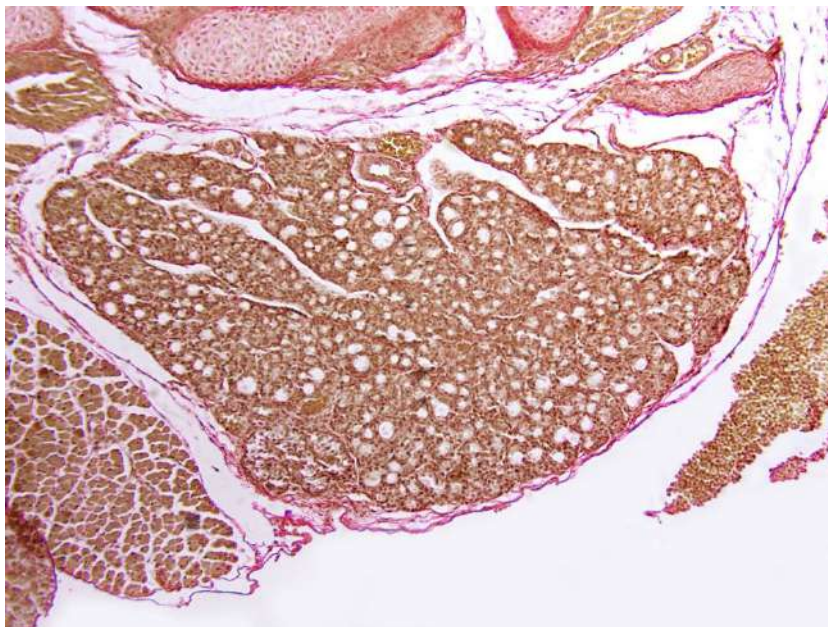


Рисунок 3.39 – ЩЗ новонародженого щура групи FCІН. Частка органа, що вкрита капсулою з добре відмежованими часточками, що представлені паренхімою з рясними розвиненими фолікулами з широким просвітом. Забарвлення за Ван Гізоном, $\times 100$

На збільшенні $\times 400$ реєструвалася помірна фуксинофілія, що свідчила про активну проліферацію колагенів, відмічали кістозне розширення деяких фолікулів, що морфологічно відбило зниження секреторної функції ЩЗ (рис. 3.40).

Досить мальовничу картину надало забарвлення за Маллорі, при якому чітко візуалізувалися фолікули різного діаметра з пінистим колоїдом, проте осередково деякі з них мали кістозне розширення та сплюснений епітелій (рис. 3.41).

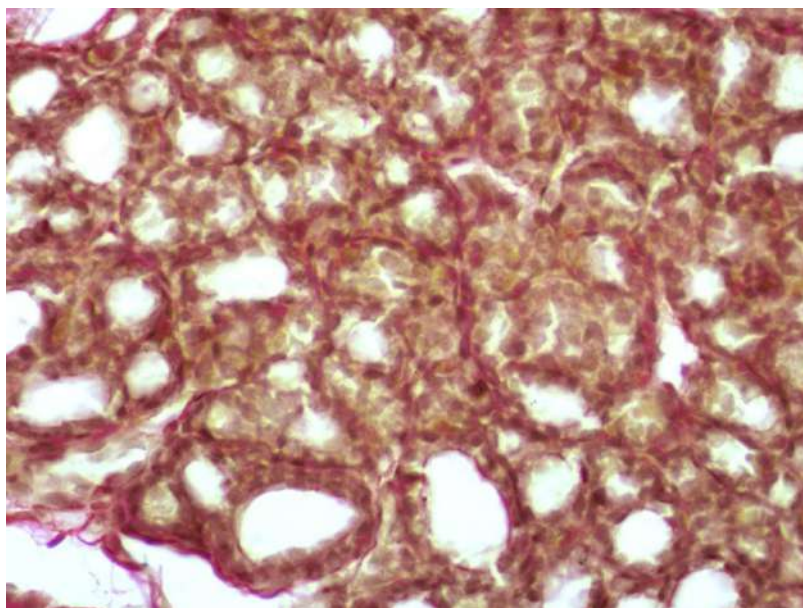


Рисунок 3.40 – ЩЗ новонародженого щура групи NCІН. Проліферація колагенів стромального компонента органа у вигляді помірної фуксинофілії сполучнотканинних перегородок, кістозне розширення фолікулів. Забарвлення за Ван Гізоном, ×400

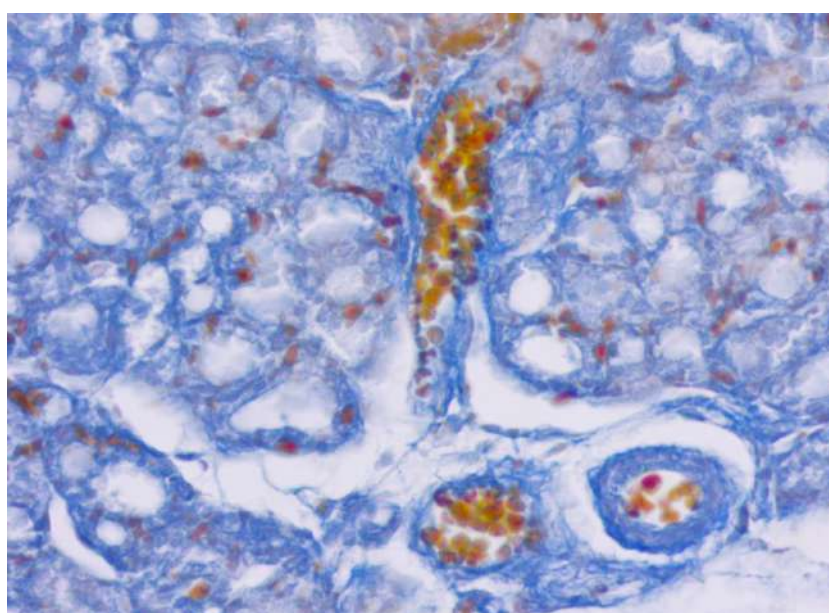


Рисунок 3.41 – ЩЗ новонародженого щура групи NCІ. Гетероморфні фолікули, що заповнені пінистим колоїдом, а у випадках кістозного розширення – представлені сплющеним тиреоїдним епітелієм. Проліферація колагенів стінки судин. Забарвлення за Маллорі, ×400

З використанням електронної морфометрії було визначено середні значення Dfol, Sfol, Hthyr, Scyt, Snuc та NCR, а також вказано МТ для спостережень вищезазначених груп (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Середні значення ІФД ЩЗ груп нащадків з ХВГ

Група	Dfol, мкм	Sfol, мкм ²	Hthyr, мкм	Sthyr, мкм ²	Scyt, мкм ²	Snuc, мкм ²	NCR
FCIH	19,208 ±0,177	453,750 ±2,197	11,492 ±0,061	56,643 ±0,129	35,262 ±0,049	21,672 ±0,071	0,663 ±0,095
NCIH	30,578 ±0,157	699,027 ±0,991	6,458 ±0,045	32,687 ±0,219	14,153 ±0,119	9,434 ±0,122	0,676 ±0,085
/MT	↑*	↑*	↓*	↓*	↓*	↓*	↑*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

Виконана морфометрія дозволила сформувати уявлення про те, що у віковій динаміці ХВГ спричиняє зміни морфофункціональних параметрів ЩЗ нащадків у вигляді збільшення діаметра та площі фолікула на тлі зменшення висоти та площі тироцита, площі цитоплазми, площі ядра з незначним збільшенням ядерно-цитоплазматичного відношення, що доведено наявністю статистично значущої різниці між групами.

Проведене ІФД дала змогу встановити середні значення ODF і SF для T4, колагенів I та III типів, IL6 та TNF для даних груп (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Середні значення ІФД ЩЗ груп нащадків з ХВГ

Група	ODF T4, у.о.	SF T4, пксель	ODF Col1, у.о.	SF col1, пксель	ODF Col3, у.о.	SFcol3, пксель	ODF TNF, у.о.	SFtnf, пксель	ODF IL6, у.о.	SFil6, пксель
FCIH	80,518 ±0,274	135149,833 ±807,714	54,925 ±0,35	106444,5 ±68,544	50,978 ±0,102	75413,167 ±1485,699	44,125 ±0,255	9779,167 ±148,796	35,345 ±0,179	12774,167 ±3,891
NCIH	78,665 ±0,227	171635,182 ±723,888	80,000 ±0,114	110899,091 ±98,831	75,481 ±0,127	60476,182 ±1162,68	52,977 ±0,223	12826,364 ±125,173	57,578 ±0,201	24389,909 ±3,147
/PT	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*	↓*	↑*	↑*	↑*	↑*

* - різниця між показниками статистично значуща (p<0,001)

Наведені дані вказали на те, що зі збільшенням гестаційного віку, в умовах ХВГ, ЩЗ помірно зменшувала свою синтетичну активність, про що свідчило зменшення показника ODF T4 на тлі збільшення SF T4 (рис. 3.42).

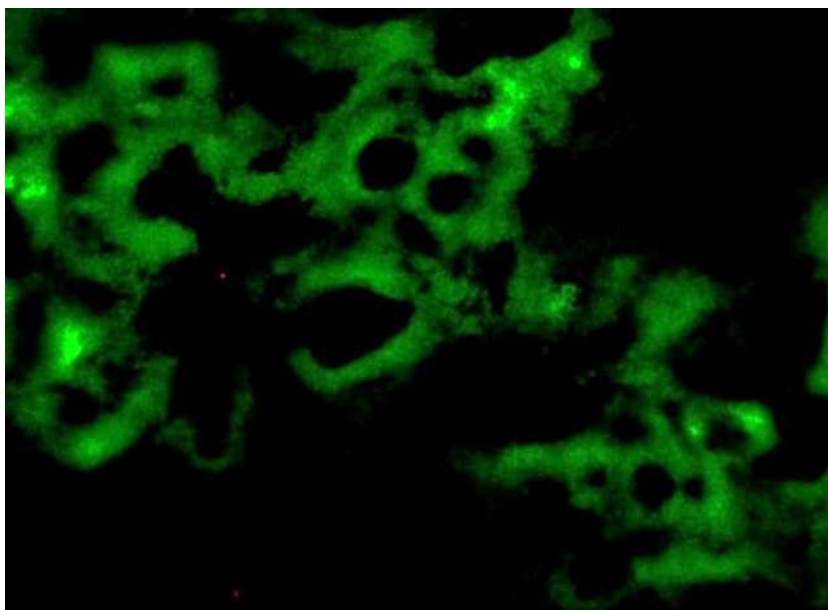


Рисунок 3.42 – ПЦЗ новонародженого щура групи NCIN. Інтенсивна флуоресценція T4 у паренхімі, що розвивається. Непрямий метод Кунса з МоАт до T4, $\times 400$

Проте, згідно з середніми значеннями як ODF, так і SF, можна зазначити, що орган активує процеси утворення колагену I типу, які наростають пропорційно строку вагітності (рис. 3.43 та 3.44), в той час, коли аналогічні показники для колагену III типу зменшуються.

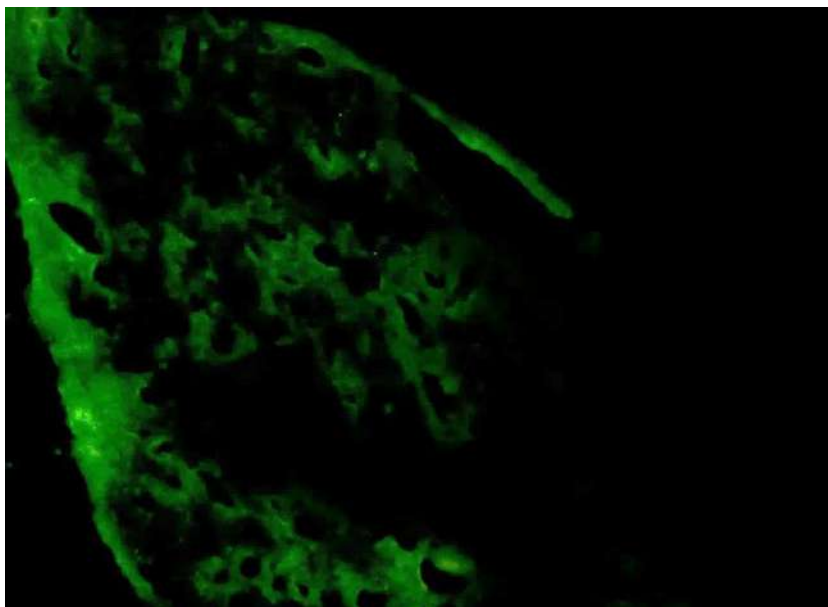


Рисунок 3.43 – ПЦЗ плода щура групи FCIN: помірна люмінесценція колагену I типу у стромі органа. Непрямий метод Кунса з МоАт до T4, $\times 100$

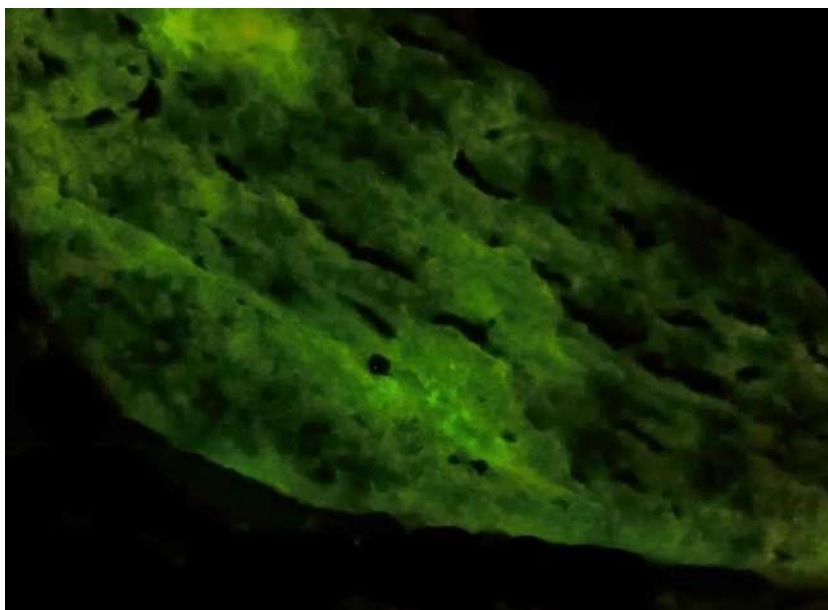


Рисунок 3.44 – ЩЗ новонародженого щура групи NCIN. Яскрава флуоресценція колагену I типу. Непрямий метод Кунса з МоАт до Col1, $\times 100$

Вивчення макрофагальної системи ЩЗ через рівень експресії IL6 та TNF в умовах потенційної активації сигнальних систем дозволило встановити, що згідно з показниками помірної люмінесценції пошкодження клітинного компонента все ж відбувається, але досить повільно.

Резюме підрозділу 3.1.5

Результати патоморфологічного дослідження ЩЗ плодів і новонароджених, які розвивалися в умовах ХВГ, показали, що на різних етапах перинатального періоду обрані морфометричні та імуногістохімічні параметри морфофункціонального стану залози зі статистичною значущістю відрізняються між собою.

Висновки до розділу 3

Під час цього етапу дослідження ми визначили морфофункціональні особливості ЩЗ як плодів, так і новонароджених, що розвивалися в умовах

фізіологічної вагітності, субклінічних МПІ, які спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, а також ХВГ.

Визначили показники груп негативного контролю і прийняли їх за нормативні задля використання у зіставленні з аналогічними в експериментальних групах на наступному етапі дослідження.

Провели зіставлення значень морфометричних та імуногістохімічних показників морфофункціонального стану ЩЗ плодів і новонароджених окремо у межах кожного фактору впливу. Виявили статистично значущу різницю між значеннями, що реєструються у перинатальному та неонатальному періодах під час патоморфологічного дослідження ЩЗ від нащадків, які розвивалися в умовах субклінічних МПІ, що спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, а також ХВГ.

Список праць, опублікованих за темою розділу дисертації

1. Талапова ПС. Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків. Проблеми ендокринної патології. 2021;76(2):93-101. doi:10.21856/j-PER.2021.2.13.

2. Талапова ПС, Сорокіна ІВ. Морфофункціональний стан щитовидної залози плода на тлі материнсько-плодових інфекцій, спричинених *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*. Патологія. 2021;51(1):86-95. doi:10.14739/2310-1237.2021.1.216292.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА МОРФОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ВПЛИВУ МАТЕРИНСЬКО-ПЛОДОВОЇ ІНФЕКЦІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ НАЩАДКІВ

4.1. Аналіз впливу материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків

З метою визначення впливу субклінічної бактеріальної МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків, нами було проведено, по-перше, графічний аналіз даних, що були отримані в ході дослідження. Для цього прицільно використовувалися *діаграми розмаху*, також відомі як *коробкові графіки*, або «*ящики з вусами*» чи *box plots*, що в описовій статистиці є добре відомим засобом візуалізації груп числових даних. Цей метод базується на використанні кuartилів – першого та третього, які на діаграмі зазвичай розділені горизонтальною смугою, яка відбиває другий кuartиль, або медіану [282]. Відтак, коробкові графіки дали нам змогу наочно продемонструвати мінливість даних у вибірці статистичної сукупності без припущень стосовно базового статистичного розподілу. Відстань між різними частинами коробок показувала ступінь дисперсії, асиметрії та наявності викидів у даних.

Результати графічного аналізу результатів дослідження морфофункціонального стану ЩЗ нащадків всіх груп продемонстровані на рисунках 4.1, 4.2, 4.3 та 4.4. Згідно з цими даними, у плодів реєструвалася помірна асиметрія між коробками для показників Dfol та NCR і, в меншому ступені, для OD T4, при цьому помірно віддалені викиди відмічалися серед груп показників Dfol та NCR.

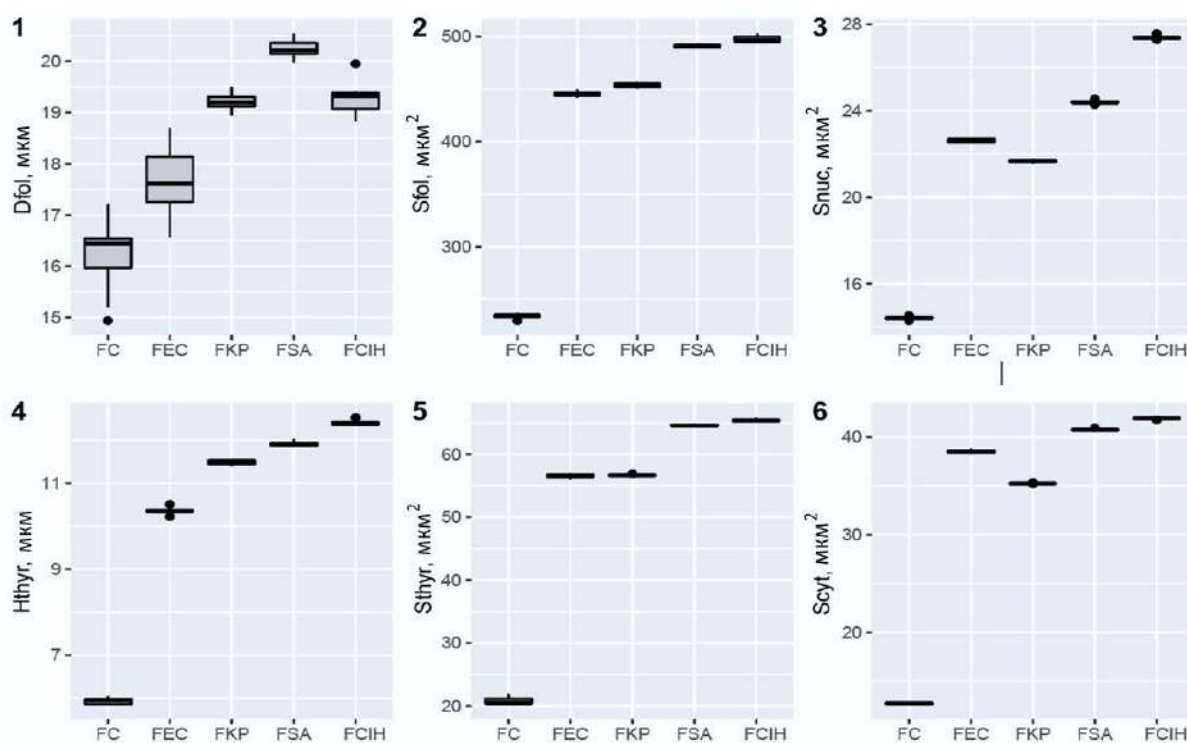


Рисунок 4.1 – Порівняльний аналіз середніх значень показників морфофункціонального стану ЦЗ плодів щурів за такими параметрами: 1 – Dfol; 2 – Sfol; 3 – Snuc; 4 – Hthyr; 5 – Sthyr; 6 – Scyt

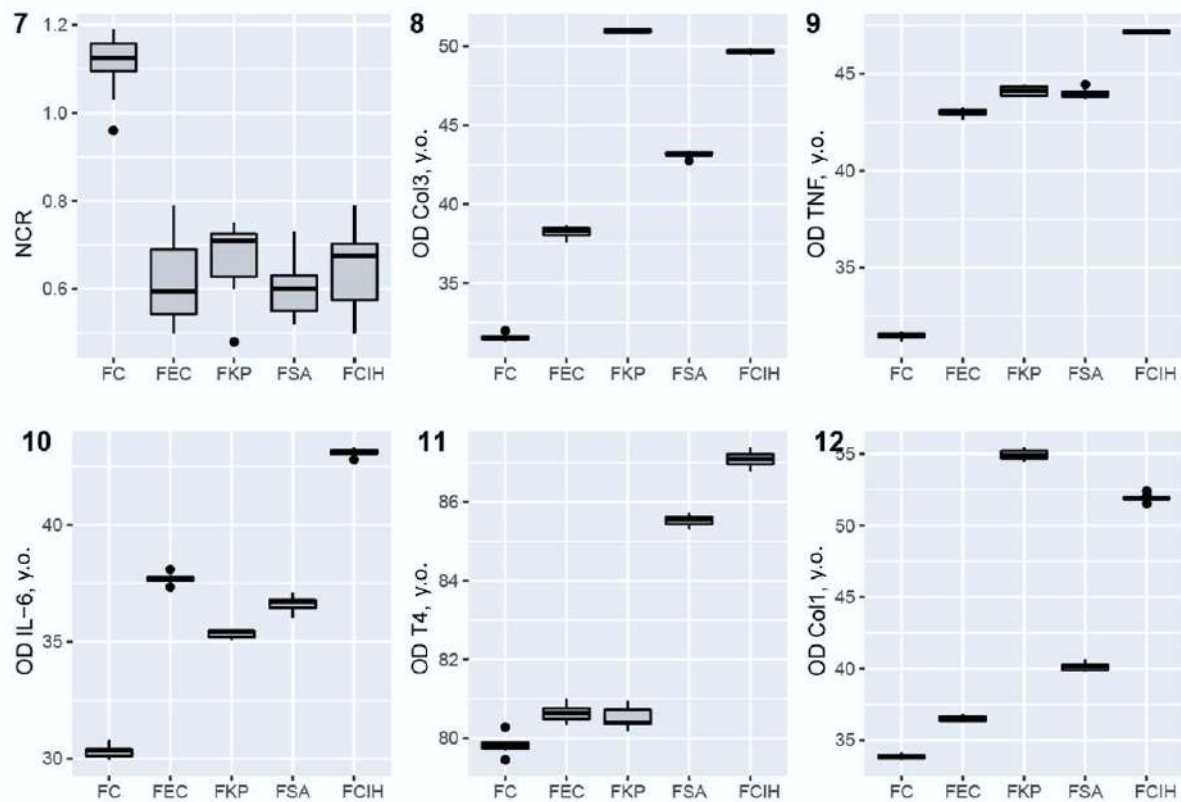


Рисунок 4.2 – Порівняльний аналіз середніх значень показників морфофункціонального стану ЦЗ плодів щурів за такими параметрами: 7 – Dfol; 8 – Sfol; 9 – Snuc; 10 – Hthyr; 11 – Sthyr; 12 – Scyt

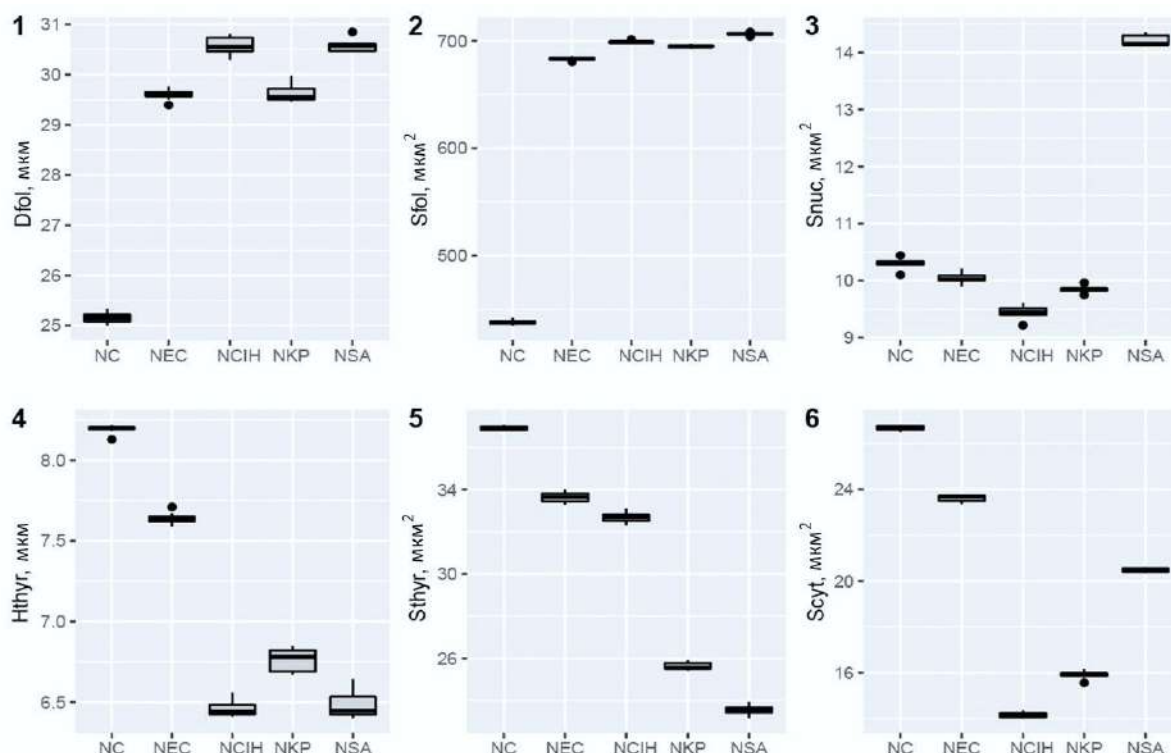


Рисунок 4.3 – Порівняльний аналіз середніх значень показників морфофункціонального стану ЦЗ новонароджених щурів за такими параметрами: 1 – Dfol; 2 – Sfol; 3 – Snuc; 4 – Hthyr; 5 – Sthyr; 6 – Scyt

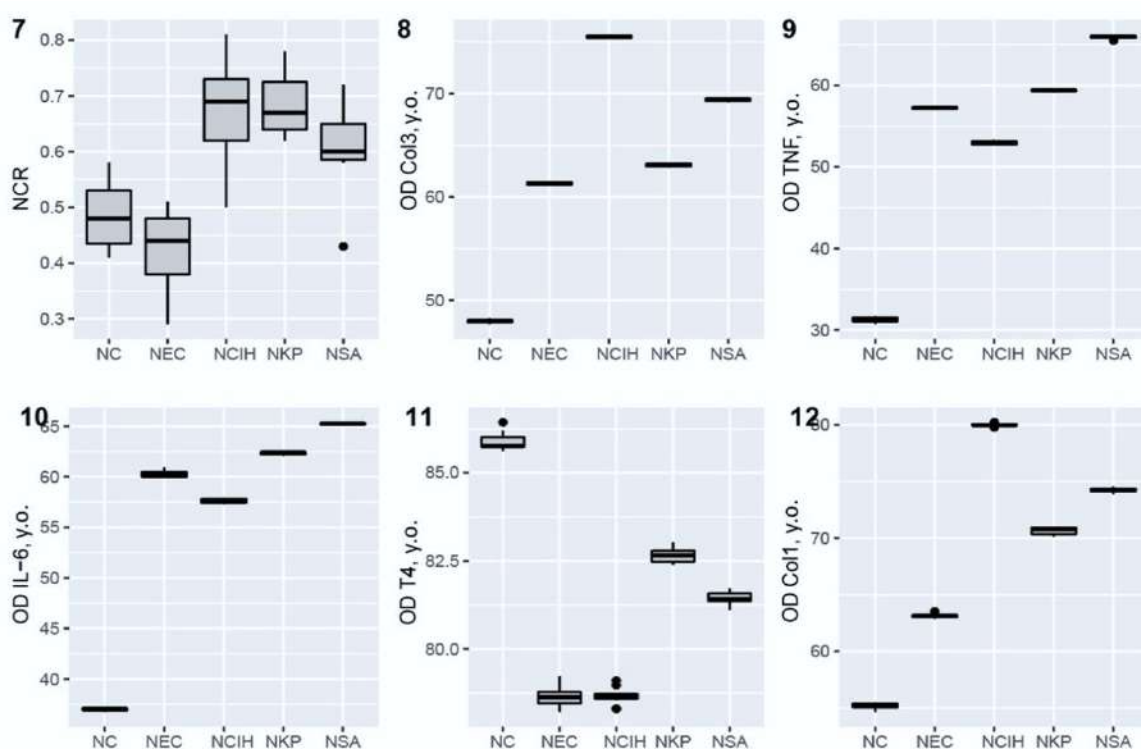


Рисунок 4.4 – Порівняльний аналіз середніх значень показників морфофункціонального стану ЦЗ новонароджених щурів за такими параметрами: 7 – NCR; 8 – OD Col3; 9 – OD TNF; 10 – OD IL6; 11 – OD T4; 12 – OD Col1

У новонароджених була помічена помірна асиметрія коробок серед значень показника NCR та незначна – серед значень Dfol та Hthyr. Найпримітніші викиди реєструвалися за показниками Dfol та NCR у групі NSA.

По-друге, ми виконали однофакторний дисперсійний аналіз результатів патоморфологічного дослідження, згідно з яким порівнювалися середні значення морфофункціональних показників і перевірялася робоча гіпотеза.

По-третє, з метою оцінки *значущості відмінностей* між парами групових показників, нами було створено набір довірчих інтервалів для всіх попарних різниць середніх значень факторних рівнів за умови одночасного контролю частоти помилок сімейства при 95% рівні вірогідності. Інтервали базувалися на статистичній оцінці діапазону Studentized у методі Т'юкі «Чесна суттєва різниця» (HSD, Honest Significant Differences) [283]. Знаючи, що при виконанні множинних порівнянь існує суттєвий ризик припуститися помилки I роду, – відкинути вірну нульову гіпотезу про відсутність змін між групами, що порівнюються, ми перевірили рівень вірогідності для кожного окремого інтервалу вищезазначеним методом.

Візуалізація застосування даного методу, що продемонстрована на рисунках 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 та 4.10, дозволила встановити найбільш та найменш статистично значущі різниці (SS_diff_max та SS_diff_min) між групами контролю та МПІ серед плодів та новонароджених (табл. 4.1, 4.2).

Таблиця 4.1

Результати попарної оцінки максимальних та мінімальних статистично значущих різниць середніх значень між групами плодів

№	Змінна	SS_diff_max, МПІ	SS_diff_min, МПІ	SS_diff_max, ХВГ	SS_diff_min, ХВГ
1	2	3	4	5	6
1	Dfol	FC-FKP	FC-FEC	FCIH-FEC	FCIH-FSA
2	Sfol	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC
3	Sthyr	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC
4	Hthyr	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC
5	Snuc	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC

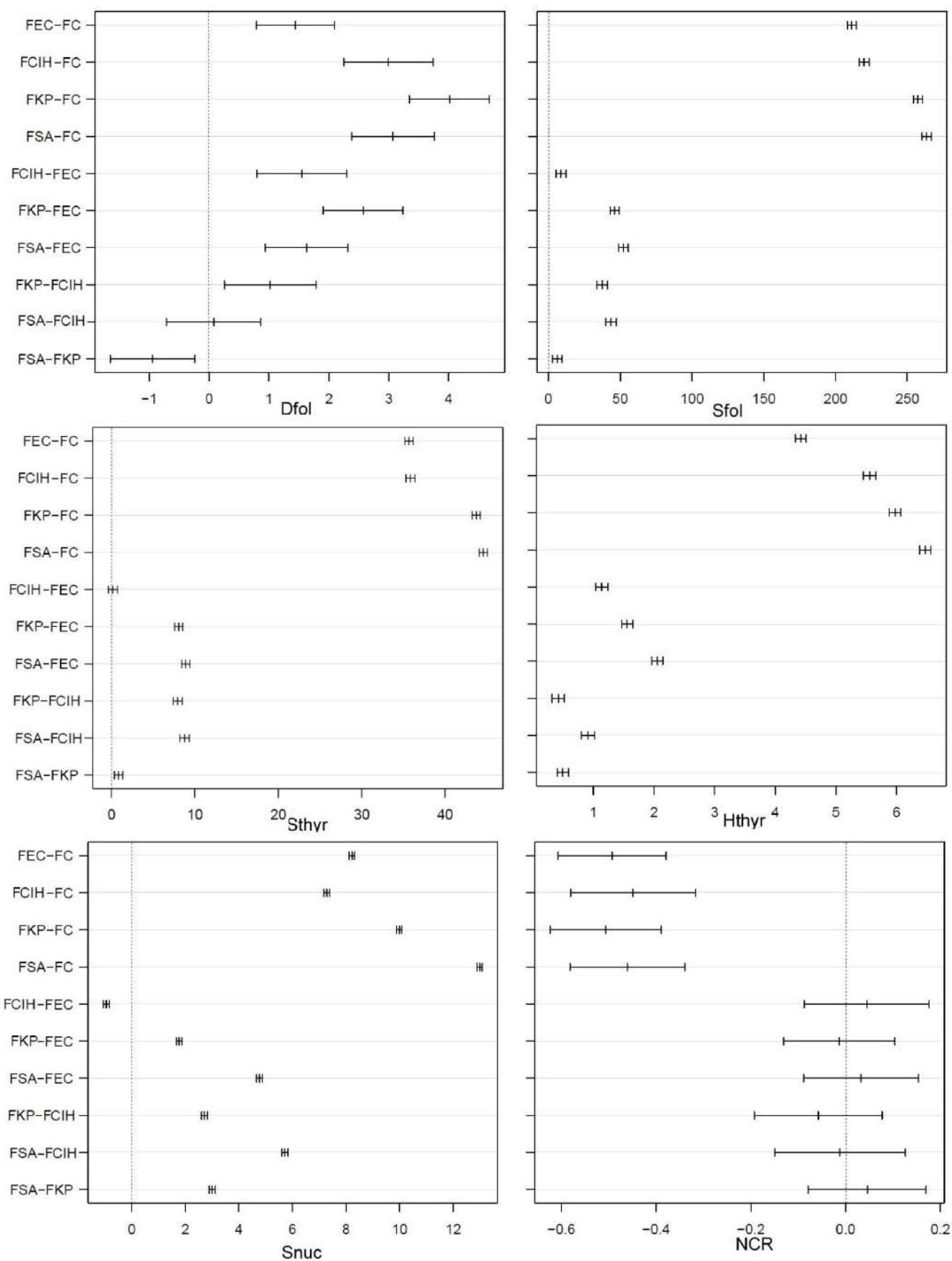


Рисунок 4.5 – Попарні порівняння груп плодів за методом Т'юкі HSD задля визначення істотності різниці середніх значень таких морфофункціональних параметрів, як Dfol, Sfol, Sthyr, Hthyr, Snuc та NCR

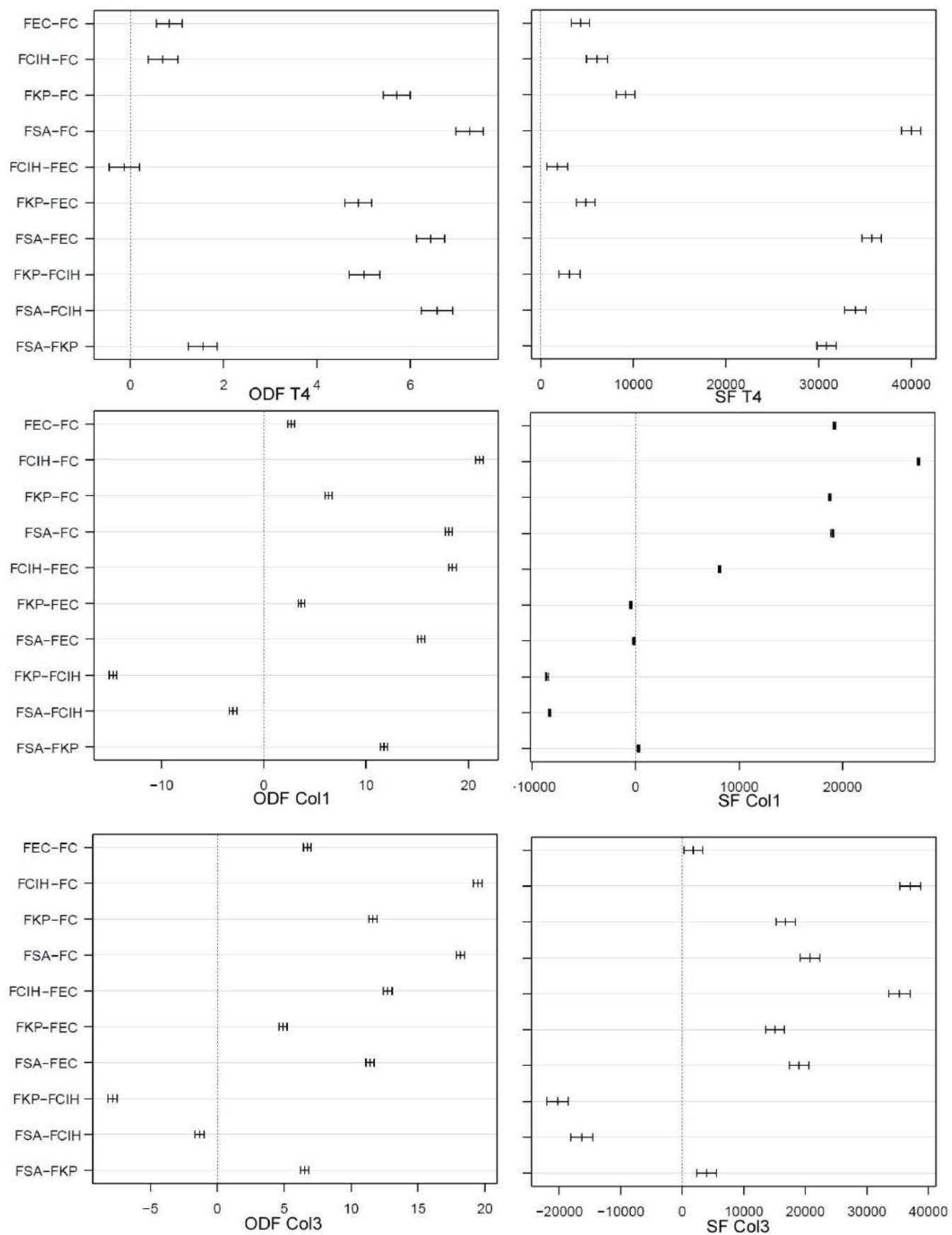


Рисунок 4.6 – Попарні порівняння груп плодів за методом Т'юкі HSD задля визначення істотності різниці середніх значень таких морфофункціональних параметрів, як ODF та SF для T4, Col1 та Col3

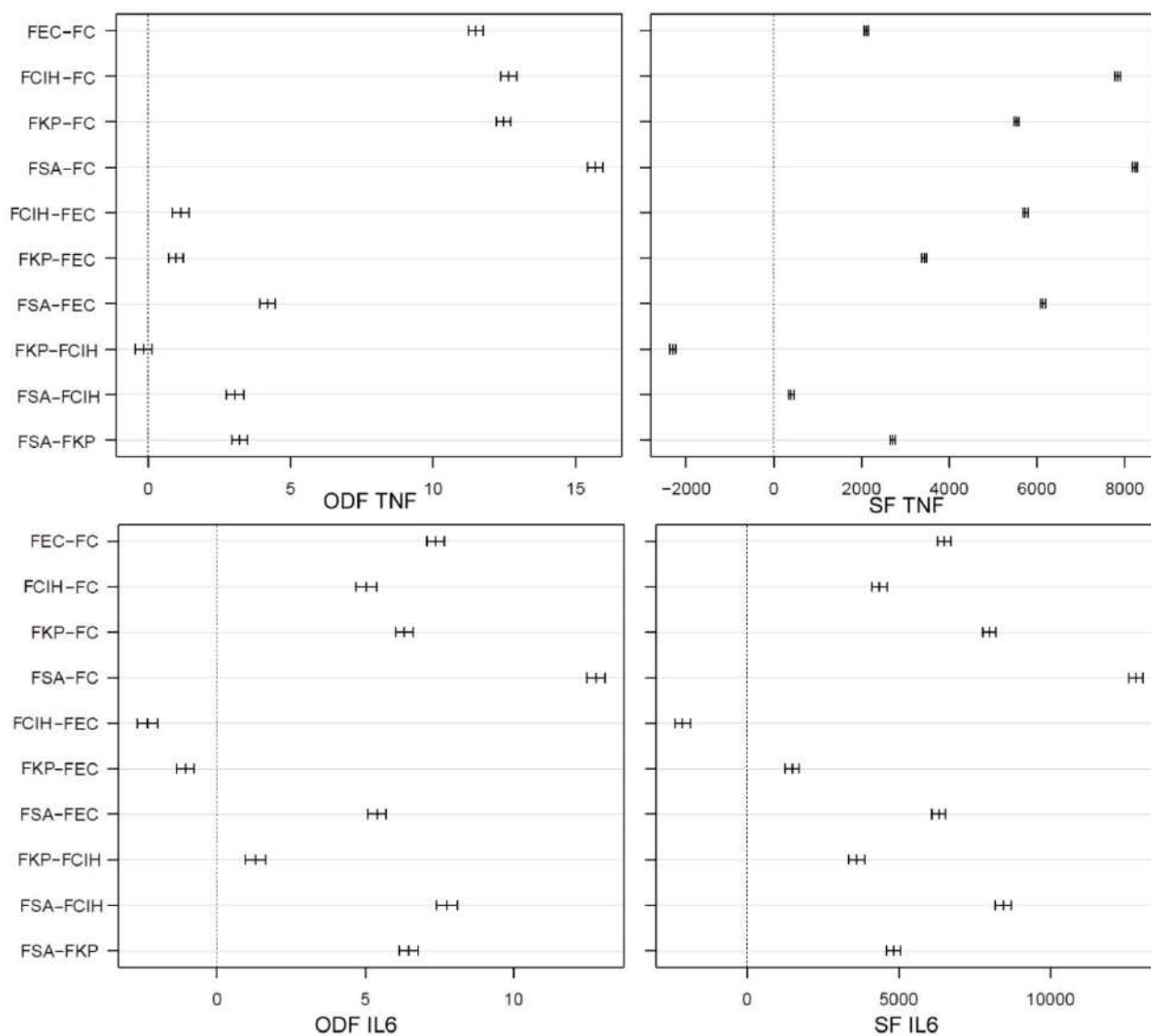


Рисунок 4.7 – Попарні порівняння груп плодів за методом Т'юкі HSD задля визначення істотності різниці середніх значень таких морфофункціональних параметрів, як ODF та SF для TNF і IL6

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4	5	6
6	NCR	FC-FKP	FC-FSA	*	*
7	ODF T4	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC
8	SF T4	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC
9	ODF Col1	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FEC	FCIH-FSA
10	SF Col1	FC-FEC	FC-FKP	FCIH-FEC	FCIH-FSA
11	ODF Col3	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FEC	FCIH-FSA
12	SF Col3	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FEC	FCIH-FSA
13	ODF TNF	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC
14	SF TNF	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FEC	FCIH-FSA
15	ODF IL6	FC-FSA	FC-FKP	FCIH-FSA	FCIH-FKP
16	SF IL6	FC-FSA	FC-FEC	FCIH-FSA	FCIH-FEC
* – нульова гіпотеза вірна, $p > 0,001$					

Проаналізувавши дані, наведені вище, ми дійшли висновку, що серед інфекцій, які досліджувалися, найвиразніший негативний ефект на морфофункціональний стан ЩЗ плодів мала МПІ, що спричинена *S. aureus*. Саме вона явила найбільшу статистичну значущість серед груп, що порівнювалися, – максимальна різниця з групою негативного контролю реєструвалася у 13 випадках з 16, в той час, коли *K. pneumoniae* – лише у 2 з 16. Найменший негативний ефект при попарному порівнянні відмічали в інфекції *E. coli* (9 випадків мінімальної різниці з 16).

Під час порівняльного аналізу морфофункціональних станів ЩЗ плодів, які розвивалися в умовах ХВГ та МПІ, було встановлено, що з 16 критеріїв, у цьому випадку, можуть бути застосовані лише 15, адже різниця між показниками NCR у цих групах не мають статистичної значущості. При цьому найбільша подібність до ХВГ відмічалася у групі ЩЗ плодів з МПІ, що спричинена *E. coli* (8 випадків найменшої статистичної значущості з 15), а найменша – у групі ЩЗ плодів з МПІ через *S. aureus* (9 випадків найбільшої статистичної значущості з 15). Клебсієльозна МПІ посіла проміжне місце.

Таблиця 4.2

Результати попарної оцінки максимальних та мінімальних статистично значущих різниць середніх значень між групами новонароджених

№	Змінна	MFI_diff_max	MFI_diff_min	CIH_diff_max	CIH_diff_min
1	2	3	4	5	6
1	Dfol	NC-NSA	NC-NKP	NCIH-NKP	NCIH-NSA
2	Sfol	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NSA
3	Sthyr	NC-NKP	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NKP
4	Hthyr	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NSA
5	Snuc	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NSA	NCIH-NKP
6	NCR	NC-NKP	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NSA
7	ODF T4	NC-NSA	NC-NKP	NCIH-NEC	NCIH-NKP
8	SF T4	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NKP

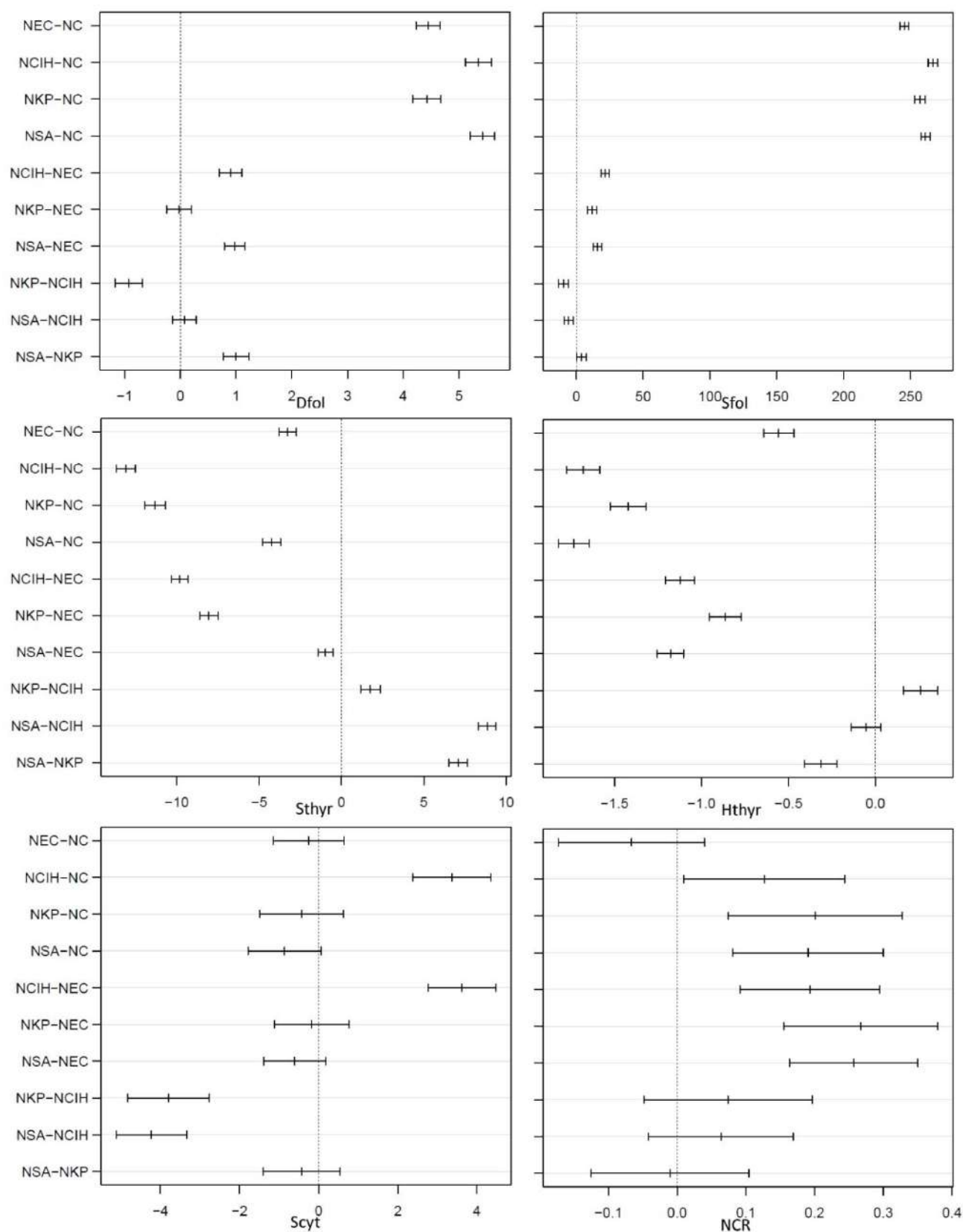


Рисунок 4.8 – Попарні порівняння груп новонароджених за методом Т'юкі HSD задля визначення істотності різниці середніх значень таких морфофункціональних параметрів, як Dfol, Sfol, Sthyr, Hthyr, Snuc та NCR

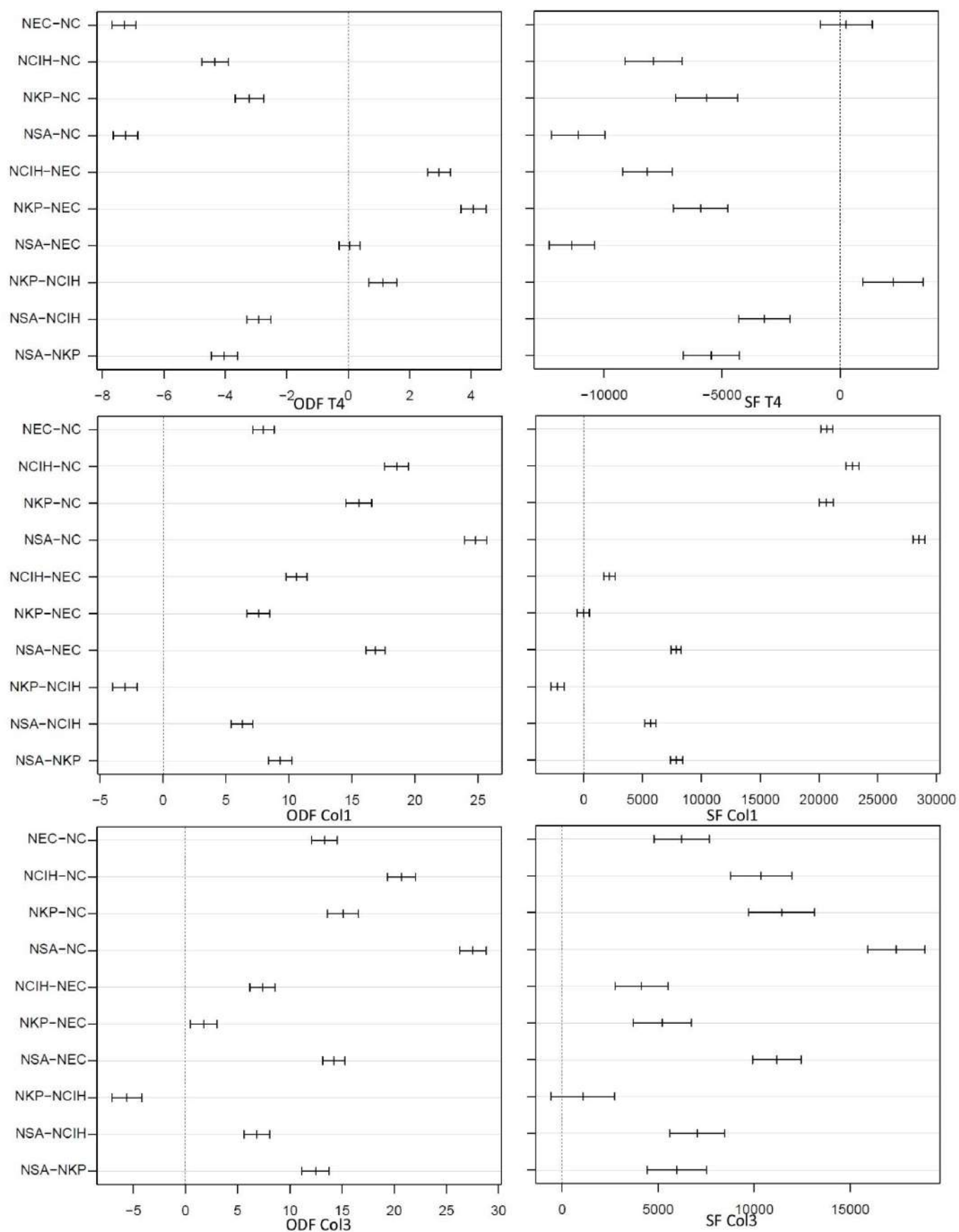


Рисунок 4.9 – Попарні порівняння груп новонароджених за методом Т'юкі HSD задля визначення істотності різниці середніх значень таких морфофункціональних параметрів, як ODF та SF для T4, Col1 та Col3

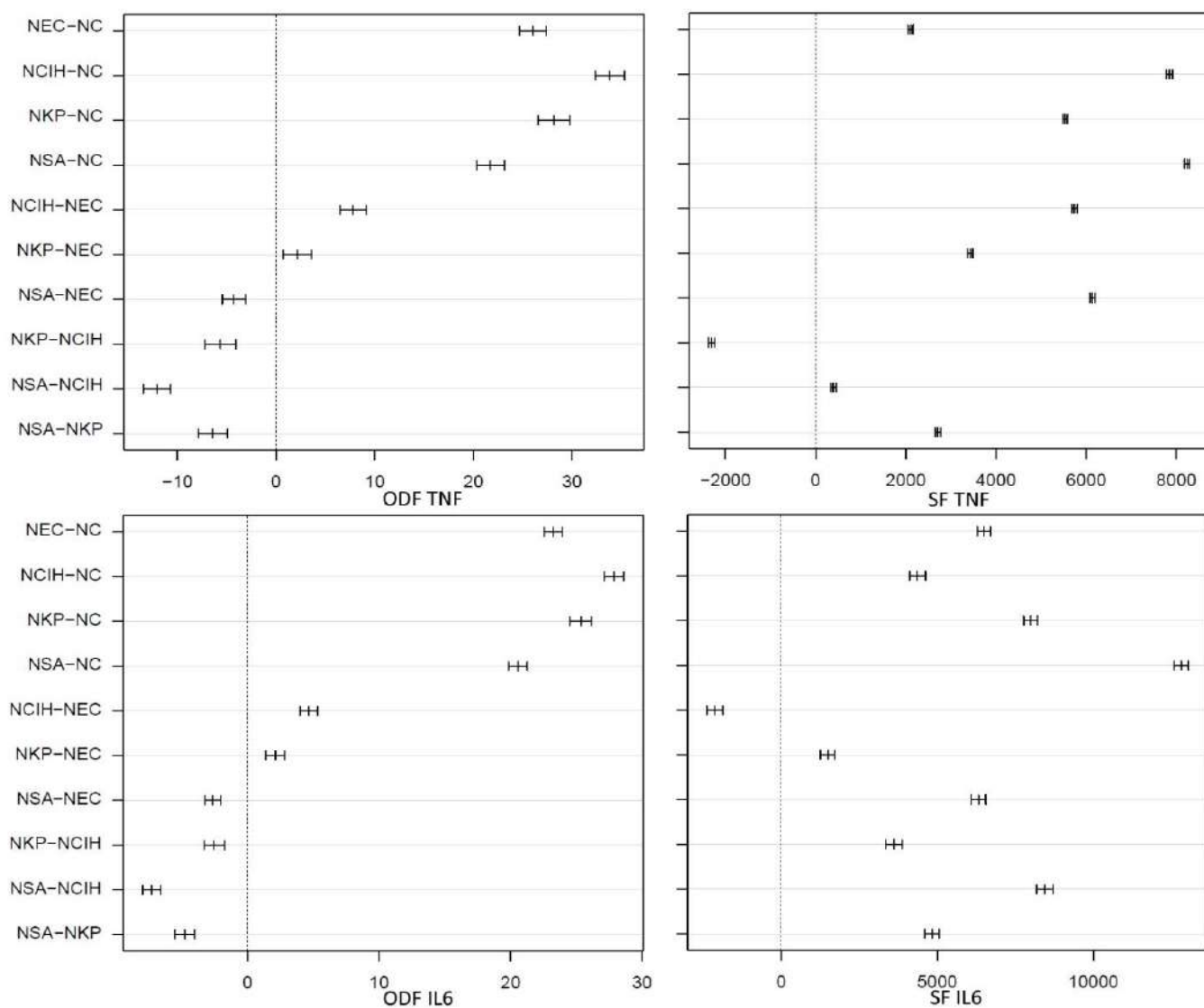


Рисунок 4.10 – Попарні порівняння груп новонароджених за методом Т'юкі HSD задля визначення істотності різниці середніх значень таких морфофункціональних параметрів, як ODF та SF для TNF і IL6

Продовження табл. 4.2

1	2	3	4	5	6
9	ODF Col1	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NSA	NCIH-NEC
10	SF Col1	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NKP
11	ODF Col3	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NKP
12	SF Col3	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NSA	NCIH-NKP
13	ODF TNF	NC-NKP	NC-NSA	NCIH-NSA	NCIH-NKP
14	SF TNF	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NEC	NCIH-NSA
15	ODF IL6	NC-NKP	NC-NSA	NCIH-NSA	NCIH-NKP
16	SF IL6	NC-NSA	NC-NEC	NCIH-NSA	NCIH-NEC

Таким чином, серед інфекцій, що досліджувалися, найвиразніший негативний ефект на морфофункціональний стан ЩЗ новонароджених мала стафілококова МПІ, що показала найбільшу статистичну значущість серед груп, що порівнювалися у 12 випадках з 16. Проміжне місце посіла *K. pneumoniae* з 4 випадками з 16. При цьому найменший негативний ефект, у контексті порівняння, реєстрували у колибацилярної МПІ (у 12 випадках мінімальної статистично значущої різниці з 16).

З порівняння морфофункціональних станів ЩЗ новонароджених, які розвивалися в умовах ХВГ та МПІ, слідувало те, що найбільша подібність до ХВГ відмічалася у групі, що експонувалася до клебсієльозної МПІ (9 випадків мінімальної статистично значущої різниці з 16), а проміжне місце посіла інфекція *S. aureus* (5 випадків з 16). Разом з тим, найбільша різниця між показниками реєструвалася як порівняти з групою нащадків з МПІ, що спричинена *E. coli* (9 випадків максимальної статистично значущої різниці з 16).

4.2. Диференційна статистично-морфологічна діагностика впливу материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків

В результаті застосування ANOVA та методу Т'юкі HSD, нами було встановлено статистично значущі морфофункціональні показники впливу МПІ та ХВГ на ЩЗ нащадків, які дозволили розробити комплекс морфологічних критеріїв діагностики субклінічної бактеріальної МПІ з використанням *порогової патологічної величини* (TPV, *threshold pathological value*), що характеризує кількісне граничне значення морфофункціонального параметра та визначає *патологічний тренд* (PT, *pathological trend*). При цьому TPV дає початкову точку для РТ, а значення РТ може бути або «↓», що означає «і менше» та описує динамічне зменшення параметра, або «↑», що означає «і

вище» та описує його динамічне збільшення (табл. 4.3). Постфікси f та n після TPV та PT вказують на фетальний та ранній постнатальний періоди відповідно.

Таблиця 4.3

Порогові значення та патологічні тренди морфофункціональних параметрів ЩЗ нащадків щурів, що можуть бути використані як критерії діагностики субклінічної бактеріальної МПІ

Коротка назва критерію	Повна назва	TPVf	PTf	TPVn	PTn	О.в.	p-value
1	2	3	4	5	6	7	8
Dfol	Діаметр фолікула	17,655 ±0,641	↑	29,603 ±0,097	↑	мкм	p<0,001
Sfol	Площа фолікула	445,012 ±2,313	↑	780,974 ±2,339	↑	мкм ²	p<0,001
Hthyr	Висота тироцита	10,353 ±0,077	↑	7,635 ±0,032	↓	мкм	p<0,001
Sthyr	Площа тироцита	56,506 ±0,332	↑	33,656 ±0,215	↓	мкм ²	p<0,001
Scyt	Площа цитоплазми	38,52 ±0,175	↑	23,635 ±0,13	↓	мкм ²	p<0,001
Snuc	Площа ядра	22,624 ±0,069	↑	- **	- **	мкм ²	p<0,001
NCR	Ядерно-цитоплазматичне відношення	0,651 ±0,091	↓	- **	- **	-	p<0,001
ODF T4	Оптична щільність флуоресценції тироксину	85,53 ±0,132	↑	82,66 ±0,213	↓	у.о.	p<0,001
SF T4	Площа флуоресценції тироцита	133376,7 ±709,907	↑	177068,857 ±680,971	↓	піксель	p<0,001
ODF Col1	Оптична щільність флуоресценції колагену I типу	51,915 ±0,234	↑	63,131 ±0,174	↑	у.о.	p<0,001
SF Col1	Площа флуоресценції колагену I типу	98137,75 ±61,192	↑	103026,429 ±112,602	↑	піксель	p<0,001
ODF Col3	Оптична щільність флуоресценції колагену III типу	-*	-*	61,268 ±0,115	↑	у.о.	p<0,001

Продовження табл.4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
SF Col3	Площа флуоресценції колагену III типу	_*	_*	53367,286 ±773,436	↑	піксель	p<0,001
ODF TNF	Оптична щільність флуоресценції фактору некрозу пухлини	_*	_*	57,264 ±0,084	↑	у.о.	p<0,001
SF TNF	Площа флуоресценції фактору некрозу пухлини	_*	_*	13540,385 ±2,618	↑	піксель	p<0,001
ODF IL6	Оптична щільність флуоресценції інтерлейкіна 6	_*	_*	60,239 ±0,293	↑	у.о.	p<0,001
SF IL6	Площа флуоресценції інтерлейкіна 6	_*	_*	12188,615 ±169,48	↑	піксель	p<0,001

* – показник не оцінюється через значення ODF<50, що відповідає слабкій реакції згідно дизайну дослідження; ** – показник не оцінюється через відсутність односпрямованого тренду

Висновки до розділу 4

Результати експериментального, патоморфологічного та статистичного досліджень дозволили встановити вплив субклінічних бактеріальних МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків, а саме – плодів та новонароджених щурів, а також ХВГ.

Згідно з цим, у плодів щурів при субклінічній бактеріальній МПІ відмічали вірогідне збільшення діаметра та площі фолікула, висоти та площі тироцита, площі цитоплазми та ядра на тлі зменшення ядерно-цитоплазматичного відношення, а також підвищення оптичної щільності та площі флуоресценції тироксину і колагену I типу.

Своєю чергою, у новонароджених реєстрували збільшення діаметра та площі фолікула, зменшення висоти тироцита, площі тироцита та площі цитоплазми. При цьому показники площі ядра та, відповідно, NCR не

демонстрували односпрямованого патологічного тренду. Проте відмічали зменшення оптичної щільності та площі флуоресценції тироксину на тлі підвищення цих показників для колагенів I та III типів, TNF та IL6.

Також було встановлено, що найнебезпечнішою інфекцією серед тих, що досліджувалися, як у плодів, так і у новонароджених, з точки зору інтенсивності морфологічних змін, є МПІ, що спричинена *S. aureus*.

Крім того, визначено, що субклінічні бактеріальні МПІ за своїми морфологічними проявами є подібними до ХВГ. Найвиразніша подібність при цьому реєструвалася у плодів за умов МПІ, що спричинена *S. aureus*, в той час, як у новонароджених – в умовах МПІ, що спричинена *K. pneumoniae*.

Отже, наявні специфічні морфологічні субстрати, що сформувалися у ЩЗ в результаті експериментального моделювання, обґрунтовують патологічну анатомію МПІ та ХВГ і можуть бути діагностовані через застосування ключових морфофункціональних критеріїв, встановлених у процесі експериментально-патоморфологічного дослідження. Для плодів – це Dfol, Sfol, Hthyr, Sthyr, Scyt, Snuc, NCR, ODF та SF для T4 і Coll; та для новонароджених – Dfol, Sfol, Hthyr, Sthyr, Scyt, ODF та SF для T4, Coll, Col3, TNF і IL6.

Список праць, опублікованих за темою розділу дисертації

1. Talapova PS, Sorokina IV, Markovsky VD, Sakal AO, Tovazhnyanska VD, Zveryeva IS. The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring. J Human Anat 2021, 5(1):1-7. doi:10.23880/jhua-16000156.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У теоретичній частині роботи, що викладена у розділі 1, нами був проаналізований сучасний стан проблеми МПІ, визначено, що відомо про їхній вплив на морфофункціональний стан органів і систем плода, та доведено значущість визначення патологічної анатомії цього впливу на ЩЗ нащадків.

Зі свого боку, прикладним аспектам пошуку відповіді на питання впливу МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ присвячено розділ 2. Він висвітлює дизайн дослідження, описує процеси формування груп та рандомізацію, доводить доцільність вибору об'єктів та методів дослідження, надає характеристику методикам, що використовувалися у роботі.

У розділі 3 та 4 ми виклали результати власних досліджень, згідно з якими можуть бути сформовані узагальнюючі таблиці з референсними значеннями для кожної змінної, що досліджувалася (табл. 5.1, 5.2).

Таблиця 5.1

Узагальнення результатів розгорнутої морфометрії ЩЗ плодів, що розвивалися в умовах субклінічних бактеріальних МПІ, ХВГ та фізіологічного онтогенезу

Група	Dfol, мкм	Sfol, мкм ²	Hthyr, мкм	Sthyr, мкм ²	Scyt, мкм ²	Snuc, мкм ²	NCR
1	2	3	4	5	6	7	8
FC	16,213 ±0,661	233,804 ±2,145	5,934 ±0,07	20,833 ±0,587	12,731 ±0,086	14,404 ±0,055	1,112 ±0,067
FEC	17,655 ±0,641	445,012 ±2,313	10,353 ±0,077	56,506 ±0,332	38,52 ±0,175	22,624 ±0,069	0,619 ±0,096
FSA	19,284 ±0,322	497,304 ±2,984	12,406 ±0,056	65,413 ±0,199	41,931 ±0,069	27,388 ±0,075	0,651 ±0,091
FKP	20,227 ±0,169	491,16 ±1,531	11,911 ±0,054	64,581 ±0,133	40,761 ±0,088	24,389 ±0,08	0,606 ±0,07
FCIH	19,208 ±0,177	453,75 ±2,197	11,492 ±0,061	56,643 ±0,129	35,262 ±0,049	21,672 ±0,071	0,663 ±0,095

Продовження табл. 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8
NC	25,157 ±0,112	437,931 ±2,127	8,191 ±0,027	36,923 ±0,098	26,684 ±0,11	10,296 ±0,095	0,486 ±0,058
NEC	29,603 ±0,097	780,974 ±2,339	7,635 ±0,032	33,656 ±0,215	23,635 ±0,13	10,042 ±0,083	0,419 ±0,073
NSA	30,579 ±0,127	794,574 ±1,495	6,487 ±0,093	23,557 ±0,235	20,479 ±0,094	14,219 ±0,091	0,603 ±0,084
NKP	29,636 ±0,097	806,447 ±2,27	6,76 ±0,07	25,634 ±0,166	15,906 ±0,175	9,847 ±0,059	0,686 ±0,06
NCIH	30,578 ±0,157	699,027 ±0,991	6,458 ±0,045	32,687 ±0,219	14,153 ±0,119	9,434 ±0,122	0,676 ±0,085

Таблиця 5.2

**Узагальнення результатів ІФД ЩЗ плодів, що розвивалися в умовах
субклінічних бактеріальних МПІ, ХВГ та фізіологічного онтогенезу**

Група	ODF T4, у.о.	SF T4, піксель	ODF Col1, у.о.	SF col1, піксель	ODF Col3, у.о.	SF col3, піксель	ODF TNF, у.о.	SF TNF, піксель	ODF IL6, у.о.	SF IL6, піксель
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
FC	79,82 ±0,199	129090,4 ±544,064	33,842 ±0,158	79113,5 ±65,43	31,522 ±0,188	38351,3 ±1040,482	31,474 ±0,157	4931,6 ±3,693	30,316 ±0,234	5408,4 ±217,299
FEC	80,652 ±0,217	133376,7 ±709,907	36,505 ±0,183	98338,5 ±105,002	38,246 ±0,336	40110 ±971,881	42,983 ±0,181	7037,1 ±2,773	37,7 ±0,190	11904,1 ±133,869
FSA	87,084 ±0,204	169088,62 ±791,535	51,915 ±0,234	98137,75 ±61,192	49,673 ±0,138	59094 ±1178,458	47,173 ±0,083	13172,5 ±3,808	43,096 ±0,148	18226 ±91,082
FKP	85,53 ±0,132	138246,77 ±747,181	40,17 ±0,266	97878,778 ±101,218	43,15 ±0,165	55147,667 ±883,949	43,96 ±0,222	10466,333 ±86,638	36,633 ±0,285	13393,667 ±159,397
FCIH	80,518 ±0,274	135149,83 ±807,714	54,925 ±0,35	106444,5 ±68,544	50,978 ±0,102	75413,167 ±1485,699	44,125 ±0,255	12774,167 ±3,891	35,345 ±0,179	9779,167 ±148,796
NC	85,911 ±0,274	182741,28 ±908,897	55,173 ±0,268	82397,857 ±57,202	47,94 ±0,176	43065 ±870,166	31,24 ±0,321	6357,143 ±5,303	37,016 ±0,155	5765,286 ±114,452

Продовження табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
NEC	78,619 ±0,269	183006,385 ±634,329	63,131 ±0,174	103042,077 ±78,17	61,268 ±0,115	49292,462 ±908,072	57,264 ±0,084	13540,385 ±2,618	60,239 ±0,293	12188,615 ±169,48
NSA	81,45 ±0,192	174536 ±554,963	74,23 ±0,2	105535,714 ±120,815	69,406 ±0,146	53367,286 ±773,436	65,917 ±0,223	28933,143 ±3,523	65,271 ±0,060	12797,429 ±155,002
NKP	82,66 ±0,213	177068,857 ±680,971	70,633 ±0,342	103026,429 ±112,602	63,059 ±0,145	54400,571 ±1288,753	59,379 ±0,158	20842,571 ±4,17	62,32 ±0,171	18674,286 ±141,054
NCIH	78,665 ±0,227	171635,182 ±723,888	80,0 ±0,114	110899,091 ±98,831	75,481 ±0,127	60476,182 ±1162,68	52,977 ±0,223	24389,909 ±3,147	57,578 ±0,201	12826,364 ±125,173

Таким чином, результати морфометрії та ІФД висвітлюють морфофункціональні стани ЩЗ нащадків щурів, які розвивалися в умовах субклінічних МПІ, що спричинені *E. coli*, *S. aureus* та *K. pneumoniae*, а також – ХВГ, у динаміці. Подальший статистичний аналіз отриманих даних встановлює найбільш значущі показники морфофункціонального стану ЩЗ нащадків та зіставляє їх із сучасними науковими положеннями.

Так, на думку деяких авторів, морфологічним відбитком функціональної активності клітини є саме *NCR*, тоді, коли інші морфометричні показники являються лише його похідними [284, 285, 286]. Тому могло б бути доречним вважати його базовим морфометричним параметром оцінки функціональної активності тиреоїдної паренхіми. Крім того, *NCR*, уперше описане як біологічний вимір у 1967 році ще *Гербертом Нібургсом*, попри час залишається досить розповсюдженим методом оцінки морфофункціонального стану клітини [287]. Заведено вважати, що чим більша метаболічна активність клітини, тим більше її ядро у відношенні до цитоплазми, адже саме в ядрі відбувається деконденсація активного хроматину – розгортання і розкручування щільно

упакованої молекули ДНК в хромосомах під час переходу з телофази до інтерфази, що передуює поділу клітини. Якщо це відношення дорівнює або більше ніж 1, це вказує на те, що у клітини велике ядро з малою за обсягом цитоплазмою, і вона має здатність активно проліферувати. І навпаки, якщо NCR менше ніж 1, то відповідно обсяг цитоплазми великий, а ядра – порівняно малий, що вказує на зниження мітотичної активності та посилення функціональної активності через збільшення кількості органел у цитоплазмі [288]. Також відомо, що в міру визрівання клітини, розмір її ядра зазвичай зменшується, що збігається з результатом порівняння даних, що реєструвалися у нащадків з груп негативного контролю, згідно з яким впродовж фізіологічного фетального періоду функція ядерно-цитоплазматичного апарату тироцитів спочатку посилюється у напрямку активних проліферації та диференціювання, після народження – знижується, перш за все, у зв'язку зі стресом народження [289, 290], та переакцентується на продукцію тиреоїдних гормонів на тлі фізіологічного дозрівання фолікулярного епітелію.

В ході аналізу даних, отриманих від груп ЩЗ плодів, що розвивалися на тлі бактеріальних МПІ та ХВГ, відмічали статистично значуще зменшення показника NCR порівняно з негативним контролем ($PT\downarrow$, $0,651\pm0,091$ проти $1,112\pm0,067$; $p<0,001$) разом з одночасним збільшенням середніх значень параметрів $Snuc$ ($PT\uparrow$, $22,624\pm0,069$ μm^2 проти $14,404\pm0,055$ μm^2 ; $p<0,001$) та $Scyt$ ($PT\uparrow$, $22,624\pm0,069$ μm^2 проти $12,731\pm0,086$ μm^2 ; $p<0,001$) при превалюванні останнього. Це збіглося з вищезазначеною концепцією про те, що у недистрофічній клітині обсяг цитоплазми прямо пропорційний кількості органел та її функціональній активності.

Однак, у паралель, існує точка зору, згідно з якою результати класичного розрахунку NCR не рекомендовано вважати достатньо показовими, адже клітини тривимірні, а відтак – двовимірні розрахунки здатні викривляти результати дослідження щодо визначення функціонального статусу будь-якого епітелію (рис. 5.1).

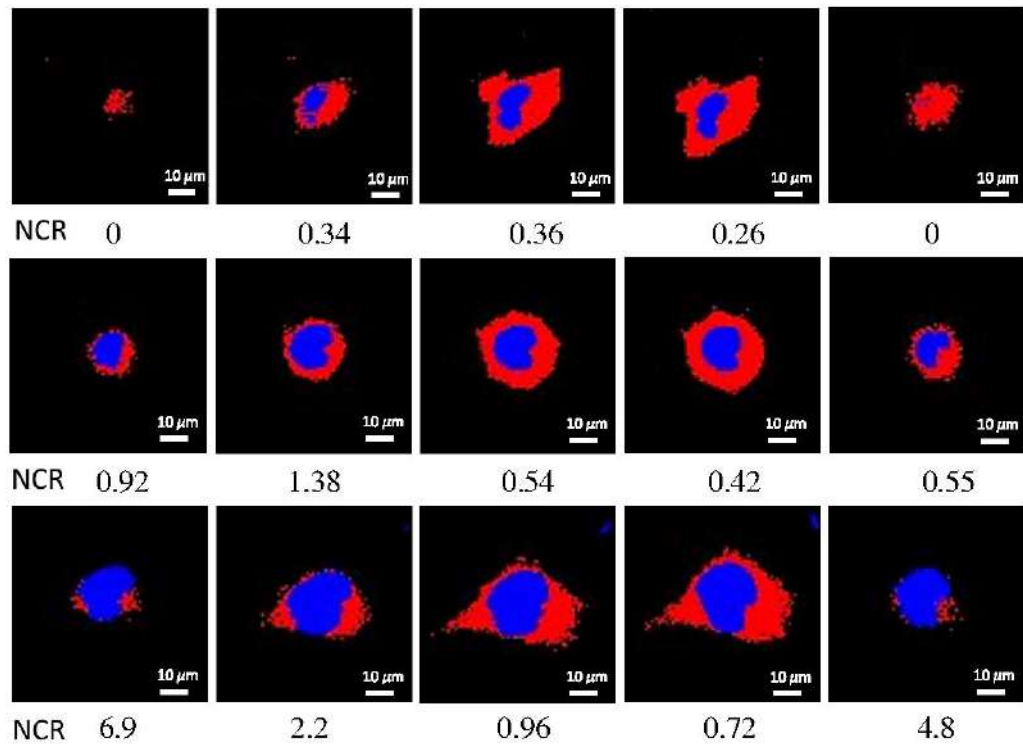


Рисунок 5.1 – Неоднозначність показників, що існує при точному визначенні співвідношення NCR у двовимірному просторі [291]

Ця позиція пояснює поведінку NCR, а також Scyt та Snuc у ЩЗ новонароджених в умовах експериментально змодельованої патології. Порівняно з негативним контролем зміни показників, що характеризують стан ядерно-цитоплазматичного апарату, були статистично значущими, проте різноспрямованими. Наприклад, у групах NSA, NKP та NCІН середні значення NCR були вищими за ті, що реєстрували у групі з негативним контролем, тоді, як група NEC продемонструвала зниження цього показника. Крім того, для NCR була відсутньою можливість встановити єдиний патологічний тренд у віковій динаміці (рис. 5.2).

Таким чином, враховуючи суперечливі наукові свідчення щодо підрахунку та інтерпретації вищезазначеного показника, а також згідно з результатами графічного аналізу отриманих даних, що засвідчили мінливість показника NCR у нащадків за різних бактеріальних МПІ, ми пропонуємо вважати його необов'язковим у переліку ключових параметрів морфофункціонального статусу ЩЗ нащадків.

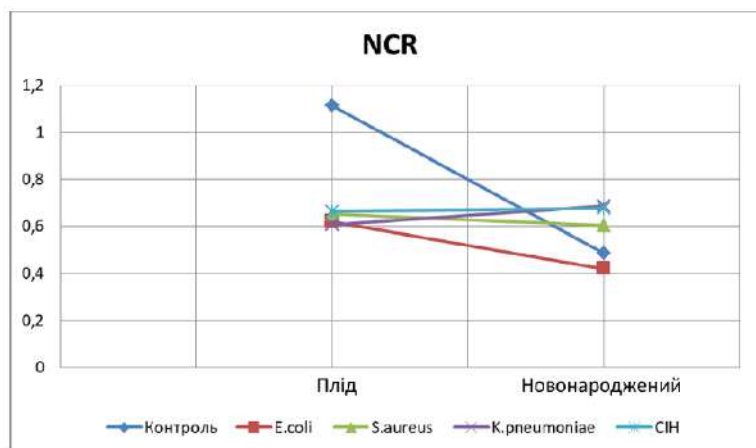


Рисунок 5.2 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показником ядерно-цитоплазматичного відношення

Вивчення показників площ ядра та цитоплазми тироцитів продемонструвало, що у плодів з МПІ та ХВГ, порівняно з негативним контролем, ці показники вірогідно вищі (*Snuc*: $PT\uparrow$, $TPV - 22,624 \pm 0,069$ проти $14,404 \pm 0,055$; $p < 0,001$ || *Scyt*: $PT\uparrow$ $TPV - 38,52 \pm 0,175$ проти $12,731 \pm 0,086$; $p < 0,001$). Як вже було викладено раніше, подібні зміни розміру ядра зазвичай свідчать на користь посилення проліферативної активності зростаючих тироцитів [292]. Однак у віковій динаміці ці показники зазнали синхронного зменшення для груп з бактеріальними МПІ та ХВГ (рис. 5.3, 5.4), але патологічний тренд визначали лише для *Scyt* ($PT\downarrow$, $TPV - 23,635 \pm 0,13$ проти $26,684 \pm 0,11$).

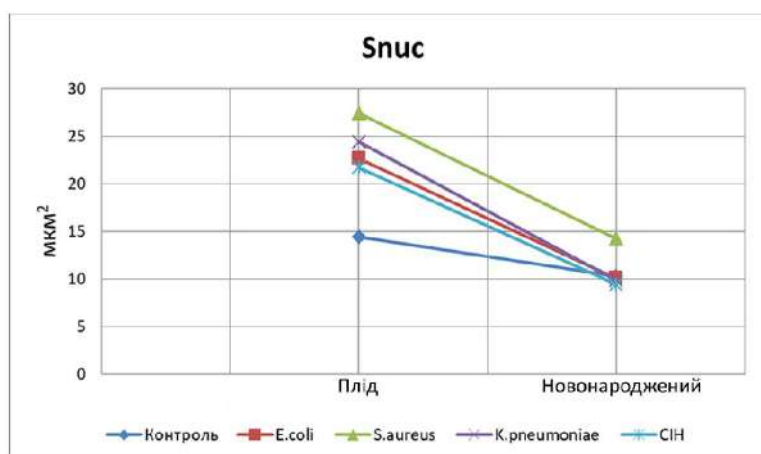


Рисунок 5.3 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показником площі ядра тироцита

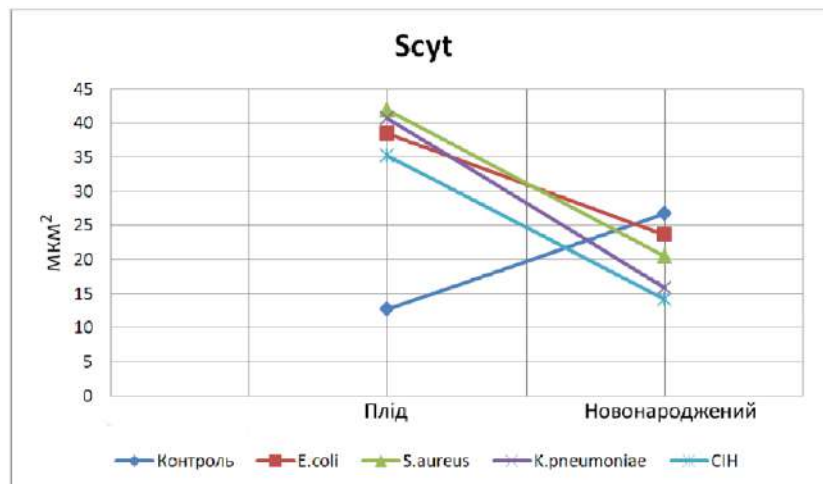


Рисунок 5.4 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показником площі цитоплазми тироцита

Вивчення параметра *площі тироцита* дозволило встановити, що у всіх групах ЩЗ плодів, які розвивалися в умовах МПІ та ХВГ, цей показник зазнав суттєвого підвищення ($PT\uparrow$, $TPV - 56,506 \pm 0,332$ проти $20,833 \pm 0,587$; $p < 0,001$). Така тенденція, на нашу думку, була відбиттям прискореного диференціювання тироцитів, а також підвищення їхньої синтетичної активності в умовах впливу бактеріальних МПІ. У групах ЩЗ новонароджених, навпроти, реєстрували зменшення середнього значення площі тироцита (рис. 5.5), що також вказує на пригнічення синтетичної активності органа у цій віковій категорії.

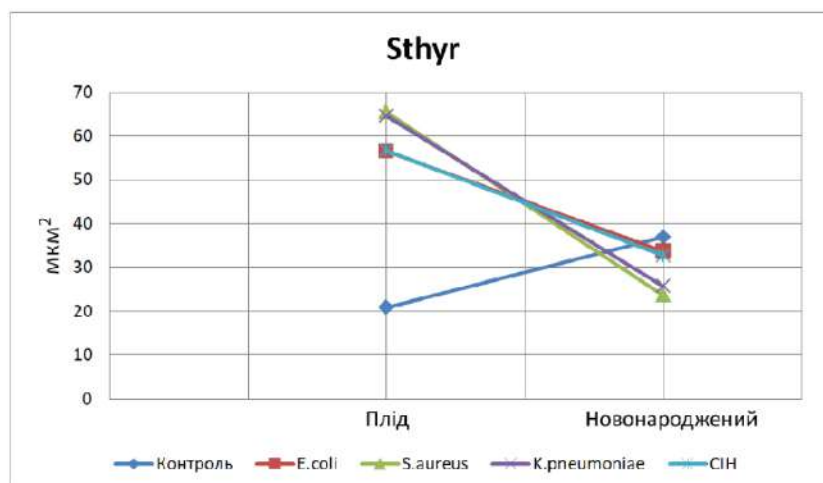


Рисунок 5.5 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показником площі тироцита

Далі заслуговує уваги той факт, що серед усіх груп ЩЗ плодів з МПІ та ХВГ реєструвалася односпрямована зміна показника *діаметра фолікула* в

сторону вираженого збільшення. При цьому в літературі існують свідчення того, що після народження ця морфологічна метаморфоза є відбиттям зниження синтетичної активності залози [227].

Однак впродовж фетального періоду збільшення діаметра фолікула може розглядатися як маркер прискорення темпів його внутрішньоутробного дозрівання, через те що показник *висоти тироїту* у плодів з МПІ, який був значно більшим за негативний контроль, вказував на підвищення гормон-продукуючої функції залози. У ЦЗ новонароджених дані параметри продемонстрували протилежну динаміку змін (рис. 5.6, 5.7).

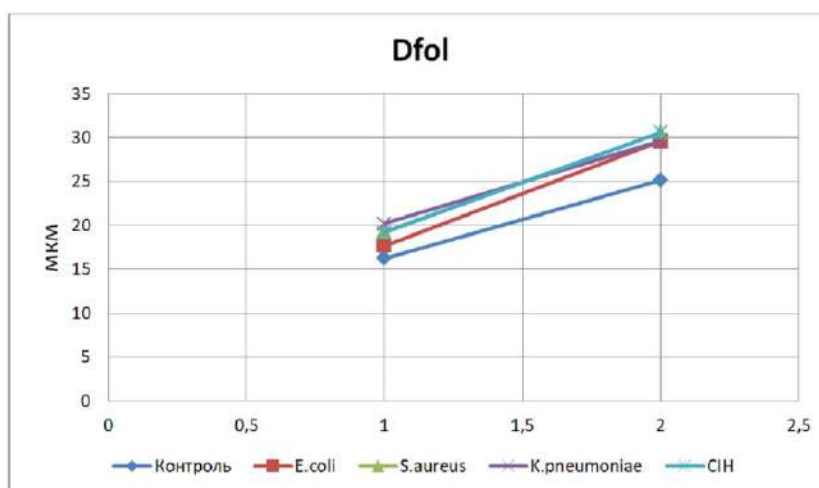


Рисунок 5.6 – Динаміка РТ у ЦЗ нащадків щурів за показником діаметра фолікула

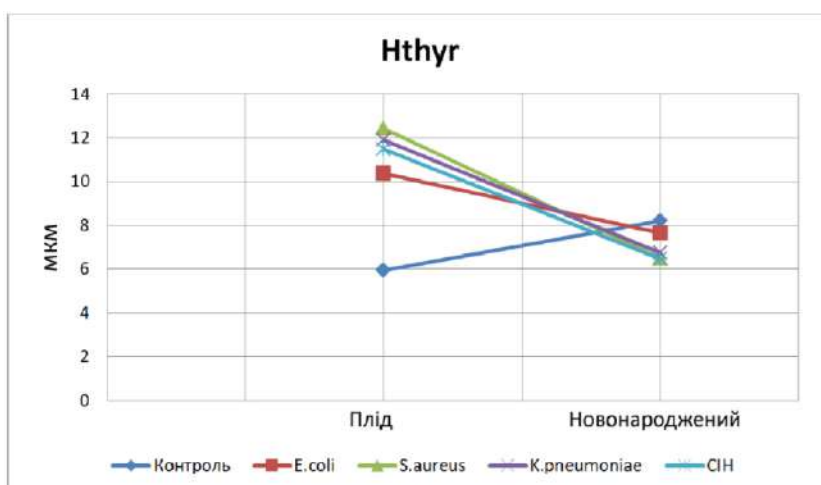


Рисунок 5.7 – Динаміка РТ у ЦЗ нащадків щурів за показником висоти тироїта

Аналіз секреторної активності ЩЗ у плодів, які розвивалися в умовах бактеріальних МПІ та ХВГ, у вигляді аналізу оптичної щільності у тироцитах та колоїді та площі імунофлуоресценції Т4 показав помірне підвищення цих показників (*ODF T4: PT↑, TPV – $85,530 \pm 0,132$ проти $79,820 \pm 0,199$; $p < 0,001$ || SF T4: PT↑, TPV – $133376,700 \pm 709,907$ проти $129090,4 \pm 544,064$; $p < 0,001$*). Проте у ЩЗ новонароджених, що розвивалися в аналогічних умовах, реєстрували помірне зменшення показників ODF T4 (рис. 5.8) (*PT↓, TPV – $82,660 \pm 0,213$ проти $85,911 \pm 0,274$; $p < 0,001$*) на тлі відсутності односпрямованого патологічного тренду для показника SF T4, що вказувало на те, що синтетична функція дещо пригнічена, оскільки відомо, що концентрація гормонів ЩЗ у крові регулюється гомеостатичним циклом зворотного зв'язку із залученням гіпоталамо-гіпофізарної осі [293, 294].

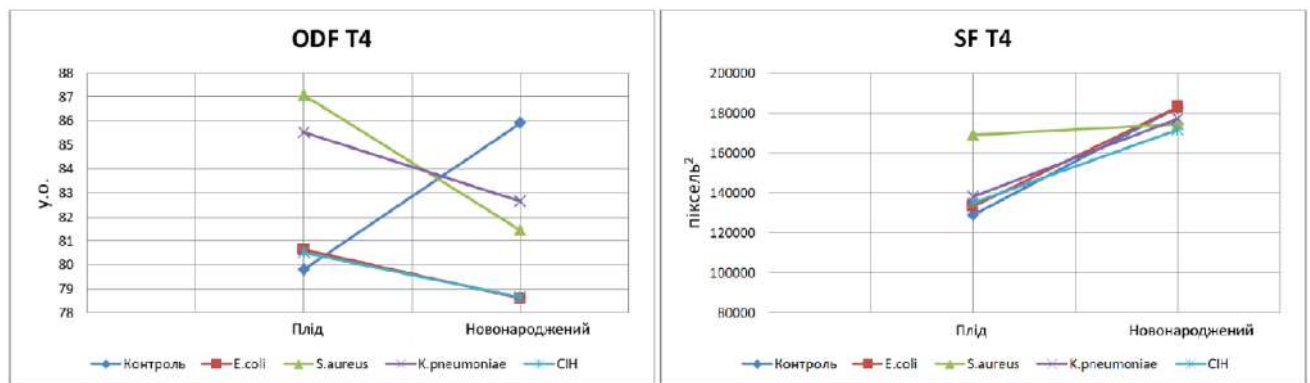


Рисунок 5.8 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показниками оптичної щільності та площі флуоресценції тироксину

У цьому циклі нейрони гіпоталамуса продукують ТРГ, який стимулює тиреотрофи гіпофіза до секреції ТТГ. Затим ТТГ стимулює зростання фолікулярних клітин, що за певних умов може призводити до збільшення залози, та стимулює фолікулярні тироцити до вивільнення Т4 або Т3.

Цікаво, що підвищення рівня тиреоїдних гормонів призводить до зменшення реактивності тиреотрофів до ТРГ, проте швидкість секреції останнього гіпоталамусом залишається незмінною. Це пояснюється тим, що чутливість тиреотрофів до тиреореліну залежить від внутрішньоклітинної концентрації Т3, 80% якого продукується через внутрішньогіпофізарне

перетворення Т4 в Т3 [295, 296]. Тому, коли концентрація Т4 у крові низька, відбувається збільшення кількості рецепторів ТРГ, що посилює реактивність ТТГ до ТРГ, та, як наслідок, підвищує продукцію ТТГ.

Таким чином, Т4 розглядається як прогормон для Т3, що на тканинному рівні перетворюється дейодиназами на свою активнішу форму. Цей процес опосередковується зв'язуванням гормонів ЩЗ з однойменними ядерними рецепторами, – факторами транскрипції, – $TR\alpha 1$ і $TR\beta 1$, які експресуються в різних тканинах організму. Вважається, що $TR\alpha 1$ більш чутливий до Т4 і є найрозповсюдженішою ізоформою рецепторів гормонів ЩЗ в мозку, а перетворення Т4 в Т3 дейодиназою-2 у астроцитах вважається критично важливим для синтезу локального Т3 для нейронів [297, 298]. Виходячи з вищезазначеного, інтенсифікація реакції імунофлуоресценції у препаратах, оброблених МоАт до Т4 у ЩЗ плодів, що розвивалися в умовах субклінічних бактеріальних МПП, на молекулярному рівні свідчить про активацію адаптивно-компенсаторних механізмів; водночас помірне зменшення інтенсивності люмінесценції Т4 порівняно з групою негативного контролю вказує на їхнє виснаження, що посилюється на тлі стресу від народження [299].

Проте причини такої морфофункціональної реакції не є однозначними. З одного боку, активація тиреоїдної паренхіми може реалізовуватися гуморальним імунітетом матері у відповідь на інфекцію, а з іншого – може бути результатом впливу материнських тиреоїдних гормонів, що, як відомо, беруть активну участь у формуванні ЩЗ плода до третього триместру вагітності, коли гіпофіз дитини починає самостійно синтезувати ТТГ [223, 300].

На користь останнього чинника свідчить також те, що в умовах інфекційної патології у крові господаря, а в нашому випадку – матері, відзначається зниження рівня Т3, що, своєю чергою, ініціює проліферацію таргетних до тиреоїдних гормонів клітин, в тому числі – фолікулярного епітелію ЩЗ плода [301, 302].

В результаті, відбувається посилення гіперпластичних процесів у паренхімі, що, згідно з результатами дослідження, прискорює органогенез ЩЗ у фетальному періоді.

Паралельно, ІФД інтерстиційних колагенів підтвердило помірне посилення ODF та SF колагену I типу у стромі ЩЗ плодів, які розвивалися за умов МПІ та, особливо, ХВГ. Проте у групах FEC та FKP показники стану проліферативної активності стромы не досягли необхідного порогового рівня 50 у.о. за цим параметром, тому патологічний тренд будували на основі показників, що реєструвалися у групі з інфекцією *S. aureus* (*ODF Col11*: $PT\uparrow$, $TPV - 51,915 \pm 0,234$ проти $33,842 \pm 0,158$; $p < 0,001$ || *SF Col1*: $PT\uparrow$, $TPV - 98137,75 \pm 61,192$ проти $79113,5 \pm 65,43$). Вивчення обсягу колагену I типу у ЩЗ новонароджених з МПІ та ХВГ явило синхронне статистично значуще збільшення як ODF, так і SF (рис. 5.9), що також свідчить про прискорення інтенсифікації визрівання стромального компонента ЩЗ.

Під час дослідження синтезу колагену III типу у ЩЗ нащадків з ХВГ та МПІ, було виявлено односпрямоване посилення цього процесу у вигляді збільшення показників ODF та SF Col3 як у плодів (при низькій інтенсивності світіння), так і у новонароджених ($PT\uparrow$, $61,268 \pm 0,115$ у.о. проти $47,940 \pm 0,176$; $p < 0,001$) (рис. 5. 10).

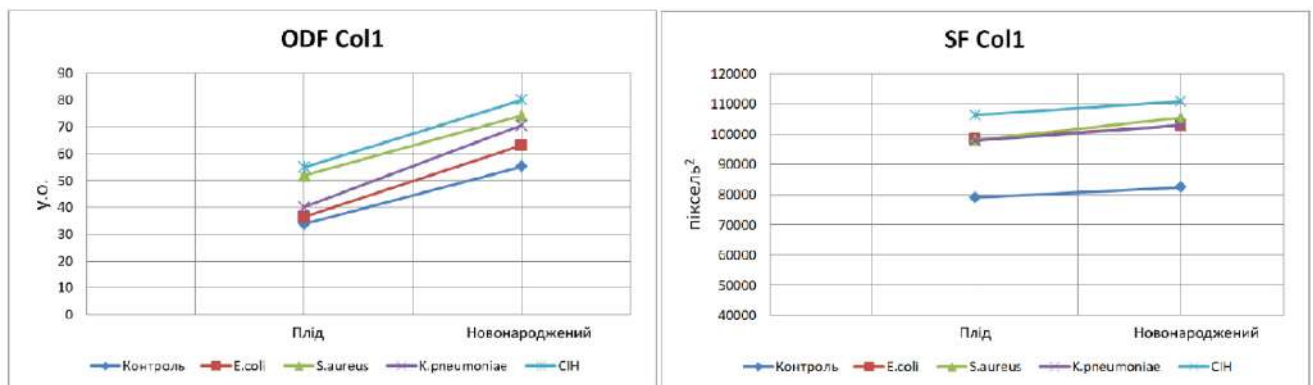


Рисунок 5.9 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показниками оптичної щільності та площі флуоресценції колагену I типу

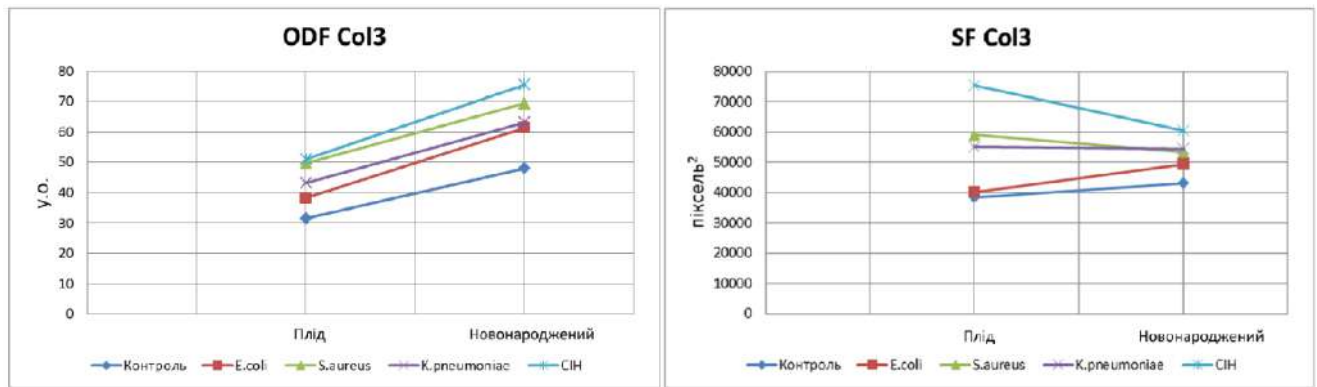


Рисунок 5.10 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показниками оптичної щільності та площі флуоресценції колагену III типу

З порівняння результатів за групами, було встановлено, що середні значення оптичної щільності та площі імунофлуоресценції Col1 та Col3 найвищі у ЩЗ груп плодів з ХВГ та МПІ, що спричинена *S. aureus*. Проте у групах FC, FKP та FEC показники оптичної щільності та площі люмінесценції Col3 типу переважали над тими, що реєструвалися для Col1. Наразі відомо, що це збігається з сучасними уявленнями про те, що в організмі спочатку розвивається колаген III типу, а згодом визріває колаген I типу [303].

Однак у групі FSA показники флуоресценції колагену I типу виявилися вищими за ті, що реєструвалися для колагену III типу, при цьому у групі NSA відмічали зменшення площі імунофлуоресценції даного показника. Ймовірно, це спостереження, як і вищезазначені зміни в архітектоніці фолікулярного апарату органа, свідчить про інтенсифікацію процесів дозрівання ЩЗ плодів, які розвивалися під впливом найагресивнішої з МПІ.

Важливе місце у морфогенезі впливу МПІ на ЩЗ нащадків займають TLR рецептори розпізнавання збережених образів, що експресуються моноцитами, дендритними клітинами, В-клітинами та макрофагами, та модуляції місцевої вродженої імунної системи. Так TLR розпізнають збережені молекули бактерій, грибів та вірусів, що мають назву патоген-асоційованих молекулярних патернів (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) [304]. Вони діють як ліганди для реалізації специфічних TLR-індукованих шляхів передачі сигналу, що призводить до активації вродженої імунної відповіді та вивільнення ряду

медіаторів запалення, серед яких IL6 та TNF, що вивчалися через ІФД у цьому дисертаційному дослідженні.

Так, у групах ЩЗ плодів, які розвивалися в умовах МПІ та ХВГ, було зареєстровано незначне посилення експресії генів, що відповідають за синтез молекул IL6 та TNF, у вигляді слабкого світіння. Проте у новонароджених відмічали односпрямоване вірогідне збільшення показників оптичної щільності та площі флуоресценції вищезазначених показників (*ODF IL6: PT*↑, $60,239 \pm 0,293$ проти $37,016 \pm 0,155$ у.о.; $p < 0,001$ || *SF IL6: PT*↑, $12188,615 \pm 169,480$ проти $5765,286 \pm 114,452$ пікселів; $p < 0,001$; *ODF TNF: PT*↑, $57,264 \pm 0,084$ проти $31,240 \pm 0,321$ у.о.; $p < 0,001$ || *SF TNF: PT*↑, $13540,385 \pm 2,618$ проти $6357,143 \pm 5,303$ пікселів; $p < 0,001$)(рис. 5.11, 5.12). При цьому відомо, що IL6 являє собою молекулу білка, яка кодується та експресується однойменним геном у ядерному апараті моноцитів, макрофагів, дендритних клітин, фібробластів, та Т-хелперів 2.

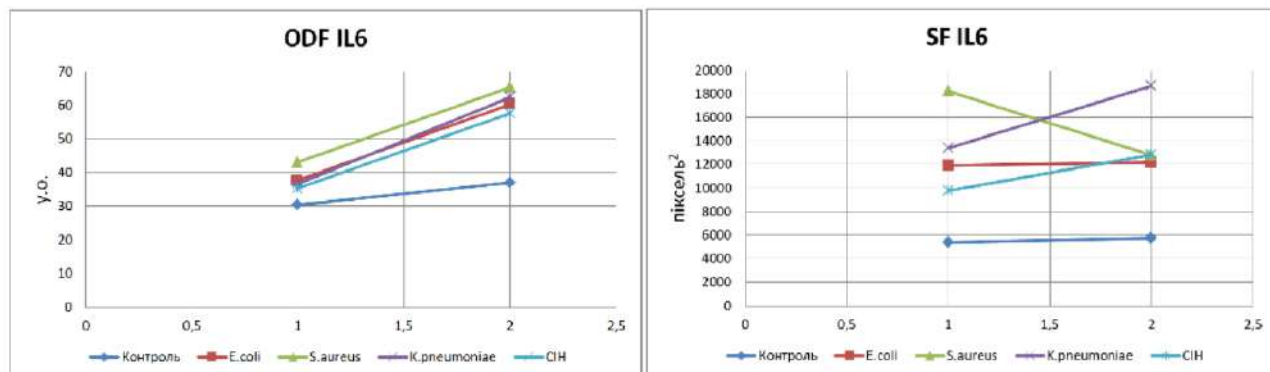


Рисунок 5.11 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показником оптичної щільності флуоресценції інтерлейкіна-6

За своєю функціональною природою IL6 є клітинною сигнальною молекулою – прозапальним цитокіном, який бере участь у процесах імуномодуляції, циркулює у пікомолярних концентраціях та може збільшувати свій обсяг до 1000 разів під час травми або інфекції [305]. Цікавим є те, що практично всі ядерні клітини, а особливо епітеліоцити та резидентні макрофаги, є потужними продуцентами IL6 та TNF [306].

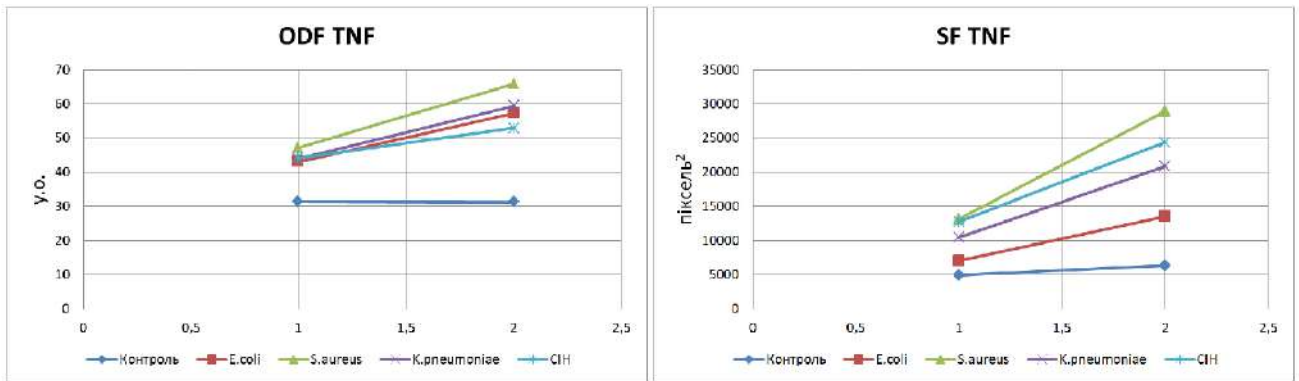


Рисунок 5.12 – Динаміка РТ у ЩЗ нащадків щурів за показником оптичної щільності флуоресценції фактору некрозу пухлини

Щодо останнього, TNF є цитокіном, що продукується активованими макрофагами, натуральними кілерами та CD4-позитивними клітинами, і водночас являється головним зовнішнім медіатором апоптозу. В організмі людини розрізняють два види рецепторів до TNF (TNFR): TNFR1 і TNFR2. Зв'язування TNF з TNFR1 ініціює шлях, який відбувається або через проміжні мембранні білки домену смерті, асоційовані з TNFR1 (TRADD) або з Fas (FADD). Це веде до активації каспази, або цистеїн-залежної аспартат специфічної протеази, що розщеплює білки. Передача сигналів TNF через зв'язування з TRAF2 навпаки пригнічує активацію каспази та має антиапоптотичний ефект [307]. З цією інформацією збігається факт посилення оптичної щільності флуоресценції IL6 та TNF у ЩЗ плодів, що розвивалися в умовах бактеріальних МПІ, оскільки він відповідає інтенсифікації процесів апоптозу і некроптозу, які можуть відбуватися на тлі окислювального стресу, що зазвичай супроводжує бактеріальні інфекції та запальні процеси [308, 309, 310]. Таким чином, пролонгований цитокіновий вплив формує у тканинах потенціал для розвитку імунного запалення в майбутньому.

Подібність патологічних змін за умов ХВГ та МПІ може пояснюватися загальною ланкою морфогенезу на молекулярному рівні. Так результати дослідження *Кухтенко ОВ* щодо визначення експресії каспази-3 компонентами гематоенцефалічного бар'єру при перинатальному

гіпоксичному ушкодженні довели, що в умовах ХВГ рівень експресії зазначеної речовини як гліюцитами, так і нейронами значно підвищується [311]. Це свідчить про те, що ХВГ, як і МПІ, запускає сигнальні шляхи, опосередковані дією цитокінів, як-от IL6 та TNF, які, своєю чергою, активують апоптичні та некроптинні каскади через взаємодію з білками домену смерті та каспазами.

Дослідження ЩЗ нащадків щурів, що розвивалися за умов ХВГ, в динаміці переходу фетального періоду в неонатальний продемонструвало послаблення функціональної активності органа та засвідчило морфологічні зміни у його мікроархітектоніці на кшталт завчасного розправлення та кістозного розширення фолікулів, що підтвердилося статистично значущою різницею для показників Dfol та Sfol ($p < 0,001$) з групою негативного контролю, сплюсненням тиреоїдного епітелію, яке відбилося у зменшенні показників Nthyr та Sthyr ($p < 0,001$) та посиленням визрівання органа, обґрунтованим підвищенням ODF та SF для Col1 ($p < 0,001$). Крім того, реєстрували вірогідне помірно зниження синтетичної активності залози у вигляді зменшення інтенсивності люмінесценції T4 на тлі збільшення абсолютної площі світіння, що відповідає компенсації патологічного впливу.

Отже, сформована під час дослідження парадигма демонструє, як бактеріальна МПІ з субклінічним перебігом, аналогічно до ХВГ, здатна виснажувати адаптивно-компенсаторні механізми ЩЗ плода через індукцію проліферативної активності клітин ЩЗ у відповідь на тривалу антигенну стимуляцію та зміну рівня тиреоїдних гормонів в організмі матері через підгострий інфекційно-запальний процес у системі мати – плацента – плід. Крім того, довготривалий вплив шкідливого фактору на тканини ЩЗ плода може призвести до виснаження вродженого місцевого імунітету органа. Через це не можна виключити, що в період постнатального органогенезу у залозі через подібні морфофункціональні зміни можливий розвиток як автоімунних захворювань, таких як хвороба Грейвса та автоімунний тиреоїдит, а також пухлинних процесів [312]. Ба більше, дані літератури свідчать про те, що

пошкодження клітинного компартмента ЩЗ завжди зумовлює зміни у функціонуванні генів, що відповідають за адекватну роботу органа, до таких належать фосфодіестераза 8B (PDE8B), йодтироніндейодиназа 1 (DIO1) та бета-субодиниці білка, що зв'язує F-актин (CAPZB) [313].

Згідно з вищезазначеним, нульова гіпотеза про відсутність морфофункціональних змін у ЩЗ нащадків щурів у нормі та за умов МПІ та/або ХВГ у віковій динаміці може бути відкинута.

Таким чином, визначено, що у ЩЗ плодів щурів, які розвивалися в умовах субклінічних бактеріальних МПІ, а також ХВГ, реєструвалися зміни, котрі, по-перше, відповідали підвищенню секреторної активності залози, на що вказували зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу, збільшення висоти та площі тироцита, посилення інтенсивності та збільшення площі флуоресценції Т4 у препаратах, оброблених відповідними МоАт. По-друге, відмічалися дані, що свідчили на користь прискорення темпів визрівання залози, а саме – збільшення діаметра фолікула та посилення інтенсивності флуоресценції колагену І типу у препаратах, оброблених відповідними МоАт.

Встановлено, що у ЩЗ новонароджених, які розвивалися в умовах субклінічних бактеріальних МПІ та ХВГ, також відмічалася подібність морфофункціональних змін, а саме – помірне зменшення функціональної напруги органа у вигляді зменшення середніх значень висоти та площі тироцита, а також зниження оптичної щільності флуоресценції тироксину. Паралельно, продовжувався та посилювався процес передчасного дозрівання залози, що відбилося збільшенням діаметра фолікула та оптичної щільності колагену як ІІІ, так і І типу порівняно з групою негативного контролю. Крім того, реєструвалися прямі ознаки клітинного пошкодження через підвищення рівня експресії TNF та IL6.

Визначено, що найнебезпечнішою інфекцією серед тих, що досліджувалися, з огляду на інтенсивність морфологічних змін, для органогенезу ЩЗ нащадків є МПІ, що спричинена *S. aureus*.

Доведено, що бактеріальні МПІ з субклінічним перебігом за своїми морфологічними проявами є подібними до ХВГ. Найвиразніша подібність реєструвалася у плодів з МПІ, що спричинена *S. aureus*, в той час, як у новонароджених – з МПІ, що спричинена *K. pneumoniae*.

Наявні специфічні морфологічні субстрати, що були сформовані і засвідчені у ЩЗ, обґрунтовують шкідливий вплив МПІ та ХВГ на морфофункціональний стан цього органа і можуть бути діагностовані через оцінку ключових морфофункціональних критеріїв, встановлених у спосіб експериментально-патоморфологічного дослідження, а саме: для плодів – Dfol, Sfol, Hthyr, Sthyr, Scyt, Snuc, NCR, ODF та SF для T4 і Col1; та для новонароджених – Dfol, Sfol, Hthyr, Sthyr, ODF та SF для T4, Col1, Col3, TNF і IL6 [314, 315].

Отримані результати надають підставу для теоретичного обґрунтування впливу МПІ на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків. А на основі даних, що були отримані в ході проведеного експериментально-патоморфологічного дослідження, було розроблено комплексні критерії патоморфологічної діагностики впливу бактеріальної МПІ з субклінічним перебігом на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків [316].

Виконане експериментально-патоморфологічне дослідження дозволило сформулювати концепцію *шкідливого впливу* бактеріальної МПІ із субклінічним перебігом на морфофункціональний стан ЩЗ плода та новонародженого, а відтак і на її органогенез (рис. 5.13).

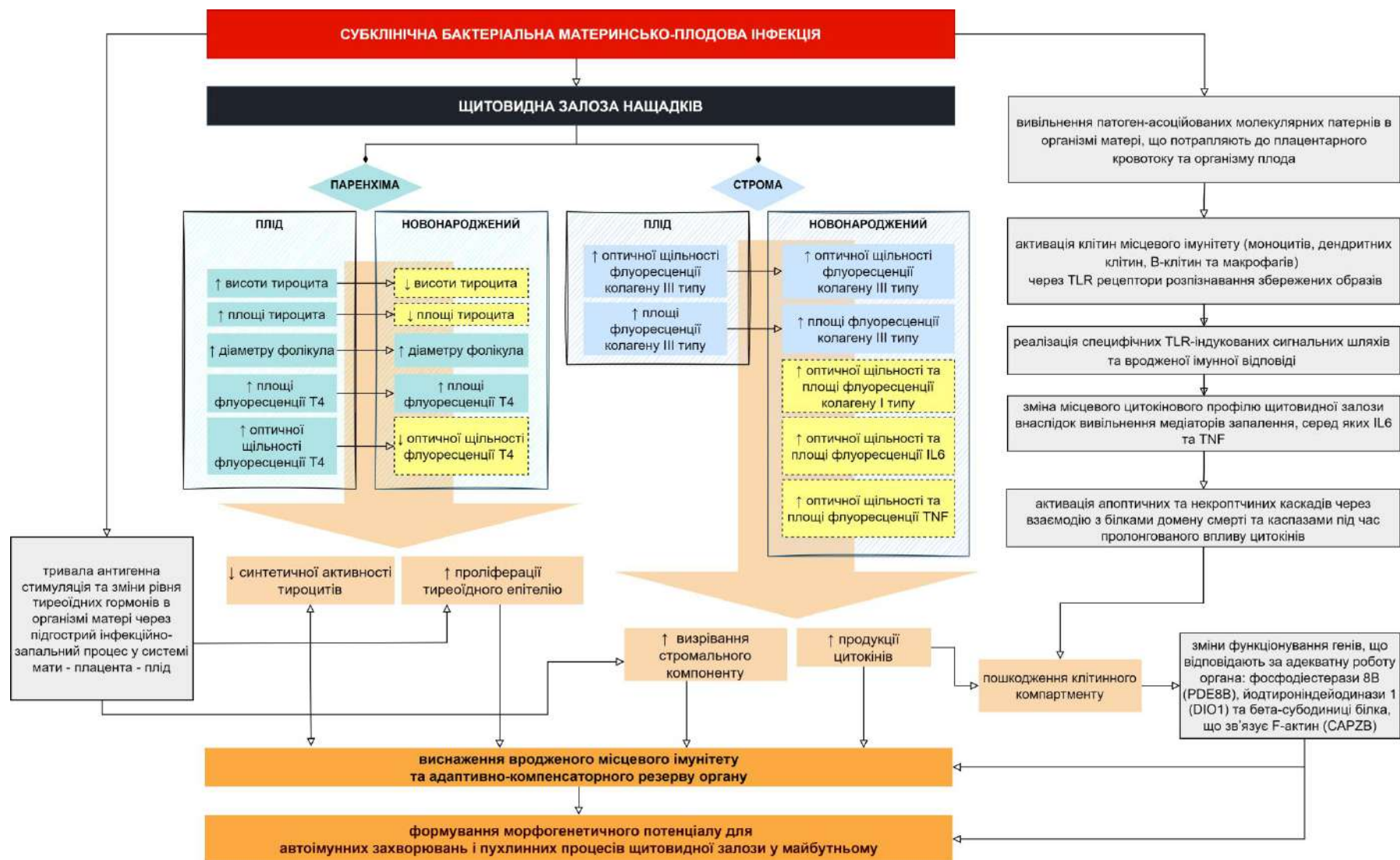


Рисунок 5.13 – Концепція шкідливого впливу бактеріальної МПП із субклінічним перебігом на морфофункціональний стан ЩЗ нащадків

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі надане теоретичне обґрунтування та представлене практичне розв'язання наукового завдання, а саме – удосконалення морфологічної діагностики бактеріальної материнсько-плодової інфекції із субклінічним перебігом через визначення впливу експериментального інфекційно-запального процесу в системі мати – плацента – плід, що спричинений окремо *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків на основі експериментально-патоморфологічного дослідження з блоковою рандомізацією.

1. В експерименті, *in vivo*, згідно з відомими методиками, змодельовано материнсько-плодові інфекції, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, з субклінічним перебігом, а також хронічну внутрішньоутробну гіпоксію, для дослідження морфофункціональних особливостей щитовидної залози у цифровому середовищі, зіставлення отриманих результатів, виявлення закономірностей місцевого пато- і морфогенезу дослідної патології та розробки діагностичного методу на основі доказових знань.

2. Встановлено та порівняно морфофункціональні стани щитовидної залози плодів та новонароджених при хронічній внутрішньоутробній гіпоксії. Визначено, що в динаміці відбувається пригнічення функціональної активності органа та засвідчено зміни у його мікроархітектоніці на кшталт кістозного розширення фолікулів, яке підтвердилося статистично значущою різницею між показниками D_{fol} та S_{fol} ($p < 0,001$) у плодів та новонароджених, сплюсненням тиреоїдного епітелію, яке відбилося у зменшенні показників H_{thy} та S_{thy} ($p < 0,001$), та посиленого визрівання стромы, що обґрунтовано підвищенням ODF та SF для $Col1$ ($p < 0,001$). Зареєстровано помірне зниження синтетичної активності залози у новонароджених, порівнюючи з плодами, що морфологічно

відбилося збільшенням абсолютної площі флуоресценції T4 ($p < 0,001$) у новонароджених.

3. Визначено та порівняно морфофункціональні стани щитовидної залози плодів та новонароджених, які розвивалися за умов материнсько-плодових інфекцій, що спричинені окремо *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus aureus*. Так, у віковій динаміці встановлено односпрямованість морфологічних та функціональних змін, що характеризуються помірним зменшенням функціональної напруги органа у новонароджених порівняно з плодами, а саме – зменшенням середніх значень висоти та площі тироцита ($p < 0,001$) та зниженням оптичної щільності флуоресценції тироксину ($p < 0,001$), а також прискоренням визрівання залози, що відбилося статистично значущим збільшенням діаметра фолікула та збільшенням оптичної щільності колагену як III, так і I типів ($p < 0,001$).

4. Через порівняльний аналіз встановлено, що у щитовидних залозах плодів щурів, які розвивалися в умовах субклінічних бактеріальних материнсько-плодових інфекцій, що спричинені окремо *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, аналогічно до групи позитивного контролю, формуються зміни, які при зіставленні з фізіологічною нормою, по-перше, відповідають підвищенню секреторної активності залози у вигляді зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу ($0,651 \pm 0,091$ проти $1,112 \pm 0,067$; $p < 0,001$) збільшення висоти ($10,353 \pm 0,077$ проти $5,934 \pm 0,07$; $p < 0,001$) та площі тироцита ($56,506 \pm 0,332$ проти $20,833 \pm 0,587$; $p < 0,001$), посилення інтенсивності флуоресценції тироксину ($85,53 \pm 0,132$ проти $79,82 \pm 0,199$; $p < 0,001$) та збільшення її площі ($133376,7 \pm 709,907$ проти $129090,4 \pm 544,064$; $p < 0,001$) у препаратах, оброблених відповідними моноклональними антитілами; та, по-друге, свідчать на користь прискорення темпів визрівання залози через збільшення діаметра фолікула ($17,655 \pm 0,641$ проти $16,213 \pm 0,661$; $p < 0,001$) та посилення інтенсивності флуоресценції колагену I типу ($51,915 \pm 0,234$ проти $33,842 \pm 0,158$; $p < 0,001$) у препаратах, оброблених відповідними моноклональними антитілами.

Визначено, що у щитовидних залозах новонароджених, які розвивалися в умовах субклінічних бактеріальних материнсько-плодових інфекцій, аналогічно до групи позитивного контролю і порівняно з групою негативного контролю, реєструється помірне зменшення функціональної напруги органа у вигляді зменшення середніх значень висоти тироцита ($7,635 \pm 0,032$ проти $8,191 \pm 0,027$; $p < 0,001$) та площі тироцита ($33,656 \pm 0,215$ проти $36,923 \pm 0,098$; $p < 0,001$), а також помірне зниження оптичної щільності флуоресценції тироксину ($82,66 \pm 0,213$ проти $85,911 \pm 0,274$; $p < 0,001$). Паралельно, продовжується та посилюється процес передчасного дозрівання органа, що відбивається збільшенням діаметра фолікула ($29,603 \pm 0,097$ проти $25,157 \pm 0,112$; $p < 0,001$) та оптичної щільності колагену III ($61,268 \pm 0,115$ проти $47,940 \pm 0,176$; $p < 0,001$) та I типів ($63,131 \pm 0,174$ проти $55,173 \pm 0,268$; $p < 0,001$). Зареєстровано прямі ознаки клітинного пошкодження через підвищення рівня експресії фактору некрозу пухлини ($57,264 \pm 0,084$ проти $31,240 \pm 0,321$; $p < 0,001$) та інтерлейкіна-6 ($60,239 \pm 0,293$ проти $37,016 \pm 0,155$; $p < 0,001$). Доведено, що найнебезпечнішою інфекцією серед тих, які досліджувалися, для органогенезу щитовидної залози нащадків є та, що спричинена *Staphylococcus aureus*.

При попарному порівнянні впливу субклінічних бактеріальних материнсько-плодових інфекцій та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії встановлено, що за морфофункціональними проявами найбільша подібність до хронічної внутрішньоутробної гіпоксії серед плодів спостерігається у групі, що піддавалась впливу інфекції *Staphylococcus aureus*, а серед новонароджених, – у групі, що піддавалась впливу інфекції *Klebsiella pneumoniae*. Підтверджено односпрямованість морфологічних і функціональних змін, пов'язаних з субклінічними бактеріальними материнсько-плодовими інфекціями та хронічною внутрішньоутробною гіпоксією у динаміці.

5. Сформульовано концепцію про вплив бактеріальної материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків в динаміці, згідно з якою спочатку відбувається вивільнення патоген-асоційованих молекулярних патернів в організмі матері, що потрапляють до

плацентарного кровотоку й організму плода та активують клітини місцевого імунітету і TLR-опосередкований сигнальний шлях, через який реалізується вроджена імунна відповідь та зміна місцевого цитокінового профілю унаслідок вивільнення медіаторів запалення. Затим відбувається активація апоптичних та некроптичних каскадів через взаємодію з білками домену смерті та каспазами, пошкоджується клітинна складова органа, що призводить до дисфункції залози на молекулярному рівні. Морфологічно це підтверджується тим, що у плодів посилюється проліферація тироїдного епітелію (збільшуються висота та площа тироцита, діаметр фолікула) та визрівання строми (збільшується площа та оптична щільність флуоресценції колагену III типу), підвищується синтетична активність тироцитів (збільшуються площа та оптична щільність флуоресценції тироксину); пізніше у новонароджених синтетична активність тироцитів послаблюється (зменшується оптична щільність флуоресценції тироксину), але продовжують посилюватися проліферація епітелію (збільшуються площа флуоресценції тироксину та діаметр фолікула) та визрівання строми (збільшуються площа та оптична щільність флуоресценції колагенів I та III типів), з'являються ознаки клітинного пошкодження (високі показники оптичної щільності та площі флуоресценції інтерлейкіну-6 та фактору некрозу пухлини). Це призводить до виснаження місцевого вродженого, який є основою адаптивно-компенсаторного резерву щитовидної залози, та формує морфогенетичний потенціал для автоімунних та онкологічних захворювань цього органа у нащадків.

6. Розроблено доказовий спосіб комплексної патоморфологічної діагностики впливу материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан щитовидної залози нащадків, що полягає у виконанні розширеної морфометрії та аналізі результатів імуногістохімічного дослідження у програмі для оброблення біологічних зображень ImageJ з підрахунком середніх значень ключових показників морфофункціонального стану органа: для плодів – це діаметр та площа фолікула, висота та площа тироцита, площі ядра та цитоплазми, ядерно-цитоплазматичне відношення, оптична щільність та площа

флуоресценції тироксину та колагену I типу, для новонароджених – це діаметр та площа фолікула, висота та площа тироцита, оптична щільність та площа флуоресценції тироксину, колагенів I та III типів, фактору некрозу пухлини та інтерлейкіну-6, з подальшим статистичним обробленням даних у цифровому середовищі RStudio мовою R.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Емпірика дисертаційного дослідження рекомендована патологам, ендокринологам, акушерам-гінекологам, викладачам закладів вищої медичної освіти та науковцям:

1. як складова частина комплексного способу патоморфологічної діагностики бактеріальної материнсько-плодової інфекції з субклінічним перебігом у нащадків, що раптово загинули;

2. для визначення впливу ще невивченої інфекційної патології на морфофункціональний стан щитовидної залози як плодів, так і новонароджених;

3. для комплексного вивчення морфофункціонального стану щитовидної залози за умов різноманітної патології, в тому числі материнсько-плодової інфекції, що спричинена *E. coli*, *S. aureus* або *K. pneumoniae*, у людей;

4. до використання у закладах вищої медичної освіти та науково-дослідних інститутах як референтний матеріал для написання наукових робіт, що включають експеримент на тваринах;

5. як стандарт належного дизайну дослідження за участю тварин із застосуванням стандартних кодів із медичної термінологічної бази OMOP CDM, що дозволяють стандартизувати дані про тварин, отримані в експерименті, формувати локальні інформаційні бази даних та використовувати їх повторно в аналітичних дослідженнях у майбутньому;

6. у практичній охороні здоров'я, як теоретичне підґрунтя для підвищення рівня діагностичної настороженості щодо хронічних неспецифічних бактеріальних інфекцій у вагітних та проведення відповідних профілактичних заходів щодо своєчасного виявлення інфекційної патології у вагітних жінок і тиреоїдної патології у дітей з материнсько-плодовою інфекцією в анамнезі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Сорокіна ІВ. Патологічна анатомія імунної системи плода з порушеною трофікою (клініко-морфологічне та експериментальне дослідження) [автореферат]. Харків: ХМІ. 1992. 38 с.
2. Купріянова ЛС. Патоморфологічні особливості тимуса плодів від матерів, хворих на цукровий діабет I типу [автореферат]. Харків: ХНМУ. 2008. 20 с.
3. Галата ДІ. Патоморфологічні особливості імунної системи плодів та новонароджених від матерів з преєклампсією [дисертація]. Харків: ХНМУ. 2011. 189 с.
4. Марковський ВД. Морфофункціональні особливості серця плодів та новонароджених і посліду при артеріальній гіпертонії у вагітних [автореферат]. Харків: ХМІ. 1992. 34 с.
5. Гольєва НВ. Клініко-морфологічні аспекти гіперпластичних процесів ендометрію у жінок дітородного віку [автореферат]. Харків: ХДМУ. 1994. 23 с.
6. Яковцова АФ, Марковський ВД, Сорокіна ІВ, Борзенкова ІВ. Морфофункціональні особливості серцево-судинної системи плодів та новонароджених від матерів із ускладненою вагітністю: основні досягнення Харківської школи патологоанатомів. Патологія. 2015;1(33):12-6.
7. Гаргін ВВ. Функціональна морфологія щитовидних залоз плодів та новонароджених від матерів з окремими видами екстрагенітальної патології, гестозом [автореферат]. Харків: ХДМУ. 2000. 18 с.
8. Кихтенко ОВ. Особливості ембріогенезу адренкортикотропоцитів аденогіпофіза плода в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії. Український морфологічний альманах. 2009;Т.7(1):34-5.

9. Кихтенко ОВ. Патологічна анатомія епіфіза мозку та гіпофіза плодів та новонароджених від матерів з гестозами [дисертація]. Харків: ХДМУ. 2003. 208 с.
10. Проценко ОС, Невзоров ВП. Ультраструктура клітин печінки плодів та новонароджених від матерів із преєклампсією. Світ медицини та біології. 2013;9(38):78-81.
11. Сакал АО, Марковський ВД. Вплив хронічної внутрішньоутробної гіпоксії на морфофункціональний стан печінки потомства щурів. Вісник проблем біології і медицини. 2016;2(2):200-4.
12. Chen C, Xie Z, Shen Y, Xia SF. The Roles of Thyroid and Thyroid Hormone in Pancreas: Physiology and Pathology. *Int J Endocrinol*. 2018;2018:2861034. doi:10.1155/2018/2861034.
13. Потапов СМ. Патоморфологічні особливості сім'яних залоз плодів та новонароджених від матерів з преєклампсією [автореферат]. Харків: ХНМУ. 2010. 20 с.
14. Наумова ОВ, Яковцова АФ, Губіна-Вакулик ГІ, Горбач ТВ. Вплив вживання вагітної малих доз алкоголю на морфофункціональний стан нирок новонародженого. Ультразвукова перинатальна діагностика. 2003;16:156-8.
15. Harmon QE, Basso O, Weinberg CR, Wilcox AJ. Two denominators for one numerator: the example of neonatal mortality. *Eur J Epidemiol*. 2018;33(6):523-30. doi:10.1007/s10654-018-0373-0.
16. Neu N, Duchon J, Zachariah P. TORCH infections. *Clin Perinatol*. 2015;42(1):77-103. doi:10.1016/j.clp.2014.11.001.
17. Watt S, Lanotte P, Mereghetti L, Moulin-Schouleur M, Picard B, Quentin R. *Escherichia coli* strains from pregnant women and neonates: intraspecies genetic distribution and prevalence of virulence factors. *J Clin Microbiol*. 2003 May;41(5):1929-35. doi:10.1128/JCM.41.5.1929-1935.2003.
18. Khatri A, Naeger Murphy N, Wiest P, Osborn M, Garber K, Hecker M, Hurless K, Rudin SD, Jacobs MR, Kalayjian RC, Salata RA, van Duin D,

- Perez F, Bonomo RA, Paterson DL, Harris PN. Community-Acquired Pyelonephritis in Pregnancy Caused by KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Aug;59(8):4375-8. doi:10.1128/AAC.00553-15.
19. Kriebs JM. Staphylococcus Infections in Pregnancy: Maternal and Neonatal Risks. *J Perinat Neonatal Nurs*. 2016;30(2):115-23. doi:10.1097/JPN.0000000000000165.
 20. Симрок ВВ, Слепичко ЮН, Жмурко ТП, Аверіна АА. Перинатальна смертність: причини, фактори ризику, шляхи зниження. *Таврійський медико-біологічний вісник*. 2012;15(2):280-2.
 21. Могилевкіна ІО. Аудит перинатальних втрат щодо вдосконалення перинатальної допомоги в Україні. В: *Збірник наукових праць*. Київ: Поліграф плюс; 2012. с. 298-302.
 22. Самохвалова АВ, Школьник ОС. Дослідження факторів ризику репродуктивних втрат у жінок з TORCH-інфекцією. В: *Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України*. Київ: Інтермед; 2008. с. 457-60.
 23. Іотенко БА, Деміна ТН, Межова ОК. Вплив інфекції на розвиток хронічної недостатності плаценти. *Гінекологія* [Internet]. 2008 [цитовано 2019 Вер 13];Т.253. Доступно на: <http://www.mif-ua.com/archive/article/5949>.
 24. Sordillo EM, Polsky B. Infections in Pregnancy. *Principles of Gender-Specific Medicine*. 2010;531-562. doi:10.1016/B978-0-12-374271-1.00047-2.
 25. Самохвалова АВ, Тенета ММ. Особливості раннього неонатального періоду у новонароджених від матерів з вірогідними ознаками ендотоксикозу. *Таврійський медико-біологічний вісник*. 2011;14(3):216-8.
 26. Breeze AC. Infectious diseases of the fetus and newborn infant, 6th edn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007;92(2):F156. doi:10.1136/adc.2006.102566.

27. Irshad U, Mahdy H, Tonismae T. HIV In Pregnancy. [Updated 2022 Sep 20]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558972>.
28. SMFM Patient Safety and Quality Committee. Electronic address: smfm@smfm.org, Hamm RF, Combs CA, Davidson CM. Society for Maternal-Fetal Medicine Special Statement: Reducing the risk of transmitting infection by transvaginal ultrasound examination. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(3):B2-B6. doi:10.1016/j.ajog.2020.05.043.
29. Ramsey PS. The Preterm Prediction Study: Elevated cervical ferritin levels at 22 to 24 weeks of gestation are associated with spontaneous preterm delivery in asymptomatic women. *General obstetrics and gynecology*. 2002;186(3):458-63. doi:10.1067/mob.2002.121088.
30. Markovskiy V, Zvereva I. Pathomorphological changes of aorta in fetuses and newborns exposed to experimental maternal escherichiosis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018;8(4):430-7.
31. Сакал АО, Марковський ВД. Морфофункціональний стан печінки потомства від матерів, інфікованих *Escherichia coli* (експериментальне дослідження). *Морфологія*. 2016;10(3):199-202 doi:10.26641/1997-9665.2016.3.
32. ТОВАЖНЯНЬСЬКА ВД, СОРОКІНА ІВ, ЯКОВЦОВА П. Вплив материнського клібсієльозу на морфофункціональний стан кори надниркових залоз плодів. *Морфологія*. 2016;10:406-11.
33. Мирошніченко МС. Патологічна анатомія сечовидільної системи плодів та новонароджених від матерів з ускладненою вагітністю [дисертація]. Харків: ХНМУ; 2019. 485 с.
34. Hanley K, Rassner U, Elias PM, Williams ML, Feingold KR. Epidermal barrier ontogenesis: maturation in serum-free media and acceleration by glucocorticoids and thyroid hormone but not selected growth factors. *J Invest Dermatol*. 1996;106(3):404-11. doi:10.1111/1523-1747.ep12343405.

35. Churilov LP, Sobolevskaya PA, Stroeve YI. Thyroid gland and brain: Enigma of Hashimoto's encephalopathy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019;33(6):101364. doi:10.1016/j.beem.2019.101364.
36. Москаленко РА. Морфофункціональні зміни щитоподібної залози в умовах впливу мікроелементозу (анатомо-експериментальне дослідження) [автореферат]. Суми: СумДУ. 2010. 17 с.
37. Owji MS, Varedi M, Naghibalhossaini F, Pajouhi N. Thyroid Function Modulates Lung Fluid and Alveolar Viscoelasticity in Mechanically Ventilated Rat [published online ahead of print, 2020 May 7]. *J Surg Res.* 2020;253:272-9. doi:10.1016/j.jss.2020.03.060.
38. Bryda EC. The Mighty Mouse: the impact of rodents on advances in biomedical research. *Mo Med [Internet].* 2013 [cited 2019 Sep 17];110(3):207-211. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3987984>.
39. Suckow MA, Hankenson CF, Wilson RP, Foley PL, editors. *The Laboratory Rat*, 3rd Edition. London: Academic Press; 2019. 77 p.
40. Báñez-López S, Guadaño-Ferraz A. Thyroid Hormone Availability and Action during Brain Development in Rodents. *Front Cell Neurosci.* 2017 Aug 14;11:240. doi:10.3389/fncel.2017.00240.
41. Xia T, Zhang X, Wang Y, Deng D. Effect of maternal hypothyroidism during pregnancy on insulin resistance, lipid accumulation, and mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of fetal rats. *Biosci Rep.* 2018;38(4):BSR20171731. doi:10.1042/BSR20171731.
42. Марковський ВД, Сорокіна ІВ, Мирошніченко МС, Плітень ОМ, Мішина ММ, Шапкін АС, Калужина ОВ, винахідники; Харківський національний медичний університет, патентовласник. Спосіб моделювання внутрішньоутробного інфікування плода та новонародженого як наслідку підгострого інфекційно-запального процесу матері. Патент України на винахід №108806. 2015 чер. 10.
43. Мирошніченко МС, Плітень ОМ, Марковський ВД, Кихтенко ОВ, Губіна-Вакулик ГІ, Омельченко ОА, Сорокіна ІВ, винахідники;

- Харківський національний медичний університет, патентовласник. Спосіб моделювання внутрішньоутробної гіпоксії з асфіксією новонародженого в пологах. Патент України на винахід №88459. 2014 бер. 11.
44. Buhimschi IA, Nayeri UA, Laky CA, Razeq SA, Dulay AT, Buhimschi CS. Advances in medical diagnosis of intra-amniotic infection. *Expert Opin Med Diagn.* 2013;7(1):5-16. doi:10.1517/17530059.2012.709232.
 45. Peng CC, Chang JH, Lin HY, Cheng PJ, Su BH. Intrauterine inflammation, infection, or both (Triple I): A new concept for chorioamnionitis. *Pediatr Neonatol.* 2018;59(3):231-7. doi:10.1016/j.pedneo.2017.09.001.
 46. van Enter BJD, Huibers MHW, van Rooij L, et al. Perinatal Outcomes in Vertically Infected Neonates During a Chikungunya Outbreak on the Island of Curaçao. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;99(6):1415-18. doi:10.4269/ajtmh.17-0957.
 47. Батман ЮА, Натрус ЛВ, Єсакова ОР. Клініко-діагностичні маркери ранньої діагностики внутрішньоутробних інфекцій у недоношених новонароджених. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології.* 2015;1:7-10.
 48. Куса ОМ. Визначення рівня лактоферину як маркера реалізації внутрішньоутробного інфікування. *Art Med.* 2020;3(15):113-7 doi:10.21802/artm.2020.3.15.113.
 49. Грищенко ВІ, Щербина МО, редактори. В: Акушерство і гінекологія. Київ: ВСВ «Медицина»; 2011. 424 с.
 50. Ткаченко ЮП, Леженко ГО, Резніченко ЮГ, Резніченко ГІ. Внутрішньоутробні інфекції: Епідеміологія, клініка, діагностика та сучасні принципи терапії у вагітних жінок та дітей. Донецьк: Заславський; 2012. 141 с.
 51. Міністерство охорони здоров'я України. Наказ про затвердження клінічного протоколу акушерської допомоги «Перинатальні інфекції» №906 [Internet]. 2006 [цитовано 2019 Вер 17]. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0906282-06/print>.

52. Щербина МО, Вигівська ЛА, Капустник НВ. Внутрішньоутробні інфекції – причина патологічних станів перинатального періоду. Перинатологія та педіатрія. 2016;2(66):65-9. doi:10.15574/PP.2016.66.65.
53. Agrawal V, Hirsch E. Intrauterine infection and preterm labor. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17(1):12-9. doi:10.1016/j.siny.2011.09.001.
54. Ghanavatian S, Derian A. Pudendal Nerve Block. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2019 Sep 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551518>.
55. Chan MY, Smith MA. Infections in Pregnancy. *Comprehensive Toxicology.* 2018:232-49. doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.64293-9.
56. Galask R, Larsen B. Infection in Maternal-Fetal Medicine: An Overview. *The Global Library of Women's Medicine.* 2009 Jan; doi:10.3843/GLOWM.10173.
57. Boushra M, Farci F. Antepartum Infections. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan [cited 2020 May 1]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560801>.
58. Arora N, Sadovsky Y, Dermody TS, Coyne CB. Microbial Vertical Transmission during Human Pregnancy. *Cell Host Microbe.* 2017 May 10;21(5):561-7. doi:10.1016/j.chom.2017.04.007.
59. World Health Organization. Definition and categorization of the timing of mother-to-child transmission of SARS-CoV-2. Scientific brief 8 February 2021 [Internet]. WHO Press; 2021 [cited 2021 May 12]. 232 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1331504>.
60. Бідованець ОЮ. Особливості перебігу TORCH-інфекцій у жінок репродуктивного віку. *Інфекційні хвороби.* 2014; 1:88-95. doi:10.11603/1681-2727.2014.1.4740.
61. Morinis J, Shah J, Murthy P, Fulford M. Horizontal transmission of group B streptococcus in a neonatal intensive care unit. *Paediatr Child Health.* 2011;16(6):e48-50. doi:10.1093/pch/16.6.e48.
62. Ford-Jones E, Lee MD.; Kellner, James D. M.D. "CHEAP TORCHES", *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 1995;14(7):638-63.

63. Ehman D, Mugarab Samedi V, Kalaniti K, Daspal S. Neonatal *Escherichia coli* infection in twins: clinical spectrum and management dilemma. *BMJ Case Rep.* 2021;14(1):e238470. doi:10.1136/bcr-2020-238470.
64. André P, Thébaud B, Guibert M, Audibert F, Lacaze-Masmonteil T, Dehan M. Maternal-fetal staphylococcal infections: a series report. *Am J Perinatol.* 2000;17(8):423-7. doi:10.1055/s-2000-13455.
65. Amir M, Brown JA, Rager SL, Sanidad KZ, Ananthanarayanan A, Zeng MY. Maternal Microbiome and Infections in Pregnancy. *Microorganisms.* 2020 Dec 15;8(12):1996. doi:10.3390/microorganisms8121996.
66. Robbins JR, Bakardjiev AI. Pathogens and the placental fortress. *Curr Opin Microbiol.* 2012;15(1):36-43. doi:10.1016/j.mib.2011.11.006.
67. Pizarro-Cerdá J, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: cell biology of invasion and intracellular growth. *Microbiol Spectr.* 2018 [cited 2019 Sep 19];6(6). doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0013-2018. Available from: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/microbiolspec.GPP3-0013-2018>.
68. Colin P, Zhou Z, Staropoli I, Garcia-Perez J, Gasser R, Armani-Tourret M, Benureau Y, Gonzalez N, Jin J, Connell BJ, Raymond S, Delobel P, Izopet J, Lortat-Jacob H, Alcamí J, Arenzana-Seisdedos F, Brelot A, Lagane B. CCR5 structural plasticity shapes HIV-1 phenotypic properties. *PLoS Pathog.* 2018 Dec 6;14(12):e1007432. doi:10.1371/journal.ppat.1007432.
69. Tussupkaliyev A, Salamat A, Zhubanyshev N, Bokenbay D, Isbussinov N. Influence of genital infection on fetoplacental complex. *Journal of Pure and Applied Microbiology.* 2015;9(3):1943-50.
70. Adachi K, Nielsen-Saines K, Klausner JD. Chlamydia trachomatis Infection in Pregnancy: The Global Challenge of Preventing Adverse Pregnancy and Infant Outcomes in Sub-Saharan Africa and Asia. *Biomed Res Int.* 2016;2016:9315757. doi:10.1155/2016/9315757.
71. Heerema-McKenney A. Defense and infection of the human placenta. *APMIS.* 2018;126(7):570-88. doi:10.1111/apm.12847.

72. Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, et al. Zika Virus Infection with Prolonged Maternal Viremia and Fetal Brain Abnormalities. *N Engl J Med*. 2016;374(22):2142-51. doi:10.1056/NEJMoa1601824.
73. Vivanti AJ, Vauloup-Fellous C, Prevot S, et al. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun*. 2020;11(1):3572. doi:10.1038/s41467-020-17436-6.
74. High H, Scott L, Walter R, Harper M, Desai M, Grier L. Severe Gram Negative Septic Shock with Thrombocytopenia Associated Multi-Organ Failure in Pregnancy. *Crit Care Med*. 2013; 41(12):pA299. doi:10.1097/01.ccm.0000440409.88906.20.
75. Figuero E, Han YW, Furuichi Y. Periodontal diseases and adverse pregnancy outcomes: Mechanisms. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):175-88. doi:10.1111/prd.12295.
76. Nguyen VT, Moon NS, Onuki Y, Williams KA, Ouderkirk JP, Lee RS, et al. Septic abortion due to Salmonella bacteremia: A case report. *Pharmacotherapy*. 2013;33:e1-3. doi:10.1080/01443615.2018.1529153.
77. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6(237):237ra65. doi:10.1126/scitranslmed.3008599.
78. Fox C, Eichelberger K. Maternal microbiome and pregnancy outcomes. *Fertil Steril*. 2015;104(6):1358-63. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.09.037.
79. Abizanda SS, De La Rosa Fraile M, Terés EO, Roura LC. Current considerations on the prevention of vertical transmission of group B β -hemolytic streptococci. *Rev Española Pediatría*. 2009; 65:240-7.
80. Sorano S, Goto M, Matsuoka S, Tohyama A, Yamamoto H, Nakamura S, Fukami T, Matsuoka R, Tsujioka H, Eguchi F. Chorioamnionitis caused by *Staphylococcus aureus* with intact membranes in a term pregnancy: A case of maternal and fetal septic shock. *J Infect Chemother*. 2016;22(4):261-4. doi:10.1016/j.jiac.2015.10.012.

81. Bauer ME, Bateman BT, Bauer ST, Shanks AM, Mhyre JM. Maternal sepsis mortality and morbidity during hospitalization for delivery: temporal trends and independent associations for severe sepsis. *Anesth Analg.* 2013;117(4):944-50. doi:10.1213/ANE.0b013e3182a009c3.
82. Kim MJ, Romero R, Gervasi MT, Kim JS, Yoo W, Lee DC, Mittal P, Erez O, Kusanovic JP, Hassan SS, Kim CJ. Widespread microbial invasion of the chorioamniotic membranes is a consequence and not a cause of intra-amniotic infection. *Lab Invest.* 2009;89(8):924-36. doi:10.1038/labinvest.2009.49.
83. Redline RW. Inflammatory response in acute chorioamnionitis. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17(1):20-5. doi:10.1016/j.siny.2011.08.003.
84. Adams Waldorf KM, McAdams RM. Influence of infection during pregnancy on fetal development. *Reproduction.* 2013;146(5):151-62. doi:10.1530/REP-13-0232.
85. Vissing NH, Chawes BL, Bisgaard H. Increased risk of pneumonia and bronchiolitis after bacterial colonization of the airways as neonates. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(10):1246-52. doi:10.1164/rccm.201302-0215OC.
86. Painter K, Anand S, Philip K. Omphalitis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cited 2020 Oct 10]. PMID:30020710. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513338>.
87. Seong HS, Lee SE, Kang JH, Romero R, Yoon BH. The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(4):375.e1-5.
88. Deverman BE, Patterson PH. Cytokines and CNS Development. *Neuron.* 2009;64(1):61-78. doi:10.1016/j.neuron.2009.09.002.
89. Ashdown H, Dumont Y, Ng M, Poole S, Boksa P, Luheshi GN. The role of cytokines in mediating effects of prenatal infection on the fetus: implications for schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2006;11(1):47-55. doi:10.1038/sj.mp.4001748.

90. Mitchell JP, Carmody RJ. NF- κ B and the Transcriptional Control of Inflammation. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2018;335:41-84. doi:10.1016/bs.ircmb.2017.07.007.
91. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):986-1000. doi:10.1161/ATVBAHA.110.207449.
92. Kemp MW. Preterm birth, intrauterine infection, and fetal inflammation. *Front Immunol*. 2014;5:574. doi:10.3389/fimmu.2014.00574.
93. Foster TJ. Immune evasion by staphylococci. *Nat Rev Microbiol*. 2005;3(12):948-58. doi:10.1038/nrmicro1289.
94. Vu BG, Stach CS, Kulhankova K, Salgado-Pabón W, Klingelhutz AJ, Schlievert PM. Chronic superantigen exposure induces systemic inflammation, elevated bloodstream endotoxin, and abnormal glucose tolerance in rabbits: possible role in diabetes. *mBio*. 2015;6(2):e02554. doi:10.1128/mBio.02554-14.
95. Chen J, Khalil RA. Matrix Metalloproteinases in Normal Pregnancy and Preeclampsia. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017;148:87-165. doi:10.1016/bs.pmbts.2017.04.001.
96. Girardi G, Bulla R, Salmon JE, Tedesco F. The complement system in the pathophysiology of pregnancy. *Mol Immunol*. 2006;43(1-2):68-77. doi:10.1016/j.molimm.2005.06.017.
97. Burzynski LC, Humphry M, Pyrillou K, Wiggins KA, Chan JNE, Figg N, Kitt LL, Summers C, Tatham KC, Martin PB, Bennett MR, Clarke MCH. The Coagulation and Immune Systems Are Directly Linked through the Activation of Interleukin-1 α by Thrombin. *Immunity*. 2019;50(4):1033-42. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.003.
98. Menon R, Fortunato SJ. Infection and the role of inflammation in preterm premature rupture of the membranes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007;21(3):467-78. doi:10.1016/j.bpobgyn.2007.01.008.
99. Lee AC, Quaiyum MA, Mullany LC, et al. Screening and treatment of maternal genitourinary tract infections in early pregnancy to prevent preterm birth in

- rural Sylhet, Bangladesh: a cluster randomized trial. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2015;15:326. doi:10.1186/s12884-015-0724-8.
100. Bona C. Chapter on Neonatal Autoimmune Diseases Caused by Maternal Pathogenic Autoantibodies. In: *Neonatal Immunity*. Totowa; 2004:179-91. doi:10.1007/978-1-59259-825-0_8.
 101. Curcio AM, Shekhawat P, Reynolds AS, Thakur KT. Neurologic infections during pregnancy. *Handb Clin Neurol*. 2020;172:79-104. doi:10.1016/B978-0-444-64240-0.00005-2.
 102. Cordeiro CN, Tsimis M, Burd I. Infections and Brain Development. *Obstet Gynecol Surv*. 2015;70(10):644-55. doi:10.1097/OGX.0000000000000236.
 103. Майданник ВГ, Бурлай ВГ, Гнатейко ОЗ, Дука КД. Пропедевтична педіатрія: Підручник для студентів вищих медичних навчальних. Вінниця: Нова Книга. 880 с.
 104. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsathong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L. A novel molecular microbiologic technique for the rapid diagnosis of microbial invasion of the amniotic cavity and intra-amniotic infection in preterm labor with intact membranes. *Am J Reprod Immunol*. 2014;71(4):330-58. doi:10.1111/aji.12189.
 105. Tita AT, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol*. 2010;37(2):339-54. doi:10.1016/j.clp.2010.02.003.
 106. Galinsky R, Polglase GR, Hooper SB, Black MJ, Moss TJ. The consequences of chorioamnionitis: preterm birth and effects on development. *J Pregnancy*. 2013;2013:412831. doi:10.1155/2013/412831.
 107. Dunlop AL, Mulle JG, Ferranti EP, Edwards S, Dunn AB, Corwin EJ. Maternal Microbiome and Pregnancy Outcomes That Impact Infant Health: A Review. *Adv Neonatal Care*. 2015;15(6):377-85. doi:10.1097/ANC.0000000000000218.

108. NIH HMP Working Group, Peterson J, Garges S. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009;19(12):2317-23. doi:10.1101/gr.096651.109.
109. Salvucci E. Microbiome, holobiont and the net of life. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(3):485-94. doi:10.3109/1040841X.2014.962478.
110. Barrera D, Avila E, Díaz L. Immunological role of progesterone in the maintenance of pregnancy. *Rev Invest Clin.* 2007;59(2):139-45.
111. Liu H, Wang LL, Zhao SJ, Kwak-Kim J, Mor G, Liao AH. Why are pregnant women susceptible to COVID-19? An immunological viewpoint. *J Reprod Immunol.* 2020;139:103122. doi:10.1016/j.jri.2020.103122.
112. Martinez-Medina M. Special Issue: Pathogenic *Escherichia coli*: Infections and Therapies. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(2):112. doi:10.3390/antibiotics10020112.
113. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance [Internet]. France: WHO Press; 2014 [cited 2020 Jan 9]. 232 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642>.
114. Kim S, Covington A, Pamer EG. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunol Rev.* 2017;279(1):90-105. doi:10.1111/imr.12563.
115. Olorunmola FO, Kolawole DO, Lamikanra A. Antibiotic resistance and virulence properties in *Escherichia coli* strains from cases of urinary tract infections. *Afr J Infect Dis.* 2013;7(1):1-7. doi:10.4314/ajid.v7i1.1.
116. Fair RJ, Tor Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspect Medicin Chem.* 2014;6:25-64. doi:10.4137/PMC.S14459.
117. Camacho-Gonzalez A, Spearman PW, Stoll BJ. Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(2):367-89. doi:10.1016/j.pcl.2012.12.003.
118. Vila J, Sáez-López E, Johnson JR, et al. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev.* 2016;40(4):437-63. doi:10.1093/femsre/fuw005.

119. Doster RS, Kirk LA, Tetz LM, Rogers LM, Aronoff DM, Gaddy JA. Staphylococcus aureus Infection of Human Gestational Membranes Induces Bacterial Biofilm Formation and Host Production of Cytokines. J Infect Dis. 2017;215(4):653-7. doi:10.1093/infdis/jiw300.
120. Torabi R, Charnova S, Abellar RG, Pinar H, De Paepe ME. Intrauterine infection with Klebsiella pneumoniae: report of a case and literature review. Pediatr Dev Pathol. 2008;11(2):152-5. doi:10.2350/07-09-0337.1.
121. MediaWiki. Low-temperature electron micrograph of a cluster of E. coli bacteria, magnified 10,000 times [Internet]. Eric Erbe; 2005 [cited 2020 May 1]. Available from: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=Category:Media_created_by_the_United_States_Agricultural_Research_Service_with_known_IDs&filefrom=K110771#/media/File:E_coli_at_10000x,_original.jpg.
122. Kittana H, Gomes-Neto JC, Heck K. Commensal Escherichia coli Strains Can Promote Intestinal Inflammation via Differential Interleukin-6 Production. Front Immunol. 2018;9:2318. doi:10.3389/fimmu.2018.02318.
123. Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. The population genetics of commensal Escherichia coli. Nat Rev Microbiol. 2010;8(3):207-17. doi:10.1038/nrmicro2298.
124. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group. Appl Environ Microbiol. 2000;66(10):4555-8. doi:10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000.
125. Micenková L, Bosák J, Štaudová B. Microcin determinants are associated with B2 phylogroup of human fecal Escherichia coli isolates. Microbiologyopen. 2016;5(3):490-8. doi:10.1002/mbo3.345.
126. Snipen L, Almøy T, Ussery DW. Microbial comparative pan-genomics using binomial mixture models. BMC Genomics [Internet]. 2009 [cited 2020 May 3];10:385. doi:10.1186/1471-2164-10-385. Available from: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-10-385>.

127. Грицай РВ, Варбанець ЛД. Ліпополісахариди грамнегативних бактерій: структурні особливості, біосинтез, застосування в біотехнології. *Biotechnologia Acta*. 2011;4(1):41-59.
128. Iguchi A, Iyoda S, Kikuchi T. A complete view of the genetic diversity of the *Escherichia coli* O-antigen biosynthesis gene cluster. *DNA Res*. 2015;22(1):101-7. doi:10.1093/dnares/dsu043.
129. Sarkar S, Ulett GC, Totsika M, Phan MD, Schembri MA. Role of capsule and O antigen in the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2014;9(4):e94786. doi:10.1371/journal.pone.0094786.
130. Prager R, Strutz U, Fruth A, Tschäpe H. Subtyping of pathogenic *Escherichia coli* strains using flagellar (H)-antigens: serotyping versus fliC polymorphisms. *Int J Med Microbiol*. 2003;292(7-8):477-86. doi:10.1078/1438-4221-00226.
131. Wang L, Rothmund D, Curd H, Reeves PR. Species-wide variation in the *Escherichia coli* flagellin (H-antigen) gene. *J Bacteriol*. 2003;185(9):2936-43. doi:10.1128/jb.185.9.2936-2943.2003.
132. Whitfield C. Biosynthesis and assembly of capsular polysaccharides in *Escherichia coli*. *Annu Rev Biochem*. 2006;75:39-68. doi:10.1146/annurev.biochem.75.103004.142545.
133. Bonacorsi S, Bingen E. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing neonatal meningitis. *Int J Med Microbiol*. 2005;295(6-7):373-81. doi:10.1016/j.ijmm.2005.07.011.
134. Orskov F, Orskov I. *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol*. 1992;38(7):699-704.
135. Kunduru BR, Nair SA, Rathinavelan T. EK3D: an *E. coli* K antigen 3-dimensional structure database. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(D1):675-81. doi:10.1093/nar/gkv1313.
136. Ryan KJ, Ray CG, Sherris JC. *Sherris Medical Microbiology*. New York: McGraw Hill Medical; 2010. 1056 p.

137. Desvaux M, Dalmasso G, Beyrouthy R, Barnich N, Delmas J, Bonnet R. Pathogenicity Factors of Genomic Islands in Intestinal and Extraintestinal *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2020;11:2065. doi:10.3389/fmicb.2020.02065.
138. Fais T, Delmas J, Barnich N, Bonnet R, Dalmasso G. Colibactin: More Than a New Bacterial Toxin. *Toxins (Basel).* 2018;10(4):151. doi:10.3390/toxins10040151.
139. Raisch J, Buc E, Bonnet M, et al. Colon cancer-associated B2 *Escherichia coli* colonize gut mucosa and promote cell proliferation. *World J Gastroenterol.* 2014;20(21):6560-6572. doi:10.3748/wjg.v20.i21.6560.
140. Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède JP. *Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(25):11537-42. doi:10.1073/pnas.1001261107.
141. Mainil J. *Escherichia coli* virulence factors. *Vet Immunol Immunopathol.* 2013;152(1-2):2-12. doi:10.1016/j.vetimm.2012.09.032.
142. Gaytán MO, Martínez-Santos VI, Soto E, González-Pedrajo B. Type Three Secretion System in Attaching and Effacing Pathogens. *Front Cell Infect Microbiol.* 2016;6:129. doi:10.3389/fcimb.2016.00129.
143. Campbell WS, Pedersen J, McClay JC, Rao P, Bastola D, Campbell JR. An alternative database approach for management of SNOMED CT and improved patient data queries. *J Biomed Inform.* 2015;57:350-7. doi:10.1016/j.jbi.2015.08.016.
144. Benson T. Principles of health interoperability: SNOMED CT, HL7 and FHIR. Cham: Springer International Publishing AG Switzerland. 2016. 465 p.
145. Ontoserver. The Shrimp browser v. Australia: National Clinical Terminology Service [Internet]; 2020 [cited 2020 Sep 5]. Available from: http://ontoserver.csiro.au/shrimp/?concept=51530003&version=http%3A%2F%2Fsnomed.info%2Fsct%2F32506021000036107%2Fversion%2F20201031&valueset=http%3A%2F%2Fsnomed.info%2Fsct%3Ffhir_vs.

146. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*. 2015 May;13(5):269-84. doi:10.1038/nrmicro3432.
147. Ramos NL, Sekikubo M, Dzung DT, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* isolates from pregnant women in different countries. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3569-74. doi:10.1128/JCM.01647-12.
148. Fine Art America. MRSA ingestion by white blood cell. Science Photo Library Art; 2016 Aug [cited 2020 March 27]. Available from: <https://fineartamerica.com/featured/2-mrsa-ingestion-by-white-blood-cell-ami-images.html>.
149. Sakai K, Koyama N, Fukuda T, Mori Y, Onaka H, Tomoda H. Search method for inhibitors of Staphyloxanthin production by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(1):48-53. doi:10.1248/bpb.35.48.
150. The Editors of Encyclopaedia Britannica. *Staphylococcus* [Internet]. Encyclopædia Britannica. 2017 [cited 2020 May 18]. Available from: <https://www.britannica.com/science/Staphylococcus>.
151. Dmitriev BA, Toukach FV, Holst O, Rietschel ET, Ehlers S. Tertiary structure of *Staphylococcus aureus* cell wall murein. *J Bacteriol*. 2004;186(21):7141-8. doi:10.1128/JB.186.21.7141-7148.2004.
152. Samutela MT, Kalonda A, Mwansa J, Lukwesa-Musyani C, Mwaba J, Mumbula EM, Mwenya D, Simulundu E, Kwenda G. Molecular characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated at a large referral hospital in Zambia. *Pan Afr Med J*. 2017;26:108. doi:10.11604/pamj.2017.26.108.10982.
153. Bosi E, Monk JM, Aziz RK, Fondi M, Nizet V, Palsson BØ. Comparative genome-scale modelling of *Staphylococcus aureus* strains identifies strain-specific metabolic capabilities linked to pathogenicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(26):E3801-9. doi:10.1073/pnas.1523199113.

154. Brown AF, Leech JM, Rogers TR, McLoughlin RM. *Staphylococcus aureus* Colonization: Modulation of Host Immune Response and Impact on Human Vaccine Design. *Front Immunol*. 2014;4:507. doi:10.3389/fimmu.2013.00507.
155. Zipperer A, Konnerth MC, Laux C, Berscheid A, Janek D, Weidenmaier C. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*. 2016;535:511-6. doi:10.1038/nature18634.
156. Frank DN, Feazel LM, Bessesen MT, Price CS, Janoff EN, Pace NR. The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *PLoS One*. 2010;5(5):e10598. doi:10.1371/journal.pone.0010598.
157. Falugi F, Kim HK, Missiakas DM, Schneewind O. Role of protein A in the evasion of host adaptive immune responses by *Staphylococcus aureus*. *mBio*. 2013;4(5):e00575-13. doi:10.1128/mBio.00575-13.
158. van Hal SJ, Jensen SO, Vaska VL, Espedido BA, Paterson DL, Gosbell IB. Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(2):362-86. doi:10.1128/CMR.05022-11.
159. Rogers K. MRSA [Internet]. *Encyclopædia Britannica*. 2019 [cited 2020 May 18]. Available from: <https://www.britannica.com/science/MRSA>.
160. Thelestam M, Möllby R, Wadström T. Effects of staphylococcal alpha-, beta-, delta-, and gamma-hemolysins on human diploid fibroblasts and HeLa cells: evaluation of a new quantitative assay for measuring cell damage. *Infect Immun*. 1973;8(6):938-46. doi:10.1128/IAI.8.6.938-946.1973.
161. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(1):16-34. doi:10.1128/cmr.13.1.16-34.2000.
162. Xu SX, McCormick JK. Staphylococcal superantigens in colonization and disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:52. doi:10.3389/fcimb.2012.00052.
163. Ortega E, Abriouel H, Lucas R, Gálvez A. Multiple roles of *Staphylococcus aureus* enterotoxins: pathogenicity, superantigenic activity, and correlation to antibiotic resistance. *Toxins (Basel)*. 2010;2(8):2117-31. doi:10.3390/toxins2082117.

164. DuMont AL, Yoong P, Surewaard BG. Staphylococcus aureus elaborates leukocidin AB to mediate escape from within human neutrophils. *Infect Immun*. 2013;81(5):1830-41. doi:10.1128/IAI.00095-13.
165. Ontoserver. The Shrimp browser v. Australia: National Clinical Terminology Service [Internet]; 2020 [cited 2020 Sep 5]. Available from: http://ontoserver.csiro.au/shrimp/?concept=406602003&version=http%3A%2F%2Fsnomed.info%2Fct%2F32506021000036107%2Fversion%2F20201031&valueset=http%3A%2F%2Fsnomed.info%2Fct%3Ffhir_vs.
166. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). Digitally-colored scanning electron micrograph (SEM) depicts two mustard-colored, rod-shaped carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [Internet]. Hans Newman; 2015 [cited 2020 March 27]. Available from: <https://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-photos/klebsiella-pneumoniae-photos/klebsiella-pneumoniae-micrograph.html>.
167. Holt KE, Wertheim H, Zadoks RN. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(27):3574-81. doi:10.1073/pnas.1501049112.
168. Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:4. doi:10.3389/fcimb.2018.00004.
169. Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol*. 2014;9(9):1071-81. doi:10.2217/fmb.14.48.
170. Banapurmath CR, Kallinath S, Banapurmath S, Kalliath A, Kesaree N. Congenital pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Indian Pediatr*. 1994;31(10):1264-6.
171. Boo NY, Ng SF, Lim VK. A case-control study of risk factors associated with rectal colonization of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella* sp. in newborn infants. *J Hosp Infect*. 2005;61(1):68-74. doi:10.1016/j.jhin.2005.01.025.

172. Sundaram V, Agrawal S, Chacham S, Mukhopadhyay K, Dutta S, Kumar P. *Klebsiella pneumoniae* brain abscess in neonates: a report of 2 cases. *J Child Neurol*. 2010;25(3):379-82. doi:10.1177/0883073809338326.
173. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. Philadelphia: Elsevier/Saunders. 2013. 262 p.
174. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. New York: Saunders. 2014. 1104 p.
175. Dorota P, Chmielarczyk A, Katarzyna L, Piotr M, Lauterbach J, et al. *Klebsiella pneumoniae* in breast milk - a cause of sepsis in neonate. *Arch Med*. 2017;9:1.
176. Sotgiu G, Are BM, Pesapane L. Nosocomial transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in an Italian university hospital: a molecular epidemiological study. *J Hosp Infect*. 2018;99(4):413-8. doi:10.1016/j.jhin.2018.03.033.
177. Rashid T, Ebringer A. Ankylosing spondylitis is linked to *Klebsiella* – the evidence. *Clin Rheumatol*. 2007;26(6):858-64. doi:10.1007/s10067-006-0488-7.
178. Ontoserver. The Shrimp browser v. Australia: National Clinical Terminology Service [Internet]; 2020 [cited 2020 Sep 5]. Available from: http://ontoserver.csiro.au/shrimp/?concept=186435004&version=http%3A%2F%2Fsnomed.info%2Fsct%2F32506021000036107%2Fversion%2F20201031&valueset=http%3A%2F%2Fsnomed.info%2Fsct%3Ffhir_vs.
179. Fajersztajn L, Veras MM. Hypoxia: From Placental Development to Fetal Programming. *Birth Defects Res*. 2017;109(17):1377-85. doi:10.1002/bdr2.1142.
180. Hutter D, Kingdom J, Jaeggi E. Causes and mechanisms of intrauterine hypoxia and its impact on the fetal cardiovascular system: a review. *Int J Pediatr*. 2010;2010:401323. doi:10.1155/2010/401323.
181. Ayres-de-Campos D. Acute Fetal Hypoxia/Acidosis. In: *Obstetric Emergencies*. Springer, Cham; 2017:7-25. doi:10.1007/978-3-319-41656-4_2.

182. Знаменська ТК, Похилько ВІ, Подольський ВВ. Гіпоксія плода та асфіксія новонародженого [монографія]. Київ; 2011. 451 с.
183. Kingdom JC, Kaufmann P. Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia. *Placenta*. 1997;18(8):613-21. doi:10.1016/s0143-4004(97)90000-x.
184. Clifton VL, Giles WB, Smith R, Bisits AT, Hempenstall PA, Kessell CG, Gibson PG. Alterations of placental vascular function in asthmatic pregnancies. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(4):546-53. doi:10.1164/ajrccm.164.4.2009119.
185. Åmark H, Sirotkina M, Westgren M, Papadogiannakis N, Persson M. Is obesity in pregnancy associated with signs of chronic fetal hypoxia? *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2020;99(12):1649-56. doi:10.1111/aogs.13941.
186. Johnson CT, Burd I, Raghunathan R, Northington FJ, Graham EM. Perinatal inflammation/infection and its association with correction of metabolic acidosis in hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Perinatol*. 2016;36(6):448-452. doi:10.1038/jp.2015.221
187. Chan YL, Saad S, Machaalani R, Oliver BG, Vissel B, Pollock C, Jones NM, Chen H. Maternal Cigarette Smoke Exposure Worsens Neurological Outcomes in Adolescent Offspring with Hypoxic-Ischemic Injury. *Front Mol Neurosci*. 2017;10:306. doi:10.3389/fnmol.2017.00306.
188. Franco P, Chabanski S, Szliwowski H, Dramaix M, Kahn A. Influence of maternal smoking on autonomic nervous system in healthy infants. *Pediatr Res*. 2000;47(2):215-20. doi:10.1203/00006450-200002000-00011.
189. Li Y, Xiao D, Dasgupta C, Xiong F, Tong W, Yang S, Zhang L. Perinatal nicotine exposure increases vulnerability of hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats: role of angiotensin II receptors. *Stroke*. 2012;43(9):2483-90. doi:10.1161/STROKEAHA.112.664698.
190. Keyes LE, Armaza JF, Niermeyer S, Vargas E, Young DA, Moore LG. Intrauterine growth restriction, preeclampsia, and intrauterine mortality at high altitude in Bolivia. *Pediatr Res*. 2003;54(1):20-5.

- doi:10.1203/01.PDR.0000069846.64389.DC.
191. Ryo E, Okai T, Kozuma S, Kobayashi K, Kikuchi A, Taketani Y. Influence of compression of the inferior vena cava in the late second trimester on uterine and umbilical artery blood flow. *Int J Gynaecol Obstet.* 1996;55(3):213-8. doi:10.1016/s0020-7292(96)02760-9.
 192. Lutfallah F, Oufkir N, Markou GA, Frimigacci D, Poncelet C. A Case of Umbilical Artery Thrombosis in the Third Trimester of Pregnancy. *Am J Case Rep.* 2018;19:72-5. doi:10.12659/ajcr.906859.
 193. Товажнянська ВД, Сорокіна ІВ, Андросов ЄД, винахідники. Харківський національний медичний університет, патентовласник. Спосіб морфологічної діагностики пошкоджуючої дії хронічної внутрішньоутробної гіпоксії на кору наднирників плода. Патент України на винахід № 115178. 2015 вер. 25.
 194. Nasiell J, Papadogiannakis N, Löf E, Elofsson F, Hallberg B. Hypoxic ischemic encephalopathy in newborns linked to placental and umbilical cord abnormalities. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(5):721-6. doi:10.3109/14767058.2015.1015984.
 195. Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell.* 2010;40(2):294-309. doi:10.1016/j.molcel.2010.09.022.
 196. Weidemann A, Johnson RS. Biology of HIF-1 α . *Cell Death Differ.* 2008;15(4):621-7. doi:10.1038/cdd.2008.12.
 197. D'Ignazio L, Shakir D, Batie M, Muller HA, Rocha S. HIF-1 β Positively Regulates NF- κ B Activity via Direct Control of TRAF6. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8):3000. doi:10.3390/ijms21083000.
 198. Taylor BL, Zhulin IB. PAS domains: internal sensors of oxygen, redox potential, and light. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1999;63(2):479-506. doi:10.1128/MMBR.63.2.479-506.1999.

199. Hsu TS, Lin YL, Wang YA, Mo ST, Chi PY, Lai AC, Pan HY, Chang YJ, Lai MZ. HIF-2 α is indispensable for regulatory T cell function. *Nat Commun.* 2020;11(1):5005. doi:10.1038/s41467-020-18731-y.
200. Qu H, Yu Q, Jia B, Zhou W, Zhang Y, Mu L. HIF-3 α affects preeclampsia development by regulating EVT growth via activation of the Flt-1/JAK/STAT signaling pathway in hypoxia. *Mol Med Rep.* 2021;23(1):68. doi:10.3892/mmr.2020.11701.
201. Yang QK, Wang XX, Wang Y, Ni N. Integrative Analysis Reveals the Landscape of Hypoxia-Inducible Factor (HIF) Family Genes in Pan-Cancer. *J Oncol.* 2020;2020:8873104. doi:10.1155/2020/8873104.
202. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol.* 2006;70(5):1469-80. doi:10.1124/mol.106.027029.
203. Zhu H, Zhang S. Hypoxia inducible factor-1 α /vascular endothelial growth factor signaling activation correlates with response to radiotherapy and its inhibition reduces hypoxia-induced angiogenesis in lung cancer. *J Cell Biochem.* 2018;119(9):7707-18. doi:10.1002/jcb.27120.
204. Rius J, Guma M, Schachtrup C, Akassoglou K, Zinkernagel AS, Nizet V, Johnson RS, Haddad GG, Karin M. NF-kappaB links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1 α . *Nature.* 2008;453(7196):807-11. doi:10.1038/nature06905.
205. Tintu AN, Noble FA, Rouwet EV. Hypoxia disturbs fetal hemodynamics and growth. *Endothelium.* 2007;14(6):353-60. doi:10.1080/10623320701746347.
206. Bae S, Xiao Y, Li G, Casiano CA, Zhang L. Effect of maternal chronic hypoxic exposure during gestation on apoptosis in fetal rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(3):H983-90. doi:10.1152/ajpheart.00005.2003.
207. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, Martinez-Avila N, Martinez-Fierro ML. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9739. doi:10.3390/ijms21249739.

208. Lawrence KM, Hennessy-Strahs S, McGovern PE, Mejaddam AY, Rossidis AC, Baumgarten HD, Bansal E, Villeda M, Han J, Gou Z, Zhao S, Rychik J, Peranteau WH, Davey MG, Flake AW, Gaynor JW, Bartoli CR. Fetal hypoxemia causes abnormal myocardial development in a preterm ex utero fetal ovine model. *JCI Insight*. 2018;3(24):e124338. doi:10.1172/jci.insight.124338.
209. Giussani DA. The fetal brain sparing response to hypoxia: physiological mechanisms. *J Physiol*. 2016;594(5):1215-30. doi:10.1113/JP271099.
210. Vali P, Lakshminrusimha S. The Fetus Can Teach Us: Oxygen and the Pulmonary Vasculature. *Children*. 2017; 4(8):67. doi:10.3390/children4080067.
211. Patterson AJ, Zhang L. Hypoxia and fetal heart development. *Curr Mol Med*. 2010;10(7):653-66. doi:10.2174/156652410792630643.
212. Barker DJP. Fetal origins of coronary heart disease. *British Medical Journal* 1995;311:171-174, Calkins K, Devaskar SU. Fetal origins of adult disease. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2011;41(6):158-76. doi:10.1016/j.cppeds.2011.01.001.
213. Ream M, Ray AM, Chandra R, Chikaraishi DM. Early fetal hypoxia leads to growth restriction and myocardial thinning. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;295(2):R583-95. doi:10.1152/ajpregu.00771.2007.
214. Neary MT, Breckenridge RA. Hypoxia at the heart of sudden infant death syndrome? *Pediatr Res*. 2013;74(4):375-9. doi:10.1038/pr.2013.122.
215. Shen G, Hu S, Zhao Z, Zhang L, Ma Q. Antenatal Hypoxia Accelerates the Onset of Alzheimer's Disease Pathology in 5xFAD Mouse Model. *Front Aging Neurosci*. 2020;12:251. doi:10.3389/fnagi.2020.00251.
216. Mach M, Dubovický M, Navarová J, Brucknerová I, Ujházy E. Experimental modeling of hypoxia in pregnancy and early postnatal life. *Interdiscip Toxicol*. 2009;2(1):28-32. doi:10.2478/v10102-009-0005-3.

217. Newby EA, Myers DA, Ducusy CA. Fetal endocrine and metabolic adaptations to hypoxia: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(5):E429-39. doi:10.1152/ajpendo.00126.2015.
218. Webster WS, Abela D. The effect of hypoxia in development. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2007;81(3):215-28. doi:10.1002/bdrc.20102.
219. Thompson L, Crimmins S, Telugu B, Turan S. Intrauterine hypoxia: clinical consequences and therapeutic perspectives. *Research and Reports in Neonatology*. 2015;75-9. doi:10.2147/RRN.S57990.
220. ТОВАЖНЯНСЬКА ВД. Вплив плодово-материнської інфекції на морфофункціональний стан надниркових залоз плода (клініко-експериментальне дослідження) [дисертація]. Харків: ХНМУ. 2018. 190 с.
221. Nakamura T, Ichii O, Sunden Y, Elewa YHA, Yoshiyasu T, Hattori H, et al. Slc:Wistar/ST rats develop unilateral thyroid dysgenesis: A novel animal model of thyroid hemiagenesis. *PLoS ONE*. 2019;14(8):e0221939. doi:10.1371/journal.pone.0221939.
222. Rosen RD, Sapra A. Embryology, Thyroid. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 Mar 9]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551611>.
223. Leung AM. Thyroid function in pregnancy. *J Trace Elem Med Biol*. 2012;26(2-3):137-40. doi:10.1016/j.jtemb.2012.03.004.
224. Allen E, Fingeret A. Anatomy, Head and Neck, Thyroid. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 Mar 9]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470452>.
225. Pixels. Thyroid Gland Blood Vessels, SEM [Internet]. Susumu Nishinaga; 2013 Jan [cited 2020 Feb 02]. Available from: <https://pixels.com/featured/1-thyroid-gland-blood-vessels-sem-susumu-nishinaga.html>.
226. MediaWiki. Scanning electron microscopy image of a normal thyroid cell adhered to Au surface [Internet]. Chronaki Dimitra, Siakouli Aleksandra; 2015 May [cited 2020 Aug 11]. Available from: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Normal_Thyroid_cell.jpg.

227. Kubarko AI, Yamashita S. Thyroid gland. Fundamental aspects. Nagasaki; 1998. 368 с.
228. Oxford Reference. Hurthle cells [Internet]. 2012 Feb [cited 2020 Sep 29]. Available from: <https://www.oxfordreference.com/view/10.1093/oi/authority.20110803095951618>.
229. Rasulov KA. Thyroid Cells Development under Thyreostatic Burdon. American Journal of Medicine and Medical Sciences. 2019;9(11):453-6. doi:10.5923/j.ajmms.20190911.10.
230. Держинський МЕ, Скрипник НВ, Гарматіна СМ. Загальна цитологія та гістологія, частина 2. Київ: видавничо-поліграфічний центр «Київський університет»; 2011. 223 с.
231. Sugiyama S. The embryology of the human thyroid gland including ultimobranchial body and others related. *Ergeb Anat Entwicklungsgesch.* 1971;44(2):3-111.
232. Di Jeso B, Arvan P. Thyroglobulin From Molecular and Cellular Biology to Clinical Endocrinology. *Endocr Rev.* 2016;37(1):2-36. doi:10.1210/er.2015-1090.
233. Boron W. Medical Physiology: A Cellular And Molecular Approach. Elsevier/Saunders. 2003. 1044 p.
234. Khan YS, Farhana A. Histology, Thyroid Gland. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 Mar 9]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551659>.
235. UNSW Embryology. Human thyroid system and neural development [Internet]. Hill, M.A.; 2010 Aug [cited 2020 Aug 16]. Available from: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Endocrine_-_Thyroid_Development#/media/File:Human_thyroid_system_and_neural_development.jpg.
236. Pascual A, Aranda A. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(7):3908-16. doi:10.1016/j.bbagen.2012.03.012.

237. Mullur R, Liu YY, Brent GA. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol Rev.* 2014;94(2):355-82. doi:10.1152/physrev.00030.2013.
238. Dorgalaleh A, Mahmoodi M, Varmaghani B, Kiani Node F, Saeedi Kia O, Alizadeh S, Tabibian S, Bamedi T, Momeni M, Abbasian S, Kashani KZ. Effect of thyroid dysfunctions on blood cell count and red blood cell indice. *Iranian journal of pediatric hematology and oncology.* 2013;3(2):73-7.
239. Muscogiuri G, Tirabassi G, Bizzaro G. Vitamin D and thyroid disease: to D or not to D? *Eur J Clin Nutr.* 2015;69:291-296.
<https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.265>.
240. Bauer M, London ED, Silverman DH, Rasgon N, Kirchheiner J, Whybrow PC. Thyroid, brain and mood modulation in affective disorder: insights from molecular research and functional brain imaging. *Pharmacopsychiatry.* 2003;36 Suppl 3:S215-21. doi:10.1055/s-2003-45133.
241. Das DK, Bandyopadhyay D, Bandyopadhyay S, Neogi A. Thyroid hormone regulation of beta-adrenergic receptors and catecholamine sensitive adenylate cyclase in foetal heart. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1984;106(4):569-76. doi:10.1530/acta.0.1060569.
242. Мота ОМ, Серкіз СР. Порівняльна анатомія щитоподібної залози людини та щура. *Морфологія.* 2019;2(2):210-3. doi:10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-210-213.
243. Mansingh RS, Mahesh ST, Santosh D. Morphological variations of the thyroid gland. *Internacional J. of Healthcare and Biomedical Research.* 2015;03(02):175-7.
244. Kulkarni V, Sripadma S, Deshpande SK. Morphological variation of thyroid gland. *Medica Innovatica.* 2012;1(2):36-8.
245. Марковський ВД, Сорокіна ІВ, Калужина ОВ, Сакал АО. Морфофункціональний стан печінки потомства щурів із фізіологічною вагітністю в ранньому постнатальному періоді. *Експериментальна і клінічна медицина.* 2015;67(2):35-7.

246. Сорокіна ІВ, Мирошніченко МС, Іванова МД. Морфологічні особливості нирок плодів та новонароджених від матерів з підгострим інфекційно-запальним процесом у черевній порожнині, викликаним *Escherichia coli* (експериментальне дослідження). Нирки. 2018;7(1):18-25.
247. Nfambi J, Bbosa GS, Sembajwe LF, Gakunga J, Kasolo JN. Immunomodulatory activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in Wistar albino rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2015;26(6):603-11. doi:10.1515/jbcpp-2014-0104.
248. Wei D, Tang K, Wang Q, Estill J, Yao L, Wang X, Chen Y, Yang K. The use of GRADE approach in systematic reviews of animal studies. *J Evid Based Med*. 2016;9(2):98-104. doi:10.1111/jebm.12198.
249. Si Y, Weng C. An OMOP CDM-Based Relational Database of Clinical Research Eligibility Criteria. *Stud Health Technol Inform*. 2017;245:950-4.
250. Observational Health Data Sciences and Informatics. Chapter 4 The Common Data Model. *The Book of OHDSI*. USA: Columbia. 2019. 458 p.
251. McMullin TS, Lowe ER., Bartels MJ, Marty MS. Dynamic Changes in Lipids and Proteins of Maternal, Fetal, and Pup Blood and Milk during Perinatal Development in CD and Wistar Rats. *Toxicological Sciences*. 2008;105(2):260-274. doi:10.1093/toxsci/kfn124.
252. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC et al. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010;8(6):e1000412.
253. Carl Zeiss Microscopy GmbH. Software GuideZEN 2 (blue edition). Germany: Göttingen. 2014. 309 p.
254. Jensen EC. Quantitative analysis of histological staining and fluorescence using ImageJ. *Anat Rec (Hoboken)*. 2013;296(3):378-81. doi:10.1002/ar.22641.
255. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 2012;9(7):671-5. doi:10.1038/nmeth.2089.

256. Гаргін ВВ. Функціональна морфологія щитовидних залоз плодів та новонароджених від матерів з окремими видами екстрагенітальної патології, гестозом [дисертація]. Харків: ХМІ. 1999. 172 с.
257. Шерстюк СО. Патологічна анатомія органів імунної системи плодів і дітей раннього віку від ВІЛ-інфікованих матерів [дисертація]. Харків: ХНМУ. 2008. 212 с.
258. Романюк АМ, Карпенко ЛІ. Морфологічні особливості структурних змін щитовидної залози при різних видах її патології. Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. 2003;9(55):54-6.
259. Boelaert K, Franklyn JA. Thyroid hormone in health and disease, *Journal of Endocrinology*. 2000;187(1):1-15. Available from: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/187/1/1870001.xml>.
260. Cicatiello AG, Di Girolamo D, Dentice M. Metabolic Effects of the Intracellular Regulation of Thyroid Hormone: Old Players, New Concepts. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:474. doi:10.3389/fendo.2018.00474.
261. Drobnik J, Ciosek J, Slotwinska D, Stempniak B, Zukowska D, et. al. Experimental hypothyroidism increases content of collagen and glycosaminoglycans in the heart. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60(3):57-62.
262. Wajner SM, Goemann IM, Bueno AL, Larsen PR, Maia AL. IL6 promotes nonthyroidal illness syndrome by blocking thyroxine activation while promoting thyroid hormone inactivation in human cells. *J Clin Invest*. 2011;121(5):1834-45. doi:10.1172/JCI44678.
263. Ohmori M, Harii N, Endo T, Onaya T. Tumor necrosis factor-alpha regulation of thyroid transcription factor-1 and Pax-8 in rat thyroid FRTL-5 cells. *Endocrinology*. 1999;140(10):4651-8. doi:10.1210/endo.140.10.7021.
264. NIH. ImageJ: Analyze menu [Internet]. USA: Bethesda [cited 2020 May 20]. Available from: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/analyze.html>.
265. Bioimaging facility of University of Geneva. Basic Intensity Quantification with ImageJ [Internet]. Geneva: University of Geneva; [cited 2020 Jun 6].

- Available from: <https://www.unige.ch/medecine/bioimaging/files/1914/1208/6000/Quantification.pdf>.
266. Ggplot2. Reference [Internet]. Hadley Wickham, Winston Chang, Lionel Henry, Thomas Lin Pedersen, Kohske Takahashi, Claus Wilke, Kara Woo, Hiroaki Yutani, Dewey Dunnington, RStudio; 2020 Mar [cited 2020 May 20]. Available from: <https://ggplot2.tidyverse.org/reference>.
 267. Dplyr. Overview [Internet]. Hadley Wickham, Romain François, Lionel Henry, Kirill Müller, RStudio; 2020 Jun [cited 2020 Jul 21]. Available from: <https://dplyr.tidyverse.org>.
 268. The Comprehensive R Archive Network. Pastecs: Package for Analysis of Space-Time Ecological Series [Internet]. Philippe Grosjean, Frederic Ibanez, Michele Etienne; 2018 Mar [cited 2020 Jul 21]. Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/pastecs/index.html>.
 269. The Comprehensive R Archive Network. The R Manuals [Internet]. R Development Core Team; 2018 Mar [cited 2020 Jul 21]. Available from: <https://stat.ethz.ch/R-manual/R-devel/library/graphics/html/00Index.html>.
 270. Mishra P, Pandey CM, Singh U, Gupta A, Sahu C, Keshri A. Descriptive statistics and normality tests for statistical data. *Ann Card Anaesth*. 2019;22(1):67-72. doi:10.4103/aca.ACA_157_18.
 271. Arsham H, Lovric M, editors. Bartlett's Test. In: Lovric M. (eds) *International Encyclopedia of Statistical Science*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2011. 57 p. doi:10.1007/978-3-642-04898-2_132.
 272. Vélez JI, Correa JC, Marmolejo-Ramos F. A new approach to the Box–Cox transformation. *Frontiers in Applied Mathematics and Statistics*. 2015;1:12. doi:10.3389/fams.2015.00012.
 273. Rouder JN, Engelhardt CR, McCabe S, Morey RD. Model comparison in ANOVA. *Psychon Bull Rev*. 2016;23(6):1779-86. doi:10.3758/s13423-016-1026-5.
 274. Vickerstaff V, Omar R, Ambler G. Methods to adjust for multiple comparisons in the analysis and sample size calculation of randomised controlled trials with

- multiple primary outcomes. *BMC Med Res Methodol.* 2019;19:129.doi:10.1186/s12874-019-0754-4.
275. Benjamini Y, Braun H, John W. Tukey's contributions to multiple comparisons. *Annals of Statistics.* 2002;30:1576-94.
 276. Suresh K. An overview of randomization techniques: An unbiased assessment of outcome in clinical research. *J Hum Reprod Sci.* 2011;4(1):8-11. doi:10.4103/0974-1208.82352.
 277. Lim CY, In J. Randomization in clinical studies. *Korean J Anesthesiol.* 2019;72(3):221-32. doi:10.4097/kja.19049.
 278. Efird J. Blocked randomization with randomly selected block sizes. *Int J Environ Res Public Health.* 2011;8(1):15-20. doi:10.3390/ijerph8010015.
 279. PostgreSQL. PostgreSQL 13.4 Documentation [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://www.postgresql.org/docs/current>.
 280. Leary S, Underwood MW, Anthony R, Gwaltney-Brant S, Poison AS, Meyer R. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals [Internet]. In: AMVA, Schaumburg, Illinois. 2020 [cited 2020 Mar 11]. 28 p. Available online: <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>.
 281. Becker RA, Janus ER, White RD, Kruszewski FH, Brackett RE. Good laboratory practices and safety assessments. *Environ Health Perspect.* 2009;117(11):A482-3. doi:10.1289/ehp.0900884.
 282. Shreffler J, Huecker MR. Exploratory Data Analysis: Frequencies, Descriptive Statistics, Histograms, and Boxplots. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 1]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557570>.
 283. RDocumentation. TukeyHSD: Compute Tukey Honest Significant Differences [Internet]. Stats 3.6.2 [cited 2020 Oct 1]. Available from: <https://www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2/topics/TukeyHSD>.
 284. Зверева ІС. Вплив материнсько-плодової інфекції на морфофункціональний стан легеневої артерії та аорти плодів та новонароджених [дисертація]. Харків: ХНМУ; 2021. 215 с.

285. Liu J. The “life code”: A theory that unifies the human life cycle and the origin of human tumors. *Semin Cancer Biol.* 2020;60:380-97.
doi:10.1016/j.semcancer.2019.09.005.
286. Pereira D, Richert A, Medjkane S, Hénon S, Weitzman JB. Cell geometry and the cytoskeleton impact the nucleo-cytoplasmic localisation of the SMYD3 methyltransferase. *Sci Rep.* 2020;10(1):20598. doi:10.1038/s41598-020-75833-9.
287. Nieburgs HE. Nuclear/Cytoplasmic Ratio (N/C) and Nuclear Chromatin. *Diagnostic cell pathology in tissue and smears.* 1967;1:15-6.
288. Wesley CC, Mishra S, Levy DL. Organelle size scaling over embryonic development. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2020 Sep;9(5):e376. doi:10.1002/wdev.376.
289. Lee SY. Perinatal factors associated with neonatal thyroid-stimulating hormone in normal newborns. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2016 Dec;21(4):206-211. doi:10.6065/apem.2016.21.4.206.
290. Anifantaki F, Pervanidou P, Lambrinoudaki I, Panoulis K, Vlahos N, Eleftheriades M. Maternal Prenatal Stress, Thyroid Function and Neurodevelopment of the Offspring: A Mini Review of the Literature. *Front Neurosci.* 2021;15:692446. doi:10.3389/fnins.2021.692446.
291. Huang HC, Chiang SJ, Wen SH, et al. Three-dimensional nucleus-to-cytoplasm ratios provide better discrimination of normal and lung adenocarcinoma cells than in two dimensions. *J Biomed Opt.* 2019;24(8):1-4. doi:10.1117/1.JBO.24.8.080502.
292. Elkalawy S, Abo-Elnour R, El Deeb D, Yousry M. Histological and immunohistochemical study of the effect of experimentally induced hypothyroidism on the thyroid gland and bone of male albino rats. *The Egyptian Journal of Histology.* 2013;36:92-102.
doi:10.1097/01.EHX.0000424169.63765.ac.

293. Fekete C, Lechan RM. Central Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis Under Physiological and Pathophysiological Conditions. *Endocrine Reviews*. 2014;35(2):159-194. doi:10.1210/er.2013-1087.
294. Mariotti S, Beck-Peccoz P. Physiology of the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis. [Updated 2021 Apr 20]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278958>.
295. Holtorf K. Peripheral Thyroid Hormone Conversion and Its Impact on TSH and Metabolic Activity. *Journal of Restorative Medicine*. 2014;3(1):30-52. doi:10.14200/jrm.2014.3.0103.
296. Pirahanchi Y, Toro F, Jialal I. Physiology, Thyroid Stimulating Hormone. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 9]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499850>.
297. Schroeder AC, Privalsky ML. Thyroid hormones, T3 and T4, in the brain. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014;5:40. doi:10.3389/fendo.2014.00040.
298. Sabatino L, Vassalle C, Del Seppia C, Iervasi G. Deiodinases and the Three Types of Thyroid Hormone Deiodination Reactions. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2021;36(5):952-964. doi:10.3803/EnM.2021.1198.
299. Талапова ПС, Сорокіна ІВ. Морфофункціональний стан щитовидної залози плода на тлі материнсько-плодових інфекцій, спричинених *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*. *Патологія*. 2021;51(1):86-95. doi:10.14739/2310-1237.2021.1.216292.
300. Nilsson M, Fagman H. Development of the thyroid gland. *Development*. 2017;144(12):2123-40. doi:10.1242/dev.145615.
301. Burgi U, Feller C, Gerber AU. Effects of an acute bacterial infection on serum thyroid hormones and nuclear triiodothyronine receptors in mice. *Endocrinology*. 1986;119(2):515-21. doi:10.1210/endo-119-2-515.
302. Kwakkel J, Fliers E, Boelen A. Illness-induced changes in thyroid hormone metabolism: focus on the tissue level. *Neth J Med*. 2011;69(5):224-8.

303. Asgari M, Latifi N, Heris HK, Vali H, Mongeau L. In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics. *Sci Rep.* 2017;7(1):1392. doi:10.1038/s41598-017-01476-y.
304. Peng S, Li C, Wang X, et al. Increased Toll-Like Receptors Activity and TLR Ligands in Patients with Autoimmune Thyroid Diseases. *Front Immunol.* 2016;7:578. doi:10.3389/fimmu.2016.00578.
305. Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M. Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care part II: clinical implications. *J Intensive Care Med.* 2011;26(2):73-87. doi:10.1177/0885066610384188.
306. Boyle JJ. Macrophage activation in atherosclerosis: pathogenesis and pharmacology of plaque rupture. *Curr Vasc Pharmacol.* 2005;3(1):63-8. doi:10.2174/1570161052773861.
307. Wajant H, Siegmund D. TNFR1 and TNFR2 in the Control of the Life and Death Balance of Macrophages. *Front Cell Dev Biol.* 2019;7:91. doi:10.3389/fcell.2019.00091.
308. Ivanov AV, Bartosch B, Isagulants MG. Oxidative Stress in Infection and Consequent Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:3496043. doi:10.1155/2017/3496043.
309. Lanté F, Meunier J, Guiramand J, et al. Neurodevelopmental damage after prenatal infection: role of oxidative stress in the fetal brain. *Free Radic Biol Med.* 2007;42(8):1231-45. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.027.
310. Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, Olivieri G, Silvestrini A, Meucci E, Currò D. Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation. *Mediators of inflammation.* 2016;6757154. doi:10.1155/2016/6757154.
311. Кихтенко ОВ, Губіна-Вакулик ГІ, Гольєва НВ. Особливості експресії каспази-3 компонентами гематоенцефалічного бар'єра при перинатальному гіпоксичному ушкодженні. *Українські медичні вісті.* 2014;11(1-4):429.

312. Rajaii F, McCoy AN, Smith TJ. Cytokines are both villains and potential therapeutic targets in thyroid-associated ophthalmopathy: From bench to bedside. *Expert review of ophthalmology*. 2014;9(3):227-34. doi:10.1586/17469899.2014.917960.
313. Panicker V. Genetics of thyroid function and disease. *The Clinical biochemist. Reviews*. 2011;32(4):165-75.
314. Талапова ПС. Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків. *Проблеми ендокринної патології*. 2021;76(2):93-101. doi:10.21856/j-PER.2021.2.13.
315. Талапова ПС, Товажнянська ВД, Сорокіна ІВ. Патоморфологічна діагностика шкідливого впливу материнсько-плодових інфекцій, що викликані *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, та *Klebsiella pneumoniae*, на щитовидні та надниркові залози нащадків. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2021;123(2):25.
316. Talapova PS, Sorokina IV, Markovsky VD, Sakal AO, Tovazhnyanska VD, Zveryeva IS. The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring. *J Human Anat* 2021, 5(1):e1-7. doi:10.23880/jhua-16000156.

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Талапова ПС. Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків. Проблеми ендокринної патології. 2021;76(2):93-101. doi:10.21856/j-PER.2021.2.13.

2. Талапова ПС, Сорокіна ІВ. Морфофункціональний стан щитовидної залози плода на тлі материнсько-плодових інфекцій, спричинених *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*. Патологія. 2021;51(1):86-95. doi:10.14739/2310-1237.2021.1.216292. *(Дисертантка розробила концепцію та дизайн дослідження, збрала дані, провела аналіз та інтерпретацію даних, написала статтю та підготувала її до друку).*

3. Талапова ПС, Товажнянська ВД, Сорокіна ІВ. Патоморфологічна діагностика шкідливого впливу материнсько-плодових інфекцій, що викликані *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, та *Klebsiella pneumoniae*, на щитовидні та надниркові залози нащадків (мініюгляд). Український науково-медичний молодіжний журнал. 2021;123(2):25. *(Дисертантка разом зі співавторами провела забір та вивчення експериментального матеріалу, провела аналіз та інтерпретацію даних, написала статтю та підготувала її до друку).*

4. Talapova PS, Sorokina IV, Markovsky VD, Sakal AO, Tovazhnyanska VD, Zveryeva IS. The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring. J Human Anat 2021, 5(1):e1-7.doi:10.23880/jhua-16000156. *(Дисертантка разом зі співавторами сформулювала концепцію роботи, самостійно провела забір щитовидних залоз, визначила та описала морфологічні зміни в них, визначила основні морфологічні*

критерії діагностики патології, що вивчається, написала текст статті та підготувала її до друку).

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

5. Талапова ПС. Вплив хронічної внутрішньоутробної гіпоксії на морфофункціональний стан щитовидної залози плода щурів (експериментальне дослідження) [тези доп.]. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментально-клінічної ендокринології» (Дев'ятнадцяті Данилевські читання); 2020 лют. 27-28; Харків, Україна. Харків; 2020. Т.1. с.164.

6. Талапова ПС. Морфометричні показники щитовидної залози плода від матері з колі-інфекцією [тези доп.]. В: Збірка матеріалів конференції «Медицина третього тисячоліття»; 2020 січ 20-22; Харків; 2019. Т1. с. 74.

7. Талапова ПС. Морфофункціональні особливості щитовидної залози плода за умов материнсько-плодової інфекції, спричиненої *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* (експериментальне дослідження) [тези доп.]. В: XVII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини», яка присвячена 215-річчю заснування медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна; 2020 бер 26-27; м. Харків, Україна. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2020. Т1. с. 234.

8. Talapova PS, Sorokina IV. A method for morphofunctional evaluation of the thyroid gland in a PhD research project [abstract]. ORPHEUS Conference; 2021 apr 22; Braga, Portugal. Braga: School of Medicine, University of Minho; 2021. p.34.

9. Talapova PS. Histomorphometric and immunohistochemical analysis of the thyroid gland of rat offspring developing under the maternalfetal *Staphylococcal* infection [abstract]. The 18th International Scientific Conference of Students, Young Scientists and Specialists “Topical issues of modern medicine”. 2021 Apr 22-23. Kharkiv, 2021; с. 258-9.

Відомості про апробацію результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи були викладені та обговорені на таких наукових заходах:

1. *Міжнародній науковій міждисциплінарній конференції «ISIC-2019»* (м. Харків, Україна, 18-20 вересня 2019 р., усна доповідь);
2. *IX З'їзді ендокринологів України* (Харків, Україна, 19-22 листопада 2019 р.);
3. *Фестивалі молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття»* (м. Харків, Україна, 20-22 січня 2020 р., усна доповідь);
4. *Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментально-клінічної ендокринології» (Дев'ятнадцяті Данилевські читання)* (м. Харків, Україна, 27-28 лютого 2020 р., усна доповідь);
5. *XVII Міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та спеціалістів «Актуальні питання сучасної медицини», присвяченій 215-річчю від дня заснування медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна* (м. Харків, Україна, 1-2 жовтня 2020 р., публікація тез);
6. *ORPHEUS Conference* (м. Брага, Португалія, 22 квітня 2021 р.); *Міжнародній науково-практичній онлайн-конференції «Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку»*. (м. Київ, Україна, 22-23 квітня 2021 р., стендова доповідь);
7. *XVIII Міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»* (м. Харків, Україна, 22-23 квітня, 2021 р., усна доповідь);
8. *Науково-практичній онлайн конференції «Патоморфологія XXI: виклики та тренди»* (м. Київ, Україна, 11 червня 2021 р., усна доповідь).



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора з науково – педагогічної роботи

ОНМедУ

Ірина ШМАКОВА

2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків».
2. **Установа-розробник:** Харківський національний медичний університет, МОЗ України, кафедра патологічної анатомії, асистент Талапова Поліна Сергіївна (61022, м. Харків, пр. Науки, 4), 2021р.
3. **Джерела інформації:** Талапова ПС. Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків. Проблеми ендокринної патології. 2021;76(2):93-101. doi:10.21856/j-PER.2021.2.13
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** вересень – грудень 2021 р.
6. **Форми впровадження:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри.
Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 2 від 13.09. 2021 р.).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри нормальної та
патологічної клінічної анатомії
Одеського національного
медичного університету

Олена АНШЕЛЬХАНС

Додаток Б.1



В.о. проректора з науково – педагогічної роботи
Ірина ШМАКОВА
2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: «The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring» [Комплексні морфологічні критерії діагностики субклінічної бактеріальної материнсько-плодової інфекції у нащадків].

2. Установа-розробник: Харківський національний медичний університет, МОЗ України, кафедра патологічної анатомії, асистент Талапова Поліна Сергіївна, (61022, м. Харків, пр. Науки, 4), 2021р.

3. Джерела інформації: Zveryeva IS. The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring. J Human Anat 2021, 5(1):1 – 7. doi:10.23880/jhua-16000156.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету.

5. Термін впровадження: вересень – грудень 2021 р.

6. Форми впровадження: в навчальний процес та наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 2 від 13.09. 2021 р.).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри нормальної та
патологічної клінічної анатомії
Одеського національного
медичного університету

Олена АППЕЛЬХАНС

Додаток Б.2



начальник Комунальної установи

«Одеське обласне патологоанатомічне бюро»,

В.П. Бурлаченко

«04» жовтня 2021 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring» [Комплексні морфологічні критерії діагностики субклінічної бактеріальної материнсько-плодової інфекції у нащадків].
2. Ким і коли запропонований Талаповою Поліною Сергіївною, Сорокіною Іриною Вікторівною, Марковським Володимиром Дмитровичем, Сакал Ганною Олександрівною, Товажнянською Вірою Дмитрівною та Зверєвою Іриною Сергіївною (61022, м. Харків, пр. Науки, 4), 2021р.
3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Talapova PS, Sorokina IV, Markovsky VD, Sakal AO, Tovazhnyanska VD, Zveryeva IS. The Comprehensive Morphological Criteria for the Diagnosis of Subclinical Bacterial Maternal-Fetal Infection in Offspring. J Human Anat 2021, 5(1):1 – 7. doi:10.23880/jhua-16000156.
4. Де і коли впроваджено: Комунальна установа «Одеське обласне патологоанатомічне бюро», 2021 р.
5. Результати застосування методу за період з січня по жовтень 2021 р.: отримані результати дозволили морфологічно діагностувати вплив материнсько-плодової інфекції на організм нащадків, які загинули раптово.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): результати, що дозволяють удосконалити морфологічну діагностику інфекційної патології у мертвонароджених дітей.
7. Зауваження, пропозиції: немає.

Відповідальний(і) за впровадження: Зав. дитячим і гінекологічним патологоанатомічним відділенням КУ «Одеське обласне патологоанатомічне бюро» О.Ю. Дегтярь

04.10.2021

(дата)

[Signature]

(підпис)

Додаток Б.3


ЗАТВЕРДЖУЮ

 начальник Комунальної установи
 «Одеське обласне патологоанатомічне бюро»,
В.П. Бурлаченко
 «04» _____ 2021 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків».
2. Ким і коли запропонований Талаповою Поліною Сергіївною (61022, м. Харків, пр. Науки, 4), 2021р.
3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Талапова ПС. Спосіб морфологічної діагностики впливу бактеріальної материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків. Проблеми ендокринної патології. 2021;76(2):93-101. doi:10.21856/j-PER.2021.2.13..
4. Де і коли впроваджено: Комунальна установа «Одеське обласне патологоанатомічне бюро», 2021 р.
5. Результати застосування методу за період з січня по жовтень 2021 р.: отримані результати дозволили морфологічно діагностувати вплив материнсько-плодової інфекції на щитовидну залозу нащадків, які загинули раптово.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): результати, що дозволяють удосконалити морфологічну діагностику інфекційної патології у мертвонароджених дітей.
7. Зауваження, пропозиції: немає.

Відповідальний(і) за впровадження: Зав. дитячим і гінекологічним патологоанатомічним відділенням КУ «Одеське обласне патологоанатомічне бюро» О.Ю. Дегтярь

04.10.2021р.
(дата)


(підпис)

orpheus

CERTIFICATE

ORPHEUS CONFERENCE 2021

Online from Braga, Portugal

22 – 24 April 2021

To certificate the attendance of

POLINA TALAPOVA

Assinado por : **JOANA DE ALMEIDA SANTOS**
PACHECO PALHA
Num. de Identificação: B1085490890

Joana Palha, PhD
Conference president

A METHOD FOR MORPHOFUNCTIONAL EVALUATION OF THE THYROID GLAND IN A PHD RESEARCH PROJECT

Polina Talapova, MD, Ph.D. student, Iryna Sorokina, MD, D.Sc.
The Department of Pathological Anatomy of Kharkiv National Medical University, Ukraine



Topicality: A lot of medical Ph.D. programs involve experimental research, which has to be successfully conducted by a Ph.D. student in a limited time frame. In developing countries, the problem is that the classical methods of obtaining and processing the results are old-fashioned, time-consuming, and do not guarantee the accuracy, reproducibility, and repeatability of the research. Thus, we propose the method for morphofunctional evaluation of the thyroid gland, which is a key organ in human ontogenesis.

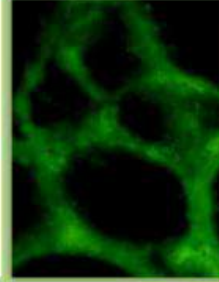
Materials and methods:

- **Controlled experimental study** on modelling intrauterine infection and chronic intrauterine hypoxia in Wistar Albino Glaxo rats (n = 95) with block randomization in order to obtain progeny.
- **Randomized pathomorphological study of offspring's thyroid glands** (n=88) with the use of H&E and Mallory trichrome stain, optical microscopy, morphometry and immunofluorescence study in *ImageJ* software.
- **Statistical analysis** using programming language of R.

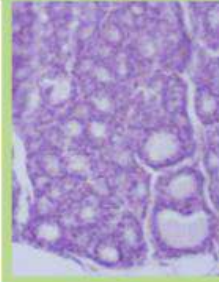


Results. To carry out an pathomorphological study focused on morphofunctional changes of the thyroid gland under particular pathological conditions, we propose to follow the next steps:

- Randomization of specimen processing by the assignment of unique twelve-digit codes generated with the use of SQL for each histological sample by a disinterested person;
- Blind morphometry of the thyroid gland using a Java-based image processing program *ImageJ*. The following parameters are recommended to be measured: area and Feret's diameter of the follicle, area and height of the thyrocyte, square of the thyrocyte cytoplasm and nucleus. The nuclear-cytoplasmic ratio is calculated upon the standard formula. The minimum numbers of measured follicles and thyrocytes should be 12 and 22 for one microscopic field of view, respectively;
- Blind quantitative immunofluorescent analysis of the thyroid maturity and functional activity via *ImageJ*. For this purpose, the mean optical density of at least 100 points has to be measured in automatically defined regions of fluorescence. As a gold standard, we recommend using monoclonal antibodies to thyroxin (T4), collagens of type I and III, IL-6, and TNF- α .
- Unblinding;



Fluorescence of T4 in the thyroid gland of rat offspring, 600x



The thyroid gland of the newborn with chronic intrauterine hypoxia, 400x.

- Statistical analysis with the utilization of the RStudio environment with the installation of "ggplot2", "dplyr", "pastecs", and "graphics" packages in order to define central tendency and variability of datasets, Shapiro-Wilk test for normality, Bartlett's test to check equality of variances across multiple samples, Box-Cox method for data normalization, one-way analysis of variance (ANOVA) to compare mean values of quantitative variables, post hoc Tukey's test to control the family-wise error. The null hypothesis is rejected if the probability of error (p) did not exceed the Type I error set 0.001 (p < 0.001).

Perspectives. The method will help Ph.D. students in Experimental Medicine to obtain precise and statistically significant results in their studies based on the morphofunctional evaluation of the thyroid gland. Especially, this may increase the compliance of Ph.D. programs in developing countries with developed ones.



Ministry of education and science of Ukraine
V. N. Karazin Kharkiv National University
School of medicine



DIPLOMA

Talapova P.S

I place

awarded to for participation at the XVIII International scientific conference of students,
young scientists and specialists

«Topical issues of modern medicine»

that is dedicated to the 25th anniversary of the Department of General and Clinical Pathology
of the School of medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University!

**22 - 23
APRIL | 2021**



Igor BELOZOROV

Dean of School of medicine





МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені О. О. БОГОМОЛЦЯ
СЕРТИФІКАТ ЗАПРОШЕНОГО СПІКЕРА № 1

Талапова Поліна Сергіївна

за внесок у розвиток науки України
та доповідь на Міжнародній медичній он-лайн конференції
(посвідчення №151 від 04 лютого 2021 року)

**«НАУКОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПАТОЛОГОАНАТОМІВ УКРАЇНИ:
ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ»**

22-23 квітня 2021 року

Проф. Л.М. Захарчука

Голова робочої групи з питань науки
в Асоціації патологоанатомів України

Проф. С.Г. Гичка

Голова Асоціації патологоанатомів України

Проф. А.М. Романюк

Голова робочої групи з питань
міжнародних зв'язів
в Асоціації патологоанатомів України

30 кредитів безперервного професійного розвитку

Додаток Г

26.10.2013 (10 доба експерименту)

№ клітки	Кількість тварин	Код клітки	Декодер	Час	Маніпуляція	Кількість мікробних клітин	Результат
1	5	773350750562	MC1	10:30	Імітація інфікування – інтраперитонеальне введення 2 мл води для ін'єкцій.	0	Усі тварини добре перенесли маніпуляцію.
2	5	799667598260	MC2			0	
3	5	755484217312	MEC1	12:00	Інфікування (1) – інтраперитонеальне введення 1 мл м'ясопептонного бульйону та суспензії мікробних клітин убитих нагріванням та розведених у 0,1 мл 20% розчину манітолу.	300×10^6	Усі тварини добре перенесли маніпуляцію.
4	5	736113133747	MEC2			500×10^6	
5	5	737725204416	MEC3			1×10^9	
6	5	750519853644	MEC4			$1,5 \times 10^9$	
7	5	790050120046	MEC5			2×10^9	
8	5	731511265738	MSA1	13:30	Інфікування (1) – інтраперитонеальне введення 1 мл м'ясопептонного бульйону та суспензії мікробних клітин убитих нагріванням та розведених у 0,1 мл 20% розчину манітолу.	400×10^6	Усі тварини добре перенесли маніпуляцію.
9	5	700339197973	MSA2			200×10^6	
10	5	728684180230	MSA3			800×10^6	
11	5	787783106183	MSA4			1×10^9	
12	5	786578223155	MSA5			2×10^9	
13	5	793148466153	МКР1	15:00	Інфікування (1) – інтраперитонеальне введення 1 мл м'ясопептонного бульйону та суспензії мікробних клітин убитих нагріванням у кількості убитих нагріванням та розведених у 0,1 мл 20% розчину манітолу.	300×10^6	Усі тварини добре перенесли маніпуляцію.
14	5	745213703020	МКР2			500×10^6	
15	5	724186159298	МКР3			1×10^9	
16	5	740089793317	МКР4			2×10^9	
17	5	705845755479	МКР5			100×10^6	
18	5	753011481557	МСІН1	16:30	Спостереження.	0	Усі тварини живі, активні, фізіологічні показники в нормі.
19	5	776918707089	МСІН2			0	
Всього	95						

Облікова картка експериментальної тварини №1

Тип тварини: Самиця щура, мати

Унікальний ідентифікаційний код тварини: 853914368572

Тип експериментального впливу: Високогірна гіпоксія

Доза впливу: 258 mm[Hg]

Номер клітки під час включення тварини до експерименту: 776918707089

Дата входу тварини до експерименту: 2013-10-15

Коротка назва групи, до якої була включена тварина: МН

Номер клітки під час виключення тварини з експерименту: 753011481556

Дата виходу тварини з експерименту: 2013-12-06

Тип виходу тварини з експерименту: Декапітація

Причина виходу тварини з експерименту: Primary milestone 1B - Отримання плодів щурів від матерів з ХВГ

Вага тварини: 218,61 г

Температура тіла на момент включення в експеримент: 39,5 °C

Облікова картка експериментальної тварини №142

Тип тварини: Плід щура

Унікальний ідентифікаційний код тварини: 802042191197

Тип експериментального впливу: S. aureus інфекція у матері та плоду під час вагітності

Доза впливу: 1×10^9

Номер клітки під час включення тварини до експерименту: 787783106183

Дата входу тварини до експерименту: 2013-12-06

Коротка назва групи, до якої була включена тварина: FSA

Номер клітки під час виключення тварини з експерименту: 731511265737

Дата виходу тварини з експерименту: 2013-12-06

Тип виходу тварини з експерименту: Внутрішньоутробна загибель у зв'язку з евтаназією матері

Причина виходу тварини з експерименту: Primary milestone 1B - Отримання плодів щурів від матерів з ХВГ

Вага тварини: 3,61 г

Довжина тіла: 3,83 см

Довжина хвоста: 1,25 см

Середнє значення площі фолікула: 493.89 μm^2

Середнє значення діаметра фолікула: 19.42 μm

Середнє значення площі колоїда: 128.88 μm^2

Середнє значення висоти тироцита: 12.37 μm

Середнє значення площі цитоплазми: 65.37 μm^2

Середнє значення площі ядра: 41.79 μm^2

Середнє значення ядерно-цитоплазматичного відношення: 0.56

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції тироксину: 86.83 log

Середнє значення площі флуоресценції тироксину: 168787 pixel^2

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції колагена I типу: 51.52 log

Середнє значення площі флуоресценції колагену I типу: 98203 pixel^2

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції колагену III типу: 49.73 log

Середнє значення площі флуоресценції колагену III типу: 57478 pixel^2

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції інтерлейкіна-6: 43.10 log

Середнє значення площі флуоресценції інтерлейкіна-6: 18301 pixel^2

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції фактору некрозу пухлини: 47.13 log

Середнє значення площі флуоресценції фактору некрозу пухлини: 13168 pixel^2

Додаток Г.3

Облікова картка експериментальної тварини №166

Тип тварини: Новонароджений щур

Унікальний ідентифікаційний код тварини: 808372056205

Тип експериментального впливу: ХВГ

Доза впливу: 258 mm[Hg]

Номер клітки під час включення тварини до експерименту: 753011481557

Дата входу тварини до експерименту: 2013-12-09

Коротка назва групи, до якої була включена тварина: NH

Номер клітки під час виключення тварини з експерименту: 773350750561

Дата виходу тварини з експерименту: 2013-12-09

Тип виходу тварини з експерименту: Декапітація

Причина виходу тварини з експерименту: Primary milestone 2B - Отримання новонароджених щурів, що розвивалися за умов ХВГ

Вага тварини: 5,68 г

Довжина тіла: 5,53 см

Довжина хвоста: 1,60 см

Середнє значення площі фолікула: 699.0792 мкм²

Середнє значення діаметра фолікула: 30.74949 мкм

Середнє значення площі колоїда: 447.64 мкм²

Середнє значення висоти тироцита: 6.43 мкм

Середнє значення площі цитоплазми: 32.91 мкм²

Середнє значення площі ядра: 14.36 мкм²

Середнє значення ядерно-цитоплазматичного відношення: 0.62

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції тироксину: 79.10 log

Середнє значення площі флуоресценції тироксину: 171790 pixel²

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції колагена I типу: 80.14 log

Середнє значення площі флуоресценції колагену I типу: 110799 pixel²

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції колагену III типу: 75.39 log

Середнє значення площі флуоресценції колагену III типу: 62891 pixel²

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції інтерлейкіна-6: 57.45 log

Середнє значення площі флуоресценції інтерлейкіна-6: 12865 pixel²

Середнє значення оптичної щільності флуоресценції фактору некрозу пухлини: 53.08 log

Середнє значення площі флуоресценції фактору некрозу пухлини: 24386 pixel²

Запит для формування зведеної таблиці з описовою статистикою

```

CREATE TABLE morphometry_summary
AS
(SELECT 'sfol_' ||group_name AS variable,
        ROUND(AVG(sfol),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(sfol),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(sfol),3) AS sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(sfol),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(sfol),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'sfol_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'dfol_' ||group_name,
        ROUND(AVG(dfol),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(dfol),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(dfol),3) AS sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(dfol),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(dfol),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'dfol_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'hthyr_' ||group_name,
        ROUND(AVG(hthyr),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(hthyr),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(hthyr),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(hthyr),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(hthyr),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'hthyr_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'sthyr_' ||group_name,
        ROUND(AVG(sthyr),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(sthyr),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(sthyr),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(sthyr),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(sthyr),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'sthyr_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'scyt_' ||group_name,
        ROUND(AVG(scyt),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(scyt),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(scyt),3) AS sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(scyt),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(scyt),3) AS var_population

```

```

FROM morphometry_registry
GROUP BY 'scyt_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'snuc_' ||group_name,
        ROUND(AVG(snuc),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(snuc),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(snuc),3) AS sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(snuc),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(snuc),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'snuc_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'ncr_' ||group_name,
        ROUND(AVG(ncr),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(ncr),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(ncr),3) AS sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(ncr),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(ncr),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'ncr_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'odt4_' ||group_name,
        ROUND(AVG(od_t4),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(od_t4),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(od_t4),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(od_t4),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(od_t4),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'odt4_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'st4_' ||group_name,
        ROUND(AVG(s_t4),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(s_t4),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(s_t4),3) AS sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(s_t4),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(s_t4),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'st4_' ||group_name
UNION ALL
SELECT 'odcol1_' ||group_name,
        ROUND(AVG(od_col_1),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(od_col_1),3) AS
sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(od_col_1),3) AS
sd_population,

```

```

        ROUND(VAR_SAMP(od_col_1),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(od_col_1),3) AS
var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'odcol1_' ||group_name
    UNION ALL
SELECT 'scol1_' ||group_name,
        ROUND(AVG(s_col_1),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(s_col_1),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(s_col_1),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(s_col_1),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(s_col_1),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'scol1_' ||group_name
    UNION ALL
SELECT 'odcol3_' ||group_name,
        ROUND(AVG(od_col_3),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(od_col_3),3) AS
sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(od_col_3),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(od_col_3),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(od_col_3),3) AS
var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'odcol3_' ||group_name
    UNION ALL
SELECT 'scol3_' ||group_name,
        ROUND(AVG(s_col_3),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(s_col_3),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(s_col_3),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(s_col_3),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(s_col_3),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'scol3_' ||group_name
    UNION ALL
SELECT 'odtnf_' ||group_name,

```

```

        ROUND(AVG(od_tnf),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(od_tnf),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(od_tnf),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(od_tnf),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(od_tnf),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'odtnf_' ||group_name
    UNION ALL
SELECT 'stnf_' ||group_name,
        ROUND(AVG(s_tnf),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(s_tnf),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(s_tnf),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(s_tnf),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(s_tnf),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'stnf_' ||group_name
    UNION ALL
SELECT 'odil6_' ||group_name,
        ROUND(AVG(od_il6),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(od_il6),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(od_il6),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(od_il6),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(od_il6),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'odil6_' ||group_name
    UNION ALL
SELECT 'sil6_' ||group_name,
        ROUND(AVG(s_il6),3) AS AVG,
        ROUND(STDDEV_SAMP(s_il6),3) AS sd_sample,
        ROUND(STDDEV_POP(s_il6),3) AS
sd_population,
        ROUND(VAR_SAMP(s_il6),3) AS var_sample,
        ROUND(VAR_POP(s_il6),3) AS var_population
FROM morphometry_registry
GROUP BY 'sil6_' ||group_name
ORDER by variable);

```