

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 унеможливує 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 Гісона, а 100, що залишилися, обробили моноклональними антитілами до тироксину, колагенів I та III типів, фактору некрозу пухлини та інтерлейкіну-6 у базовій методиці імуофлуоресцентного аналізу за непрямим методом Кунса. Під час мікроморфологічного методу шляхом 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 Axioscam 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} , мкм²), діаметр фолікула (D_{fol} , мкм), висоту тироцита (H_{thy} , мкм), площу тироцита (S_{thy} , мкм²), площу цитоплазми (S_{cyt} , мкм²); площу ядра (S_{nuc} , мкм²) 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.

Імуофлуоресцентним методом, шляхом 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 шляхом 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 (TRV), що характеризує кількісне граничне значення морфофункціонального параметра та визначає патологічний тренд (PT), 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 ($PT \downarrow$, TRV: $0,651 \pm 0,091$ проти $1,112 \pm 0,067$; $p < 0,001$), збільшення висоти ($PT \uparrow$, TRV: $10,353 \pm 0,077$ проти $5,934 \pm 0,07$; $p < 0,001$) та площі тироцита ($PT \uparrow$, TRV: $56,506 \pm 0,332$ проти $20,833 \pm 0,587$; $p < 0,001$), посилення

інтенсивності флуоресценції тироксину (PT↑, TPV:85,53±0,132 проти 79,82±0,199; p<0,001) та збільшення її площі (PT↑, TPV:133376,7±709,907 проти 129090,4±544,064; p<0,001) у препаратах, оброблених відповідними моноклональними антитілами. По-друге, засвідчили прискорення темпів визрівання щитовидної залози через збільшення діаметра фолікула (PT↑, TPV:17,655±0,641 проти 16,213±0,661; p<0,001) та посилення інтенсивності флуоресценції колагену I типу (PT↑, TPV:51,915±0,234 проти 33,842±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↓, TPV: 7,635±0,032 проти 8,191±0,027; p<0,001) та його площі (PT↓, TPV: 33,656±0,215 проти 36,923±0,098; p<0,001), а також зниження оптичної щільності флуоресценції тироксину (PT↓, TPV: 82,66±0,213 проти 85,911±0,274; p<0,001); прискорення передчасного дозрівання органа, що відбилося збільшенням діаметра фолікула (PT↑, TPV: 29,603±0,097 проти 25,157±0,112; p<0,001) та оптичної щільності колагенів III (PT↑, TPV: 61,268±0,115 проти 47,94±0,176; p<0,001) та I типів (PT↑, TPV: 63,131±0,174 проти 55,173±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↑, TPV: 57,264±0,084 проти 31,24±0,321; p<0,001) та інтерлейкіна-6 (PT↑, TPV: 60,239±0,293 проти 37,016±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±0,032 vs. 8,191±0,027; p<0,001) and its surface area (PT↓, TPV: 33,656±0,215 vs. 36,923±0,098; p<0,001), as well as a decrease in the optical density of thyroxine fluorescence (PT↓, TPV: 82,66±0,213 vs. 85,911±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±0,097 vs. 25,157±0,112; p<0,001) and optical density of type III collagen (PT↑, TPV: 61,268±0,115 vs. 47,94±0,176; p<0,001) and type I (PT↑, TPV: 63,131±0,174 vs. 55,173±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±0,084 vs. 31,24±0,321; p<0,001) and interleukin-6 (PT↑, TPV: 60,239±0,293 vs. 37,016±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-PEP.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.

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.

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.

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.