

Морфофункціональний стан щитовидної залози плода на тлі материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*

П. С. Талапова^{ID}*A,B,C,D, І. В. Сорокіна^{ID}E,F

Харківський національний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

щитовидна залоза, плід, щури Вістар, кишкова паличка, золотистий стафілокок, клебсієла пневмонії, материнсько-плодовий обмін, інфекційні ускладнення вагітності.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 86-95

*E-mail:
polina.talapova@gmail.com

Мета роботи – експериментальним шляхом відтворити та визначити морфофункціональний стан щитовидної залози (ЩЗ) плода щура під впливом материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*.

Матеріали та методи. Виконали контрольоване експериментальне дослідження з блоковою рандомізацією на 85 самицях щурів породи Wistar Albino Glaxo, яких залежно від групи (призначали випадково) до вагітності не інфікували чи інфікували *E. coli*, *S. aureus* і *K. pneumoniae*. Здійснили патоморфологічне дослідження 37 ЩЗ, що отримані від шурячих плодів, використовуючи комплекс методів: гістологічних (зabarвлення гематоксиліном та еозином, за Маллорі), непрямой імунофлуоресценції з застосуванням МКА до Т4, колагену I і III типів, IL-6 та TNF, морфометрії (вимірювання морфофункціональних показників у програмі ImageJ). Статистичний аналіз виконали у програмному середовищі R із підключенням пакетів «ggplot», «dplyr», «pastecs», «graphics» для виконання тесту Шапіро–Вілків, застосування критерію Бартлетта та методу Бокса–Кокса, для дисперсійного аналізу (ANOVA) та побудови графіків. Нульову гіпотезу про відсутність відмінностей між групами відкидали, коли вірогідність помилки (p) не перевищувала помилку першого роду, встановлену як 0,001 (p < 0,001).

Результати. У щитовидних залозах плодів від матерів, що інфіковані *E. coli*, *S. aureus* і *K. pneumoniae*, порівняно з групою контролю визначали статистично вірогідне збільшення діаметра та площі фолікула, площі колоїду, висоти та площі тироциту, інтенсивності та площі світіння фолікулярних тироцитів і колоїду у препаратах, оброблених МКА до Т4, площі флуоресценції колагену I та III типів, а також зменшення площі ядра щодо площі цитоплазми, що позначилося зменшенням ядерно-цитоплазматичного відношення. Найбільші статистичні відмінності морфофункціональних показників від норми спостерігали у ЩЗ плодів від матерів, інфікованих *S. aureus*.

Висновки. Зміни морфофункціональних параметрів щитовидної залози плодів щурів, що зазнали впливу материнсько-плодових інфекцій, спричинених *E. coli*, *S. aureus* і *K. pneumoniae*, є односпрямованими і статистично вірогідно відрізняються від тих, що реєструють при фізіологічному органогенезі. Вони відповідають підвищенню секреторної активності залози та свідчать про прискорення темпів визрівання органа.

Key words:

thyroid gland, fetus, rats, Wistar, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, maternal-fetal exchange, pregnancy complications, infectious.

Pathologia
2021; 18 (1), 86-95

The morphofunctional state of the fetal thyroid gland in maternal-fetal infections caused by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*

P. S. Talapova, I. V. Sorokina

Aim – experimental modelling and determination of the morphofunctional state of the thyroid gland of a rat fetus in maternal-fetal infections caused by *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*.

Material and methods. We conducted a controlled experimental study with block randomization on 85 female Wistar Albino Glaxo rats, which, depending on the group assigned randomly, were infected or not with *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae* before pregnancy with subsequent pathomorphological examination of 37 thyroid glands obtained from rats' fetuses. The set of methods was applied: histological – HE and Mallory staining; indirect immunofluorescence: moAb to T4, types I and III collagen, IL-6, and TNF; histomorphometry using ImageJ software. Statistical analysis was performed with the R environment and packages “ggplot”, “dplyr”, “pastecs”, “graphics” for Shapiro–Wilk test, Bartlett's test, Box-Cox method, ANOVA, and plotting. The null hypothesis was rejected in cases when an error probability (P) did not exceed the type I error set at 0.001 (P < 0.001).

Results. In the thyroid glands of fetuses obtained from mothers infected with *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*, in comparison with the control group, a statistically significant increase in the following morphofunctional parameters was determined: the diameter and area of the follicle, the area of the colloid, the height and area of the thyrocyte, the intensity and area of the fluorescence of the follicular thyrocytes and colloid, in samples labeled MoAb to T4, the intensity of the fluorescence of collagen types I and III; a decrease in the area of the nucleus in relation to the area of the cytoplasm, which was reflected in a decrease in the NCR index. The most pronounced differences in morphological and functional parameters from the norm were found in the thyroid gland of fetuses from mothers infected with *S. aureus*.

Conclusions. The revealed changes in the morphofunctional parameters of the thyroid gland of a rat fetus, which experienced the influence of maternal-fetal infections caused by *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*, are unidirectional and statistically significantly different from those recorded during physiological organogenesis. They correspond to an increase in the gland's secretory activity and indicate the acceleration of organ's maturation.

Морфофункциональное состояние щитовидной железы плода на фоне материнско-плодовых инфекций, вызванных *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*

П. С. Талапова, И. В. Сорокина

Цель работы – экспериментальным путем воспроизвести и определить морфофункциональное состояние щитовидной железы (ЩЖ) плода крысы под влиянием материнско-плодовых инфекций, вызванных *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*.

Материалы и методы. Проведено контролируемое экспериментальное исследование с блоковой рандомизацией на 85 самках крыс популяции Wistar Albino Glaxo, которые в зависимости от группы (назначали случайным образом) до беременности подвергались или нет инфицированию *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*. Патоморфологически исследовали 37 ЩЖ, полученных от их плодов, с использованием комплекса методов: гистологических (окраска гематоксилином и эозином, по Маллори), непрямой иммунофлуоресценции с применением МКА к Т4, коллагена I и III типов, IL-6 и TNF, морфометрии (замеры морфофункциональных показателей в программе ImageJ). Статистический анализ выполнен в программной среде R с подключением пакетов «ggplot», «dplyr», «pastecs», «graphics» для проведения теста Шапиро–Уилка, применения критерия Бартлетта и метода Бокса–Кокса, для дисперсионного анализа (ANOVA) и построения графиков. Нулевую гипотезу об отсутствии различий между группами отбрасывали, когда вероятность ошибки (p) не превышала ошибку первого рода, установленную как 0,001 ($p < 0,001$).

Результаты. В щитовидных железах плодов от матерей, инфицированных *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*, по сравнению с группой контроля определили статистически достоверное увеличение диаметра и площади фолликула, площади коллоида, высоты и площади тироцита, интенсивности и площади свечения фолликулярных тироцитов и коллоида в препаратах, обработанных МКА к Т4, площади флуоресценции коллагенов I и III типов, а также уменьшение площади ядра в отношении площади цитоплазмы, что отразилось в уменьшении ядерно-цитоплазматического отношения. Наиболее выраженные отличия морфофункциональных параметров от нормы обнаружены в ЩЖ плодов от матерей, инфицированных *S. aureus*.

Выводы. Изменения морфофункциональных параметров щитовидной железы плода крысы, испытавшего влияние материнско-плодовых инфекций, вызванных *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*, однонаправлены и статистически достоверно отличаются от зарегистрированных при физиологическом органогенезе. Они соответствуют повышению секреторной активности железы и свидетельствуют об ускорении темпов созревания органа.

Ключевые слова: щитовидная железа, плод, крысы Вистар, кишечная палочка, золотистый стафилококк, клебсиелла пневмонии, материнско-плодовый обмен, инфекционные осложнения беременности.

Патология. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 86-95

Відомо, що ключовими факторами у процесах розвитку суспільства є покращення здоров'я нащадків, особливо в часи військових конфліктів, глобального потепління, природних катаклізмів і пандемій. Саме тому патологія перинатального періоду викликає чималий інтерес у лікарів. Крім того, вивчення її морфологічного субстрату за тих чи інших умов дає змогу розробляти новітні методи профілактики та своєчасної діагностики різних захворювань у дітей.

Протягом останніх років особливий інтерес науковців і практичних лікарів прикутий до внутрішньоутробних інфекцій (ВУІ), які посідають важливе місце серед причин перинатальної смертності у світі [1]. Вважають, що збудниками ВУІ є здебільшого віруси [2], але останнім часом усе частіше реєструють випадки внутрішньоутробної загибелі плода, що пов'язані з бактеріальними інфекціями, як-от викликаними *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae* [3–5]. Отже, структура перинатальної патології потребує продовження вивчення для зменшення негативних наслідків відсутності діагностичної настороженості серед лікарів щодо хронічних латентних бактеріальних інфекцій у вагітних.

Крім того, через пандемію COVID-19, українською важливо вміти комплексно оцінювати ризики та прогнозувати і ранні, й віддалені наслідки інфікування жінок під час вагітності, що завжди супроводжується імуносупресією [6,7]. Через це істотно підвищується ризик інфікування SARS-CoV-2 з розвитком надалі автоінфекції, що викликана представниками мікробіома людини [8,9]. Розуміння морфологічних наслідків адаптаційно-компенсаторних процесів, що відбуваються в органах і системах плода в цей час, дасть змогу вчасно

вжити необхідних діагностично-профілактичних заходів щодо передчасної інвалідизації та смерті дітей.

У фаховій літературі описані морфофункціональні стани шлунково-кишкової, сечовидільної та адреналової систем за умов материнських інфекцій, що спричинені мікробіотою людини [10–12]. Але щитовидна залоза (ЩЗ), яка відіграє вкрай важливу роль у процесах онтогенезу [13,14], в цьому контексті залишається не вивченою. Доцільність вивчення підтверджується великою кількістю вже виконаних експериментальних досліджень, мета яких полягала у визначенні особливостей гістоархітектоніки ЩЗ у різних етіопатогенетичних умовах порівняно з фізіологічним станом [14–17]. Як експериментальних тварин здебільшого використовували щурів, оскільки вони мають геном, що на 95 % подібний до людського [18,19]. Для оцінювання морфофункціонального стану органів і систем людини впродовж перинатального періоду вважають доречним вивчати зміни в органах саме щурячих плодів [20,21].

Мета роботи

Експериментальним шляхом відтворити та визначити морфофункціональний стан щитовидної залози плода щура під впливом материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*.

Матеріали і методи дослідження

На базі експериментальної біологічної клініки та кафедри патологічної анатомії Харківського націо-

нального медичного університету для порівняння структурно-функціональної картини ЩЗ щурячих плодів за необхідних умов здійснили контрольоване експериментальне дослідження з блоковою рандомізацією на лабораторних тваринах – 85 самиць щурів популяції Wistar Albino Glaxo (WAG, м. Харків, Україна). Далі виконали патоморфологічне дослідження 37 ЩЗ від їхніх плодів. Дизайн дослідження базувався на відомих щурячих моделях [10–12,20]. Основа для експериментального дослідження – патент України № 108806 «Спосіб моделювання внутрішньоутробного інфікування плода та новонародженого як наслідку підгострого інфекційно-запального процесу матері» [21].

Блокова рандомізація полягала в тому, що всі умови використовували тільки раз, перш ніж будь-яка з них траплялася вдруге, тобто в межах кожного блоку дослідження порядок розташування умов був випадковим; це допомогло виключити можливість передбачення учасниками перебігу подій. Розміри блоків відповідали кількості тварин або об'єктів, з якими відбувалася взаємодія, окремо для кожного етапу експерименту. Для осліплення учасників дослідження та приховування інформації про контрольований вплив під час експерименту поділ тварин за групами відбувався випадковим чином за допомогою мобільного застосування «Генератор випадкових чисел». Кожній клітці, тварині та зразкові аналогічно присвоювали 12-значні цифрові коди, заздалегідь згенеровані за допомогою мови запитів SQL. Крім того, всіх самиць експонували до стресу через ін'єкційний шлях уведення суспензії з бактеріальними клітинами або води для ін'єкції. Клітки до і після маніпуляцій випадково позмінно працівники віварію переставляли з місця на місце.

Для участі в експерименті встановили критерії включення тварин: вид – щури популяції WAG; карантин – адаптація після транспортування у груповій ізоляції з використанням бар'єрної системи не менше ніж 10 днів; однакові умови утримання, повноцінний харчовий раціон – комбікорм із йодованим преміксом; передбачуваний мікробіологічний статус – поліпшені конвенційні (Minimal Diseases); температура тіла на момент огляду – 38,5–39,5 °C; вік: для самиць – 8–10 місяців, для самців – 10–12 місяців; вага: для самиць – 210–230 г, для самців – 300–335 г; фізіологічний репродуктивний стан – диференційовані вторинні статеві ознаки, для самиць – естральний цикл тривалістю 4–5 днів, nulligravida; відсутність наявних симптомів відомих захворювань.

Необхідна кількість експериментальних тварин, що відповідали критеріям включення, випадково поділена на 4 групи. Група № 1 (далі – MC, «Mothers, Control», n = 10) – контрольна, представлена тваринами, яким одноразово підшкірно (0 доба експерименту) та тричі внутрішньоочеревинно вводили воду для ін'єкції у дозі 0,1 мл (10, 20 і 30 доба експерименту). Групи № 2–4 (далі – MEC, «Mothers, *Escherichia coli*», n = 25; MSA, «Mothers, *Staphylococcus aureus*» (n = 25); MKP, «Mothers, *Klebsiella pneumoniae*», (n = 25) – експериментальні групи дослідження, самиці щурів, сенсibilізовані одноразовими підшкірними ін'єкціями суспензії вбитих нагріванням клітин референтних штамів *Escherichia coli* (ATCC 25922

(F50)), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) і *Klebsiella pneumoniae* (NCTC 5055) у дозі 0,1 мл щільністю 1 од., 3 од. та 1 од. за шкалою McFarland відповідно (0 доба експерименту). Після цього тварин кожної групи тричі інтраперитонеально інфікували суспензією з мікробних клітин, розведених у 0,1 мл 20 % розчину маніту, в кількості від 300×10^6 до 1×10^9 для групи MEC, від 200×10^6 до 800×10^6 для групи MSA, від 100×10^6 до 500×10^6 для групи MKP (10, 20 та 30 доби експерименту).

Після цього самиць запліднювали природним шляхом через підсаджування здорових самців у клітки (31–32 доба експерименту). Факт запліднення підтверджували мікроскопією вагінальних мазків. Зовнішні ознаки вагітності фіксували на 15 добу вагітності (46 доба експерименту): зміна поведінки, збільшення округлості живота та молочних залоз самиць. На 20 добу гестаційного періоду (51 доба експерименту) частину тварин виводили з дослідження шляхом введення в бокову хвостову вену 5 % розчину тіопенталу натрію (UA/3916/01/01) з розрахунку 1 мг на 100 г маси тіла тварини та миттєвої декапітації. Окремо для підтвердження факту внутрішньоутробної загибелі шляхом миттєвої декапітації виконували евтаназію плодів, яких вилучали з порожнини матки хірургічним шляхом. Після цього з тіл плодів відсепаровували ЩЗ як шийно-головні тканинні фрагменти, фіксували у 10 % розчині формаліну, промивали, ущільнювали шляхом зневоднення у спиртах концентрації, що зростає, заливали в парафін.

Усі зразки плодів ЩЗ поділили на групи за впливом, що отримувала вагітна матір: група № 1 – контрольна (далі – FC, «Fetuses, Control», n = 10) включала ЩЗ плодів від матерів із фізіологічною вагітністю; групи № 2–4, або групи дослідження включали ЩЗ плодів, матері яких до вагітності зазнавали впливу *Escherichia coli* (FEC – «Fetuses, *E. coli*», n = 10), *Staphylococcus aureus* (FSA – «Fetuses, *S. aureus*», n = 8) та *Klebsiella pneumoniae* (FKP – «Fetuses, *K. pneumoniae*», n = 9).

Для вивчення морфофункціональних показників ЩЗ плодів використовували комплекс гістологічних, імунофлуоресцентних, морфометричних і статистичних методів дослідження. Парафінові зрізи завтовшки 5–6 мкм забарвлювали гематоксиліном-еозинном для ідентифікації органа та його основних структур, пікрофуксином за методом ван Гізона та за Маллорі для вивчення сполучних тканин ЩЗ. Виконали оптичну мікроскопію на мікроскопі Carl Zeiss PrimoStar і мікрофотозйомку на камеру Carl Zeiss Axiocam 105 color із програмним забезпеченням ZEN Blue Edition. На знімках виконали електронну морфометрію з використанням спеціалізованої програми для опрацювання зображень, у тому числі біологічних, ImageJ [22–24]. Для кожного зразка на збільшенні $\times 400$ окремо вимірювали діаметр фолікула (120 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка), площу колоїду (120 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка), висоту й площу тироциту (210 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка), площу ядра та цитоплазми з обрахунком ядерно-цитоплазматичного індексу для клітини (210 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка).

З використанням непрямого методу Кунса частину зрізів обробляли моноклональними антитілами (МКА) до тироксину (Т4) (Chemicon international), колагену I та III типів (Novocastra Laboratories Ltd), інтерлейкіну-6 (IL-6) (Novocastra Laboratories Ltd) та фактора некрозу пухлини (TNF) (Novocastra Laboratories Ltd). Препарати вивчали з використанням люмінесцентного мікроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL з наступним захопленням зображень цифровою камерою CANON A520 й аналізом площ та інтенсивності світіння Т4, колагену I і III типів, IL-6 і TNF у програмі ImageJ за авторською методикою, що викладена далі. Кожне зображення, згідно з рекомендаціями розробників програмного забезпечення [25], конвертували у «weighted RGB» (Edit > Options > Conversions) та калібрували (Analyze > Calibrate), далі за допомогою порогу кольорів і математичного алгоритму максимальної ентропії (Image > Adjust > Threshold Color; надбудови: Thresholding method: MaxEntropy, Brightness – 55, інші параметри – без змін > кнопка «Select») визначали ділянки інтересу (region of interest – ROI), представлені відокремленими ділянками флуоресценції. Далі аналізували частки (Analyze > Analyze Particles, надбудови: Size (pixel ^2): 0-Infinity, Circularity: 0.00 – 1.00, Show: Count Masks, позначки поряд із Display results і Summarize => кнопка «OK») із кількісним визначенням загальної площі зон світіння («Total Area») та оптичної щільності (OD = «Mean Gray Value»). Перед статистичним аналізом результати реплікаційних вимірювань, виконаних на одному зразку впродовж морфометрії та імунофлуоресцентного дослідження, були усереднені до одного значення.

Статистичний аналіз даних виконали у програмному середовищі для статистичних обчислень R (ліцензія: GNU GPL v.2) з використанням пакетів «ggplot2», «dplyr», «pastecs» та «graphics». Бібліотеки цих пакетів використали для визначення ступенів центральної тенденції та мінливості набору даних, виконання тесту Шапіро–Вілка на нормальність розподілу та перевірки рівності дисперсій кількох вибірок за допомогою критерію Бартлетта. Коли дані не відповідали нормальному розподілу чи однорідності дисперсії, їх нормалізували за методом Бокса–Кокса. Після цього виконували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) для порівняння середніх значень кількісних ознак для кожного показника, апостеріорні порівняння за методом Бонферроні та тесту Тьюкі (95 % рівень вірогідності) для контролю групової ймовірності помилки.

Для всіх статистичних критеріїв помилка першого роду встановлена на рівні 0,001. Нульову гіпотезу про відсутність відмінностей між групами відкидали, коли вірогідність помилки (p) не перевищувала помилку першого роду ($p < 0,001$). Результати наведено як $M \pm SD$, де M – середня арифметична величина, а SD – стандартне квадратичне відхилення.

Утримання, догляд, здійснення експерименту, евтаназію, утилізацію біологічних матеріалів виконали згідно з Директивою Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу «Про захист тварин, яких використовують з науковими цілями» (2010 р.) і стандартів Good Laboratory Practice.

Результати

У всіх групах під час оглядової мікроскопії на збільшенні $\times 40$ визначили, що ЩЗ зовні вкриті сполучнотканиною капсулою та мають дві (інколи – одну) бічні частки і перешийок. Бічні частки прилягають до латеральних поверхонь щитовидного або перснеподібного хрящів трахеї залежно від рівня декапітації. Перешийок знаходиться спереду від трахеї, а дорсально-номедіальні поверхні бічних часток ЩЗ прилягають до стравохідно-трахейних жолобків. До зовнішніх відділів бічних часток залоз прилягають судинно-нервові сплетення шиї. Здебільшого у препаратах ЩЗ виявляли паразитовидні залози.

Гістологічна будова часток чотирьох експериментальних груп однотипна. Так, у часточках, що формуються прошарками сполучнотканиною капсули, є секреторні клітини, які формували структури двох видів: фолікули, стінка яких представлена одним шаром клітин, прилеглих до базальної мембрани, а вміст, якщо визначався, – гомогенним колоїдом; та екстрафолікулярний епітелій, або подушечки Сандерса, – компактні скупчення клітин поза межами фолікулів із базально розташованими ядрами. С-клітини мали овальну форму, кругле базофільне ядро та зернисту цитоплазму.

У контрольній групі (FC), ЩЗ представлена острівцями фолікулярного епітелію, що візуально нагадував десквамативний через щільне розташування тироцитів. Острівці були відокремлені сполучнотканинними прошарками з ледь помітними капілярами. Переважно в периферійних відділах органа спостерігали поодинокі фолікули, заповнені оптично гущішим колоїдом (рис. 1). Тироцити пласкої або кубічної форми, мали великі базально розташовані ядра з дрібними грудочками хроматину й обвід еозинофільної цитоплазми.

У групах дослідження (FEC, FSA, FKP) спостерігали аналогічну одна до одної гістоархітектоніку: великі розвинуті фолікули та візуально невеликі острівці екстрафолікулярного епітелію. Просвіти фолікулів виглядали ширшими, а колоїд з явищами крайової вакуолізації виглядав більш рідким і фокально пінистим, виявляли також одиночі десквамовані тироцити неправильної форми з темним ядром у стані каріорексису або каріопікнозу (рис. 2). Фолікулярний епітелій кубічно-циліндричної форми мав базально розташовані видовжені ядра, що виглядали меншими щодо цитоплазми, ніж у групі контролю.

Морфометрія ЩЗ показала, що в усіх групах дослідження (FEC, FKP, FSA) порівняно з групою контролю (FC) вірогідно збільшились показники: діаметр фолікула, D_{fol} ($17,655 \pm 0,641 \mu\text{m}$, $20,227 \pm 0,169 \mu\text{m}$, $19,284 \pm 0,322 \mu\text{m}$ проти $16,213 \pm 0,661 \mu\text{m}$ відповідно, $p < 0,001$), площа фолікула, S_{fol} ($445,012 \pm 2,313 \mu\text{m}^2$, $491,160 \pm 1,531 \mu\text{m}^2$, $497,304 \pm 2,984 \mu\text{m}^2$ проти $233,804 \pm 2,145 \mu\text{m}^2$, $p < 0,001$), площа колоїду, S_{col} ($117,112 \pm 2,626 \mu\text{m}^2$, $122,716 \pm 2,497 \mu\text{m}^2$, $128,663 \pm 2,141 \mu\text{m}^2$ проти $111,245 \pm 2,963 \mu\text{m}^2$ відповідно, $p < 0,001$), висота тироциту, H_{thy} ($10,353 \pm 0,077 \mu\text{m}$, $11,911 \pm 0,054 \mu\text{m}$, $12,406 \pm 0,056 \mu\text{m}$ проти $5,934 \pm 0,070 \mu\text{m}$ відповідно, $p < 0,001$), площа тироциту, S_{thy} ($56,506 \pm 0,332 \mu\text{m}^2$, $64,581 \pm 0,133 \mu\text{m}^2$, $65,413 \pm 0,199 \mu\text{m}^2$ проти $20,833 \pm 0,587 \mu\text{m}^2$ відповідно, $p < 0,001$). Але

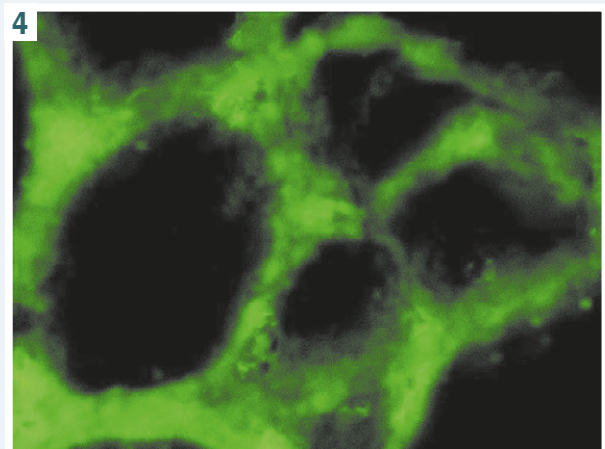
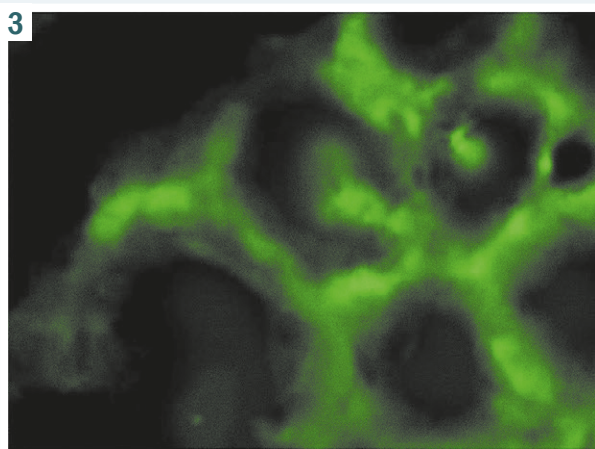
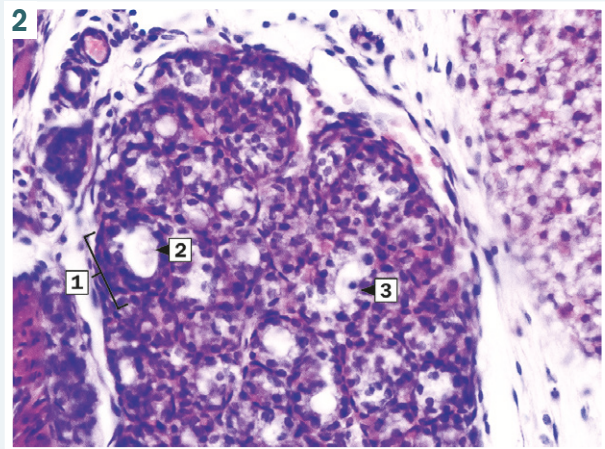
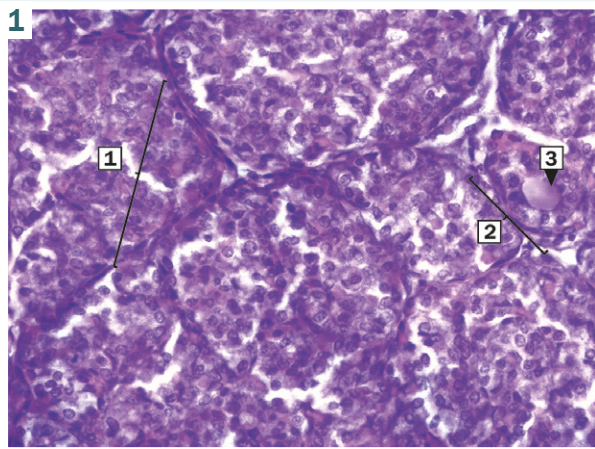


Рис. 1. ЩЗ плода щура групи FC. Острівці щільно розташованих тироцитів, відокремлених сполучнотканинними прошарками (1) і поодинокий розвинутий фолікул (2) із густим колоїдом (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$.

Рис. 2. ЩЗ плода щура групи FSA. Великий фолікул округлої форми (1), заповнений рідким і фокально пінистим колоїдом з явищами крайової вакуолізації (2); десквамований тироцит неправильної форми (3) з темним ядром у стані каріопікнозу. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$.

Рис. 3. Яскраве світіння тироцитів у препараті ЩЗ плода групи контролю, що оброблений МКА до T4. Непрямий метод Кунса з МКА до T4, $\times 600$.

Рис. 4. Яскраве світіння тироцитів у препараті ЩЗ плода групи FSA, що оброблений МКА до T4. Непрямий метод Кунса з МКА до T4, $\times 600$.

зменшилася площа ядра, $Snuc (22,624 \pm 0,069 \mu m^2, 24,389 \pm 0,080 \mu m^2, 27,388 \pm 0,075 \mu m^2)$ проти $14,404 \pm 0,055 \mu m^2$ відповідно, $p < 0,001$) щодо площі цитоплазми, $Scyt (38,520 \pm 0,175 \mu m^2, 40,761 \pm 0,088 \mu m^2, 41,931 \pm 0,069 \mu m^2)$ проти $12,731 \pm 0,086 \mu m^2$, $p < 0,001$), що позначилося на зменшенні показника ядерно-цитоплазматичного відношення (NCR) ($0,619 \pm 0,096, 0,606 \pm 0,070, 0,651 \pm 0,091$ проти $1,112 \pm 0,067$ відповідно, $p < 0,001$). Найбільші відмінності від групи контролю за параметрами показала група FSA, а найнижчі – FEC.

Імунофлуоресцентне дослідження (ІФД) інтенсивності світіння таких маркерів функціональної активності ЩЗ, як T4, колаген I і III типів, IL-6 і TNF показало результати: середня інтенсивність світіння фолікулярних тироцитів і колоїду у препаратах, що оброблені МКА до T4, OD T4, в контрольній групі висока ($79,820 \pm 0,199$ у. о.) (рис. 3), а у групах FEC, FKP, FSA вона ще вища, різниця статистично значуща ($80,652 \pm 0,217$ у. о., $85,530 \pm 0,132$ у. о.,

$87,084 \pm 0,204$ у. о. відповідно, $p < 0,001$). Крім того, у групах дослідження виявили більші площі зон світіння, S T4, (133377 ± 710 рх; 138247 ± 747 рх; 169089 ± 792 рх проти 129090 ± 544 рх, $p < 0,001$) (рис. 4).

ІФД процесів колагеногенезу показало, що у ЩЗ плодів групи контролю спостерігали слабке світіння колагену I і III типів, OD Col 1 і OD Col 3, ($33,842 \pm 0,158$ та $31,522 \pm 0,188$ відповідно) в капсулі, стінках судин і стромі ЩЗ, а у групах FEC, FKP і FSA визначили помірне збільшення площі експресії цих маркерів, S Col 1 та S Col 3 (98339 ± 105 рх / 40110 ± 972 рх; 97879 ± 101 рх/ 55148 ± 884 рх; 98138 ± 61 рх/ 59094 ± 1178 рх відповідно, $p < 0,001$); світіння у групах FEC і FKP – від слабкого до помірного ($36,505 \pm 0,183$ у. о./ $38,246 \pm 0,336$ у. о.; $40,170 \pm 0,266$ у. о./ $43,150 \pm 0,165$ у. о.). У групі FSA значення оптичної щільності відповідало помірному світінню колагену I та III типів ($51,915 \pm 0,234$ у. о./ $49,673 \pm 0,138$ у. о.).

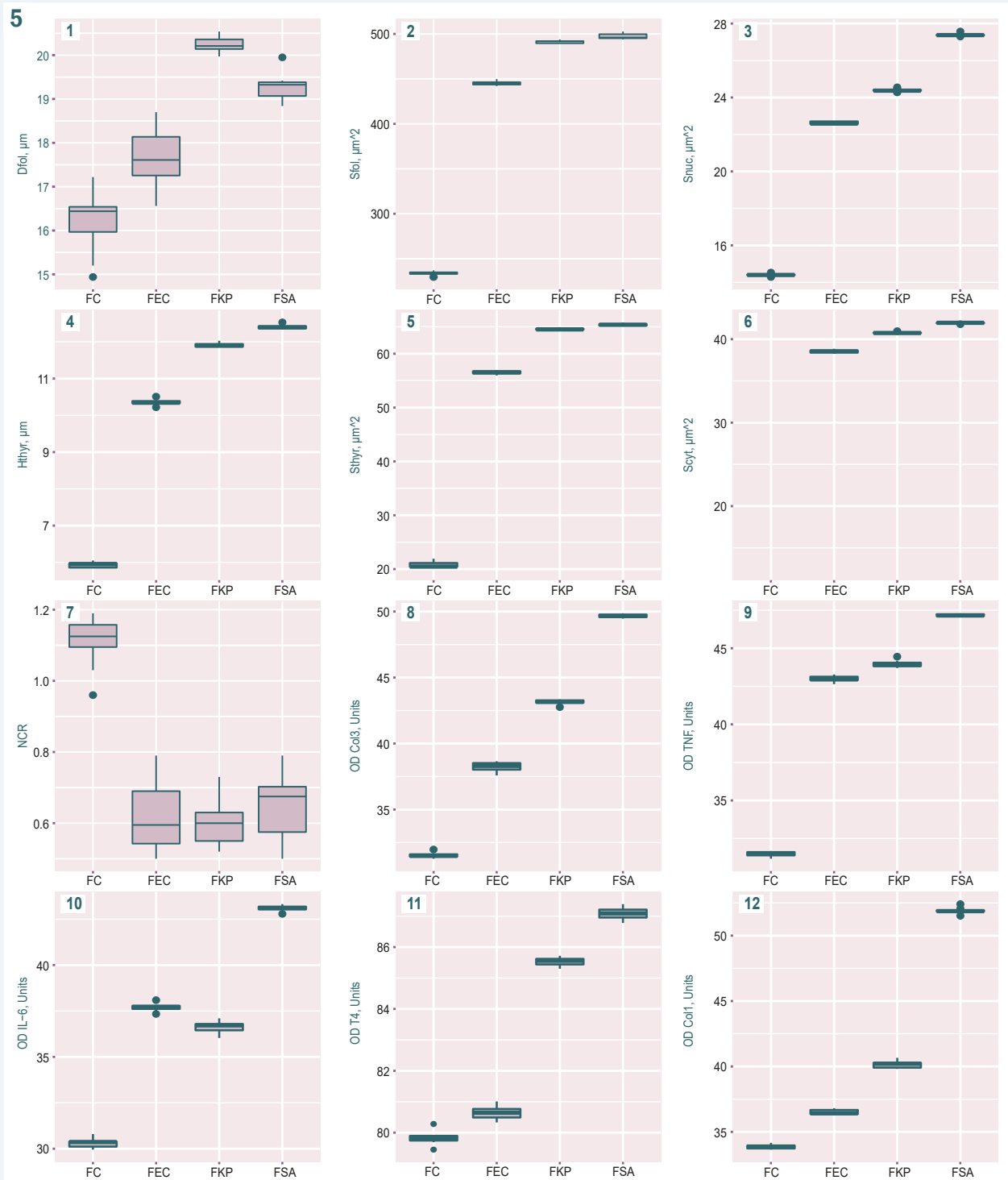


Рис. 5. Середні значення показників морфофункціонального стану ЩЗ плодів щурів. **1:** Dfol – діаметр фолікула; **2:** Sfol – площа фолікула; **3:** Snuc – площа ядра тироциту; **4:** Hthyr – висота ядра тироциту; **5:** Sthyr – площа тироциту; **6:** Scyt – площа цитоплазми тироциту; **7:** NCR – ядерно-цитоплазматичне відношення; **8:** OD Col3 – оптична щільність світіння колагену III типу; **9:** OD TNF – оптична щільність світіння фактора некрозу пухлини; **10:** OD IL-6 – оптична щільність світіння інтерлейкіну-6; **11:** OD T4 – оптична щільність світіння тироксину; **12:** OD Col1 – оптична щільність світіння колагену I типу.

ІФД функціональної активності популяції макрофагів ЩЗ плодів показав, що незалежно від групи експресія маркерів IL-6 і TNF, OD IL-6 і OD TNF залишалася слабкою, але у групі FSA порівняно з іншими групами кількісні показники світіння та IL-6, і TNF вірогідно вищі ($30,316 \pm 0,234$ у. о./ $31,474 \pm$

$0,157$ у. о.; $37,700 \pm 0,190$ у. о./ $42,983 \pm 0,181$ у. о.; $36,633 \pm 0,285$ у. о./ $43,960 \pm 0,222$ у. о. проти $43,096 \pm 0,148$ у. о./ $47,173 \pm 0,083$ у. о., $p < 0,001$). Середні значення основних показників морфофункціональної активності щитовидної залози наведені на рис. 5.

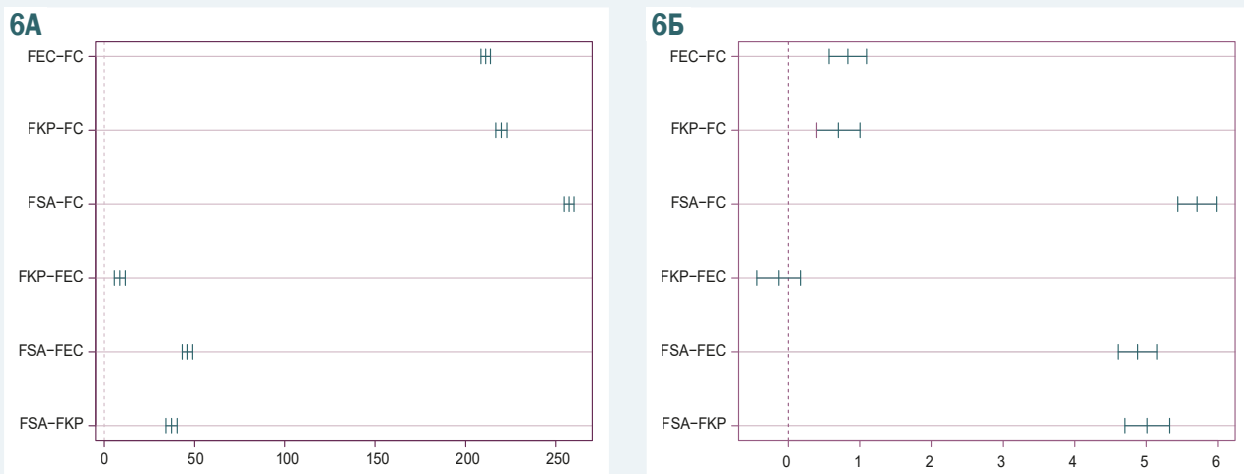


Рис. 6. Різниця середніх значень Sfol (А) та OD T4 (Б).

Обговорення

Морфофункціональні показники всіх груп дослідження (FEC, FSA, FKP) порівняно з групою контролю мали односпрямовані зміни: передусім привернуло увагу зменшення показника NCR на тлі збільшення висоти та площі тироцитів. Це явище завжди вказує на підвищення функціональної активності ЩЗ на час взяття тканини. За відомостями фахової літератури, саме NCR як прояв функціональної активності ядерно-цитоплазматичного апарату тироциту – основний морфометричний параметр для оцінювання функціонального напруження тиреоїдної паренхіми, а інші параметри є тільки похідними від NCR [26,27].

Цікаво, що в усіх групах дослідження визначили збільшення діаметра фолікула, що є індикатором зниження синтетичної активності органа після народження [28], але в контексті розвитку плодової ЩЗ може вказувати і на прискорення темпів внутрішньоутробного дозрівання фолікулів.

Збільшення інтенсивності світіння тироцитів, коли зразки ЩЗ обробляли МКА до T4, в усіх групах дослідження порівняно з групою контролю свідчить про підвищення секреції, накопичення T4 фолікулярним епітелієм і підтверджує факт функціонального напруження залози. З одного боку, цей стан може бути викликаний активацією гуморального імунітету матері у відповідь на інфекційний процес, а з іншого – безпосередньою дією тиреоїдних гормонів матері, котрі, як відомо, беруть активну участь у формуванні плодової ЩЗ до третього триместру вагітності, коли гіпофіз плода починає синтезувати тиреотропний гормон (ТТГ) [29].

За даними наукової літератури, зазвичай при інфекційній патології у крові спостерігають зниження рівня T3, що індукує проліферацію таргетних до тиреоїдних гормонів клітин [30,31], як-от тироцитів ЩЗ плода. Це може призвести до прискорення темпів органогенезу ЩЗ і передчасного виснаження адаптивно-компенсаторних резервів.

Результати ІФД із МКА до колагену I і III типів підтвердили помірне посилення процесів колагено-

генезу у ЩЗ плодів, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції. Порівнюючи результати за групами, виявили: середні значення оптичної щільності та площі імунофлуоресценції колагену I та III типів найвищі у плодів, які розвивалися за умови впливу *S. aureus*. У групах FC, FEC, FKP оптична щільність і площа флуоресценції колагену III типу переважали над флуоресценцією колагену I типу, що корелює з результатами попередніх досліджень, за якими в організмі спочатку розвивається колаген III типу, а згодом визріває колаген I типу [32]. Однак у групі FSA показники світіння колагену I типу – вищі за відповідні показники III типу, що може свідчити про прискорене дозрівання ЩЗ під впливом агресивнішого чинника.

Незначне посилення експресії маркерів IL-6 і TNF при слабкому світінні у групах дослідження вказує на наявність потенціалів імунного запалення, посилення процесів колагеногенезу та, як результат, прискореного дозрівання ЩЗ унаслідок активації окислювального стресу [33,34].

Найбільш виражені морфофункціональні зміни у групах дослідження порівняно з групою контролю визначили у групі плодів, що отримані від матерів, інфікованих *S. aureus*. Це може вказувати на істотніший морфогенетичний вплив цього збудника на систему «мати – плацента – плід». Найменший, але не менш важливий вплив мала материнсько-плодова інфекція, спричинена *E. coli*, проміжне місце належить інфекції, що спричинена *K. pneumoniae* (рис. 6).

Отже, результати дослідження показали, що материнсько-плодова інфекція, спричинена бактеріями-опортуністами, можуть виснажувати адаптивно-компенсаторні механізми ЩЗ плода шляхом індукції проліферативної активності клітин ЩЗ у відповідь на тривалу антигенну стимуляцію та зміну рівня тиреоїдних гормонів в організмі матері через підгострий інфекційно-запальний процес. Крім того, за даними фахової літератури, постійний вплив ушкоджувального фактора у крові та тканинах плода може призвести до виснаження вродженого імунітету власне щитовидної залози, який у нормі зумовлений запрограмованою здатністю тироцитів і клітин стромы продукувати

прозапальні цитокини через активацію Toll-подібних рецепторів [35].

Морфофункціональні зміни стану щитовидної залози нащадків шурів комплексно можуть бути передвісником передчасного виснаження адаптивно-компенсаторного резерву, що здійснюється шляхом клітинного й молекулярного компонентів вродженої імунної системи щитовидної залози. Отже, можна припустити, що в період постнатального онтогенезу можливий розвиток аутоімунного тиреоїдиту, але ця гіпотеза потребує підтвердження шляхом вивчення надалі морфофункціонального стану щитовидної залози у новонароджених за умов материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*.

Результати цього дослідження можна екстраполювати на людину.

Висновки

1. У щитовидній залозі плода шура, що зазнав впливу материнсько-плодових інфекцій, спричинених *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*, виявили морфофункціональні зміни, які є односпрямованими та вірогідно відрізняються від тих, що реєструють при фізіологічному органогенезі.

2. Ці зміни відповідають підвищенню секреторної активності залози, на це вказує зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу, збільшення висоти та площі тироциту, посилення інтенсивності та збільшення площі флуоресценції Т4 у препаратах, що оброблені відповідними МКА.

3. Наведені тканинні реакції свідчать про прискорення темпів визрівання органа, що позначається збільшенням діаметра фолікула та посиленням інтенсивності флуоресценції колагену III типу в препаратах, оброблених відповідними МКА.

Перспективи подальших досліджень полягають у продовженні вивчення морфофункціонального стану щитовидних залоз новонароджених шурів за умов материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*, а також хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Харківського національного медичного університету: «Патологічна анатомія плода та новонародженого при материнсько-плодовій інфекції», № держреєстрації 0120U102023.

Подяки

Автори висловлюють подяку Експериментальній біологічній клініці ХНМУ та кафедрі патологічної анатомії ХНМУ, особисто професору М. С. Мирошниченку, лікарці-патологоанатому В. Д. Товажнянській, керівниці віварію О. В. Марченко, лаборантці-гістологу О. В. Виноград, доценту А. С. Шапкіну, професору В. В. Гаргіну та професорці Г. І. Губиній-Вакулик за внесок у розділ «Матеріали і методи».

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 16.10.2020

Після доопрацювання / Revised: 26.01.2021

Прийнято до друку / Accepted: 02.02.2021

Відомості про авторів:

Талапова П. С., PhD аспірантка каф. патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-4147-1485](https://orcid.org/0000-0003-4147-1485)

Сорокіна І. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5945-2605](https://orcid.org/0000-0002-5945-2605)

Information about authors:

Talapova P. S., PhD student of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Sorokina I. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Талапова П. С., PhD аспирант каф. патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Сорокина И. В., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Two denominators for one numerator: the example of neonatal mortality. / Q. E. Harmon, O. Basso, C. R. Weinberg, A. J. Wilcox. *European journal of epidemiology*. 2018. Vol. 33, Iss. 6. P. 523-530. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0373-0>
- [2] Neu N., Duchon J., Zachariah P. TORCH infections. *Clinics in perinatology*. 2015. Vol. 42, Iss. 1. P. 77-103. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2014.11.001>
- [3] Singh M., Alsalem M., Gray C. P. Neonatal Sepsis. *StatPearls*. StatPearls Publishing, 2021. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531478/>
- [4] Staphylococcus aureus Infection of Human Gestational Membranes Induces Bacterial Biofilm Formation and Host Production of Cytokines / R. S. Doster, L. A. Kirk, L. M. Tetz et al. *The Journal of infectious diseases*. 2017. Vol. 215, Iss. 4. P. 653-657. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw300>
- [5] *Klebsiella pneumoniae* Chorioamnionitis: An Underrecognized Cause of Preterm Premature Rupture of Membranes in the Second Trimester / M. P. Bonasoni, A. Palicelli, G. Dalla Dea et al. *Microorganisms*. 2021. Vol. 9, Iss. 1. P. 96. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010096>
- [6] Laboratory Findings of COVID-19 Infection are Conflicting in Different Age Groups and Pregnant Women: A Literature Review / S. Vakkil, A. Savardashtaki, S. Jamalnia et al. *Archives of medical research*. 2020. Vol. 51, Iss. 7. P. 603-607. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.06.007>
- [7] Why are pregnant women susceptible to COVID-19? An immunological viewpoint / H. Liu, L. L. Wang, S. J. Zhao et al. *Journal of reproductive immunology*. 2020. Vol. 139. P. 103122. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2020.103122>
- [8] Clostridioides difficile infection in immunocompromised hospitalized patients is associated with a high recurrence rate / T. Avni, T. Babitch, H. Ben-Zvi et al. *International journal of infectious diseases : IJID*. 2020. Vol. 90. P. 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.10.028>
- [9] Bajaj S. K., Tombach B. Respiratory infections in immunocompromised patients: Lung findings using chest computed tomography. *Radiology of infectious diseases*. 2017. Vol. 4, Iss. 1. P. 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.rjid.2016.11.001>
- [10] Марковский В. Д., Сакал А. А. Морфофункциональное состояние печени потомства от матерей, инфицированных *Escherichia Coli* (экспериментальное исследование). *Morphologia*. 2016. Т. 10, № 3. С. 199-202.
- [11] Сорокіна І. В., Мирошниченко М. С., Іванова М. Д. Морфологические особенности почек плодов и новорожденных от матерей с подострым инфекционно-воспалительным процессом в брюшной полости, вызванным *Escherichia coli* (экспериментальное исследование). *Почки*. 2018. Т. 7, № 1. С. 18-25. <https://doi.org/10.22141/2307-1257.7.1.2018.122216>
- [12] Товажнянская В. Д., Сорокіна І. В., Яковцова І. І. Влияние материнского клебсиеллеза на морфофункциональное состояние коры надпочечников плодов (экспериментальное исследование). *Morphologia*. 2016. Т. 10, № 3. С. 283-287.

- [13] Churilov L. P., Sobolevskaia, P. A., Stroeve, Y. I. Thyroid gland and brain: Enigma of Hashimoto's encephalopathy. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*. 2019. Vol. 33, Iss. 6. P. 101364. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101364>
- [14] Implication of thyroid hormone signaling in neural crest cells migration: Evidence from thyroid hormone receptor beta knockdown and NH3 antagonist studies / O. J. Bronchain, A. Chesneau, A. H. Monsoro-Burq et al. *Molecular and cellular endocrinology*. 2017. Vol. 439. 233-246. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.09.007>
- [15] Yaglova N. V., Sledneva Y. P., Yaglov V. V. Morphofunctional Changes in the Thyroid Gland of Pubertal and Postpubertal Rats Exposed to Low Dose of DDT. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2016. Vol. 162, Iss. 2. P. 260-263. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3590-0>
- [16] Seasonal features of the combined effects of intermittent normobaric hypoxia and melatonin on the thyroid gland morphofunctional state / R. Yanko, M. Levashov, E. Chaka et al. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, Iss. 4. P. 186-198. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.04.021>
- [17] Thyroid Function Modulates Lung Fluid and Alveolar Viscoelasticity in Mechanically Ventilated Rat / M. S. Owji, M. Varedi, F. Naghibalhosseini, N. Pajouhi. *The Journal of surgical research*. 2020. Vol. 253. P. 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.03.060>
- [18] Yoshimi K., Mashimo T. (J). Application of genome editing technologies in rats for human disease models. *Journal of human genetics*. 2018. Vol. 63, Iss. 2. P. 115-123. <https://doi.org/10.1038/s10038-017-0346-2>
- [19] Hashway S. A., Wilding L. A. Benefits of Rat Models. *The laboratory Rat* / eds. M. A. Suckow, R. P. Wilson, F. C. Hankenson, P. L. Foley. 3rd ed. London : Academic Press. 2019. P. 77-79. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01188-6>
- [20] Effect of maternal hypothyroidism during pregnancy on insulin resistance, lipid accumulation, and mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of fetal rats / T. Xia, X. Zhang, Y. Wang, D. Deng. *Bioscience reports*. 2018. Vol. 38, Iss. 4. P. BSR20171731. <https://doi.org/10.1042/BSR20171731>
- [21] Пат. 108806 Україна. Спосіб моделювання внутрішньоутробного інфікування плода та новонародженого як наслідку підгострого інфекційно-запального процесу матері / В. Д. Марковський, І. В. Сорокіна, М. С. Мирошніченко та ін. № а201400681 ; заявл. 24.01.2014 ; опубл. 10.06.2015, бюл. № 11. URL : <https://uapatents.com/7-108806-sposib-modelyuvannya-vnutrishnoutrobnogo-infikuvannya-ploda-ta-novonarodzhenogo-yak-naslidku-pidgostrogoinfekcijno-zapalnogo-procesu-materi.html>
- [22] Nuclear morphometry in indeterminate thyroid nodules / M. A. Razavi, J. Wong, M. Akkera et al. *Gland surgery*. 2020. Vol. 9, Iss. 2. P. 238-244. <https://doi.org/10.21037/gs.2020.02.02>
- [23] The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis / J. Schindelin, C. T. Rueden, M. C. Hiner, K. W. Eliceiri. *Molecular reproduction and development*. 2015. Vol. 82, Iss. 7-8. P. 518529. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>
- [24] FLIMJ: An open-source ImageJ toolkit for fluorescence lifetime image data analysis / D. Gao, P. R. Barber, J. V. Chacko et al. *PLoS one*. 2020. Vol. 15, Iss. 12. P. e0238327. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238327>
- [25] Labno C. Basic Intensity Quantification with ImageJ. *Integrated Light Microscopy Core, University of Chicago*, 2019. URL : <https://www.unige.ch/medecine/biomedicine/files/1914/1208/6000/Quantification.pdf>
- [26] Cell geometry and the cytoskeleton impact the nucleo-cytoplasmic localisation of the SMYD3 methyltransferase / D. Pereira, A. Richert, S. Medjkane et al. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, Iss. 1. P. 20598. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75833-9>
- [27] Liu J. The "life code": A theory that unifies the human life cycle and the origin of human tumors. *Seminars in cancer biology*. 2020. Vol. 60. P. 380-397. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.09.005>
- [28] Смельова І. В., Головніва Е. С. Изучение морфофункциональных изменений фолликулов щитовидной железы крыс в норме и при гипотиреозе после воздействия среднеинтенсивного лазерного излучения. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2018. № 3. С. 67-74. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2018.028>
- [29] Nilsson M., Fagman H. Development of the thyroid gland. *Development*. 2017. Vol. 144, Iss. 12. P. 2123-2140. <https://doi.org/10.1242/dev.145615>
- [30] Regulation of Intracellular Triiodothyronine Is Essential for Optimal Macrophage Function / A. H. van der Spek, O. V. Survtseva, K. K. Jim et al. *Endocrinology*. 2018. Vol. 159, Iss. 5. P. 2241-2252. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00053>
- [31] Fröhlich E., Wahl R. Microbiota and Thyroid Interaction in Health and Disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2019. Vol. 30, Iss. 8. P. 479-490. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.05.008>
- [32] In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics / M. Asgari, N. Latifi, H. K. Heris et al. *Scientific reports*. 2017. Vol. 7, Iss. 1. P. 1392. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01476-y>
- [33] Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation / A. Mancini, C. Di Segni, S. Raimondo et al. *Mediators of inflammation*. 2016. Vol. 2016. P. 6757154. <https://doi.org/10.1155/2016/6757154>
- [34] The effect of anti-TNF therapy on thyroid function in patients with inflammatory bowel disease / S. A. Paschou, E. Palioura, F. Kothonas et al. *Endocrine journal*. 2018. Vol. 65, Iss. 11. P. 1121-1125. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ18-0243>
- [35] The Role of Thyroid Hormone in the Innate and Adaptive Immune Response during Infection / J. Rubingh, A. van der Spek, E. Fliers, A. Boelen. *Comprehensive Physiology*. 2020. Vol. 10, Iss. 4. P. 1277-1287. <https://doi.org/10.1002/cphy.c200003>

References

- [1] Harmon, Q. E., Basso, O., Weinberg, C. R., & Wilcox, A. J. (2018). Two denominators for one numerator: the example of neonatal mortality. *European journal of epidemiology*, 33(6), 523-530. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0373-0>
- [2] Neu, N., Duchon, J., & Zachariah, P. (2015). TORCH infections. *Clinics in perinatology*, 42(1), 77-103. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2014.11.001>
- [3] Singh, M., Alsalem, M., & Gray, C. P. (2021). Neonatal Sepsis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531478/>
- [4] Doster, R. S., Kirk, L. A., Tetz, L. M., Rogers, L. M., Aronoff, D. M., & Gaddy, J. A. (2017). Staphylococcus aureus Infection of Human Gestational Membranes Induces Bacterial Biofilm Formation and Host Production of Cytokines. *The Journal of infectious diseases*, 215(4), 653-657. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw300>
- [5] Bonasoni, M. P., Palicelli, A., Dalla Dea, G., Comitini, G., Nardini, P., Vizzini, L., Russello, G., Bardaro, M., & Carretto, E. (2021). *Klebsiella pneumoniae* Chorioamnionitis: An Underrecognized Cause of Preterm Premature Rupture of Membranes in the Second Trimester. *Microorganisms*, 9(1), 96. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010096>
- [6] Vakili, S., Savardashtaki, A., Jamalnia, S., Tabrizi, R., Nematollahi, M. H., Jafarinia, M., & Akbari, H. (2020). Laboratory Findings of COVID-19 Infection are Conflicting in Different Age Groups and Pregnant Women: A Literature Review. *Archives of medical research*, 51(7), 603-607. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.06.007>
- [7] Liu, H., Wang, L. L., Zhao, S. J., Kwak-Kim, J., Mor, G., & Liao, A. H. (2020). Why are pregnant women susceptible to COVID-19? An immunological viewpoint. *Journal of reproductive immunology*, 139, 103122. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2020.103122>
- [8] Avni, T., Babitch, T., Ben-Zvi, H., Hijazi, R., Ayada, G., Atamna, A., & Bishara, J. (2020). Clostridioides difficile infection in immunocompromised hospitalized patients is associated with a high recurrence rate. *International journal of infectious diseases : IJID*, 90, 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.10.028>
- [9] Bajaj, S. K., & Tombach, B. (2017). Respiratory infections in immunocompromised patients: Lung findings using chest computed tomography. *Radiology of infectious diseases*, 4(1), 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.rid.2016.11.001>
- [10] Markovskiy, V. D., & Sakal, A. A. (2016). Morfofunktsional'noe sostoyanie pecheni potomstva ot materei, infitsirovannykh Escherichia Coli (eksperimental'noe issledovanie) [Morphofunctional state of the liver of rat progeny from mothers, infected with Escherichia coli (experimental research)]. *Morphologia*, 10(3), 199-202. [in Russian].
- [11] Sorokina, I. V., Myroshnychenko, M. S., & Ivanova, M. D. (2018). Morfoloicheskie osobennosti pochek plodov i novorozhdennykh ot materei s podostroyim infektsionno-vospalitel'nym protsessom v bruyshnoi polosti, vyzvannym Escherichia coli (eksperimental'noe issledovanie) [Morphological features of kidneys in fetuses and newborns from mothers with subacute infectious-inflammatory process in the abdominal cavity caused by Escherichia coli (experimental study)]. *Pochki – Kidneys*, 7(1), 18-25. [in Russian]. <https://doi.org/10.22141/2307-1257.7.1.2018.122216>
- [12] Tovazhnianska, V. D., Sorokina, I. V., Yakovtsova, & I. I. (2016). Vliyaniye materinskogo klebsielleza na morfofunktsional'noe sostoyaniye kory nadpochechnikov plodov (eksperimental'noe issledovanie) [Influence of maternal infection caused by Klebsiella pneumonia on morphologic and functional state of fetuses' adrenal glands cortex (experimental research)]. *Morphologia*, 10(3), 283-287. [in Russian].
- [13] Churilov, L. P., Sobolevskaia, P. A., & Stroeve, Y. I. (2019). Thyroid gland and brain: Enigma of Hashimoto's encephalopathy. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 33(6), 101364. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101364>
- [14] Bronchain, O. J., Chesneau, A., Monsoro-Burq, A. H., Jolivet, P., Paillard, E., Scanlan, T. S., Demeneix, B. A., Sachs, L. M., & Pollet, N. (2017). Implication of thyroid hormone signaling in neural crest cells migration: Evidence from thyroid hormone receptor beta knockdown and NH3 antagonist studies. *Molecular and cellular endocrinology*, 439, 233-246. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.09.007>
- [15] Yaglova, N. V., Sledneva, Y. P., & Yaglov, V. V. (2016). Morphofunctional Changes in the Thyroid Gland of Pubertal and Postpubertal Rats

- Exposed to Low Dose of DDT. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 162(2), 260-263. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3590-0>
- [16] Yanko, R., Levashov, M., Chaka, E., Litovka, I., & Safonov, S. (2020). Seasonal features of the combined effects of intermittent normobaric hypoxia and melatonin on the thyroid gland morphofunctional state. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(4), 186-198. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.04.021>
- [17] Owji, M. S., Varedi, M., Naghibalhossaini, F., & Pajouhi, N. (2020). Thyroid Function Modulates Lung Fluid and Alveolar Viscoelasticity in Mechanically Ventilated Rat. *The Journal of surgical research*, 253, 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.03.060>
- [18] Yoshimi, K., & Mashimo, T. (2018). Application of genome editing technologies in rats for human disease models. *Journal of human genetics*, 63(2), 115-123. <https://doi.org/10.1038/s10038-017-0346-2>
- [19] Hashway, S. A., & Wilding, L. A. (2019). Benefits of Rat Models. In M. A. Suckow, R. P. Wilson, F. C. Hankenson, & P. L. Foley (Eds.), *The laboratory Rat* (pp. 77-79). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01188-6>
- [20] Xia, T., Zhang, X., Wang, Y., & Deng, D. (2018). Effect of maternal hypothyroidism during pregnancy on insulin resistance, lipid accumulation, and mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of fetal rats. *Bioscience reports*, 38(4), BSR20171731. <https://doi.org/10.1042/BSR20171731>
- [21] Markovskiy, V. D., Sorokina, I. V., Miroshnychenko, M. S., Pliten O. M., Mishyna M. M., Shapkin A. S., & Kaluzhyna, O. V. (2015). *Sposib modeliyuvannya vnutrishnoutrobnogo infikovannya ploda ta novonarodzhеноho yak naslidku pidhostroho infektsiino-zapalnoho protsesu materj* [Method for modeling intrauterine infection of fetus and newborn as a consequence of sub-acute infectious-inflammatory mother process]. Ukraine Patent UA 108806. <https://uapatents.com/7-108806-sposib-modeliyuvannya-vnutrishnoutrobnogo-infikovannya-ploda-ta-novonarodzhеноho-yak-naslidku-pidhostrogo-infektsiino-zapalnoho-procesu-materj.html>
- [22] Razavi, M. A., Wong, J., Akkera, M., Shalaby, M., Shalaby, H., Sholl, A., Haddad, A., Behl, P., Kandil, E., & Lee, G. S. (2020). Nuclear morphometry in indeterminate thyroid nodules. *Gland surgery*, 9(2), 238-244. <https://doi.org/10.21037/gs.2020.02.02>
- [23] Schindelin, J., Rueden, C. T., Hiner, M. C., & Eliceiri, K. W. (2015). The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular reproduction and development*, 82(7-8), 518-529. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>
- [24] Gao, D., Barber, P. R., Chacko, J. V., Kader Sagar, M. A., Rueden, C. T., Grislis, A. R., Hiner, M. C., & Eliceiri, K. W. (2020). FLIMJ: An open-source ImageJ toolkit for fluorescence lifetime image data analysis. *PloS one*, 15(12), e0238327. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238327>
- [25] Labno, C. (2019). Basic Intensity Quantification with ImageJ. *Integrated Light Microscopy Core, University of Chicago*. <https://www.unige.ch/medecine/bioimaging/files/1914/1208/6000/Quantification.pdf>
- [26] Pereira, D., Richert, A., Medjkane, S., Hénon, S., & Weitzman, J. B. (2020). Cell geometry and the cytoskeleton impact the nucleo-cytoplasmic localisation of the SMYD3 methyltransferase. *Scientific reports*, 10(1), 20598. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75833-9>
- [27] Liu J. (2020). The "life code": A theory that unifies the human life cycle and the origin of human tumors. *Seminars in cancer biology*, 60, 380-397. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.09.005>
- [28] Smelova, I. V., & Golovneva, E. S. (2018). Izuchenie morfofunktsional'nykh izmenenii follikulov shchitovidnoi zhelezy krysa v norme i pri gipotireoze posle vozdeistviya sredneintensivnogo lazernogo izlucheniya [The study of morphological and functional changes in the thyroid follicles of healthy rats and rats with experimentally induced hypothyroidism following exposure to medium-power laser radiation]. *Bulletin of RSMU*, (3), 65-71. [in Russian]. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2018.028>
- [29] Nilsson, M., & Fagman, H. (2017). Development of the thyroid gland. *Development*, 144(12), 2123-2140. <https://doi.org/10.1242/dev.145615>
- [30] Van der Spek, A. H., Surovtseva, O. V., Jim, K. K., van Oudenaeren, A., Brouwer, M. C., Vandenbroucke-Grauls, C., Leenen, P., van de Beek, D., Hernandez, A., Fliers, E., & Boelen, A. (2018). Regulation of Intracellular Triiodothyronine Is Essential for Optimal Macrophage Function. *Endocrinology*, 159(5), 2241-2252. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00053>
- [31] Fröhlich, E., & Wahl, R. (2019). Microbiota and Thyroid Interaction in Health and Disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 30(8), 479-490. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.05.008>
- [32] Asgari, M., Latifi, N., Heris, H. K., Vali, H., & Mongeau, L. (2017). In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics. *Scientific reports*, 7(1), 1392. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01476-y>
- [33] Mancini, A., Di Segni, C., Raimondo, S., Olivieri, G., Silvestrini, A., Meucci, E., & Currò, D. (2016). Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation. *Mediators of inflammation*, 2016, 6757154. <https://doi.org/10.1155/2016/6757154>
- [34] Paschou, S. A., Palioura, E., Kothonas, F., Myroforidis, A., Loi, V., Poulou, A., Goumas, K., Efraimidis, G., & Vryonidou, A. (2018). The effect of anti-TNF therapy on thyroid function in patients with inflammatory bowel disease. *Endocrine journal*, 65(11), 1121-1125. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ18-0243>
- [35] Rubingh, J., van der Spek, A., Fliers, E., & Boelen, A. (2020). The Role of Thyroid Hormone in the Innate and Adaptive Immune Response during Infection. *Comprehensive Physiology*, 10(4), 1277-1287. <https://doi.org/10.1002/cphy.c200003>