

Д.Д. Дворецький
С.В. Козлов

Дніпровський державний
медичний університет
Дніпро, Україна

Надійшла: 25.09.2025

Прийнята: 23.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.4.36-41>

УДК 591.8:616-001.45:618.17-092.9

ОЦІНКА ЕСТРАЛЬНОГО ЦИКЛУ У ЩУРІВ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИБУХОІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Dvoretzky D.D. , Kozlov S.V.  ✉ Assessment of the estrous cycle in rats after experimental blast-induced brain injury.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. An analysis of scientific sources studying the relationship between brain injury in women, particularly mild injury, and potential consequences for reproductive function, showed that there are currently certain gaps in knowledge regarding the potential mechanisms of menstrual cycle disorders and adverse pregnancy outcomes in women after concussion, which occurred as a result of both contact trauma and exposure to an explosive shock wave. **Objective:** to evaluate the duration and structure of the estrous cycle in female white rats after exposure to an air shock wave. **Methods.** Forty white sexually mature female rats were used to achieve the research objective. To study the duration and structure of the estrous cycle in females, vaginal smears were taken every day between 9 and 11 a.m. for 14 days. All rats selected to participate in the experiment were divided into four groups: intact (n=10), control (n=10), experimental group (n=10) exposed to a shock wave during the estrus phase, and experimental group (n=10) exposed to a shock wave during the diestrus phase. The air shock wave was reproduced in a device designed to study the effects of shock waves from explosions on the body. To obtain vaginal smears, we used the vaginal lavage technique. Statistical and mathematical analysis of the quantitative indicators of the estrous cycle was performed using the STATISTICA 6.1 computer program for statistical data processing. **Results.** Qualitative cytological analysis of vaginal smears in the experimental group of rats showed that their cellular composition was represented by either isolated or moderate numbers of neutrophils, a large number of small nuclear cells, the absence of large nucleated cells, non-nucleated keratinized cells, and moderate or significant relative cell density. According to the cytological analysis of vaginal smears in female rats exposed to an air shock wave, changes were found in the post-traumatic period in both the duration of the estrous cycle and the duration of individual stages of the estrous cycle. **Conclusion.** Experimental explosion-induced brain injury in sexually mature female rats led to a prolongation of the estrous cycle due to prolongation of the proestrus stage, regardless of the stage of the estrous cycle the female rat was in at the time of the traumatic impact. The cellular composition of vaginal smears in rats in the experimental group showed a decrease in the number of large nuclear cells and non-nuclear keratinized epithelial cells. The changes found can be considered an early marker of reproductive dysfunction after shock wave exposure.

Key words: blast-induced brain injury, estrous cycle, vaginal cytology, white rats, experiment.

Dvoretzky DD, Kozlov SV. [Assessment of the estrous cycle in rats after experimental blast-induced brain injury]. *Morphologia*. 2025;19(4):36-41. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.4.36-41>

 Dvoretzkyi D.D. 0009-0007-4631-4602

 Kozlov S.V. 0000-0002-7619-4302

✉ tanatholog@i.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Травматичне ураження головного мозку в сучасному світі набуває масштабів епідемії як серед цивільних [1], так і, особливо, серед військовослужбовців [2]. Частота випадків у Європі в незалежності від віку та ступеня тяжкості черепно-мозкової травми (ЧМТ) коливається від 83,3 до 849 на 100 тисяч населення в рік [3]. Також відомо, що у значної більшості пацієнтів, які перенесли на-

віть легку ЧМТ, упродовж місяців та років зберігаються негативні наслідки, що суттєво впливають на якість життя [4]. Предметом дискусії залишаються статеві відмінності наслідків впливу травматичного фактору на головний мозок [5]. На цей час переважаюча кількість досліджень в питаннях особливостей клінічного перебігу, використання діагностичних маркерів, характеру течії посттравматичного періоду та наслідків черепно-мозкових травм стосується чоловіків [5]. Аналіз

наукових джерел, що розглядають як стать впливає на прогноз наслідків ЧМТ, показав, що погляди науковців досі суперечливі і потребують подальшого більш ретельного дослідження.

Як показують дослідження [6] травми головного мозку у жінок можуть призводити до порушення менструального циклу внаслідок порушення гомеостазу гормонів в гіпоталамо-гіпофізарно-яєчниковій вісі. Проведене проспективне когортне дослідження, що охоплювало підлітків та молодих жінок зі струсом мозку показало, що жінки мали підвищений ризик аномальних менструальних циклів після струсу мозку. Оцінка неврологічних наслідків та якості життя у жінок через місяць після отримання легкої ЧМТ дозволили [7] визначити те, якщо струс головного мозку відбувся під час лютеїнової фази менструального циклу, коли підвищений рівень прогестерону, наслідки були значно гіршими. За результатами проспективного дослідження [8], в якому були вивчені зміни менструального циклу після струсу головного мозку у підлітків, було показано, що фаза менструального циклу на момент травми не була пов'язана зі змінами менструального циклу упродовж 4 місяців після травми, на відміну від самого факту струсу головного мозку.

Науковці з інституту Колорадо [9] під час проведення свого дослідження встановили зв'язок між ЧМТ та репродуктивними наслідками у жінок. Вони з'ясували в результаті перехрестного дослідження, що ризик несприятливих наслідків вагітності, зокрема передчасного відшарування плаценти, народження дитини, маса якої перевищувала гестаційний вік, частоти мертвонародження були підвищені у жінок з ЧМТ в анамнезі. Оцінюючи результати вагітностей серед жінок репродуктивного віку (18-45 років) після струсу головного мозку через 24 місяці, дослідники [10] виявили, що в цій групі жінок кількість вагітностей була знижена на 76% у порівнянні з контрольною.

Проведений аналіз наукових джерел, в яких вивчалися зв'язки між отриманими ЧМТ у жінок, зокрема легкого ступеню, та потенційними наслідками для репродуктивної функції, показав, що на цей час існують певні прогалини щодо потенційних механізмів розвитку порушення менструального циклу, несприятливих наслідків вагітності у жінок після струсу головного мозку, який виник, як і в результаті контактної травми, так і в результаті впливу вибухової ударної хвилі.

Мета дослідження: оцінити тривалість та структуру естрального циклу у білих самиць щуриків після впливу повітряної ударної хвилі.

Матеріали та методи

Для вирішення мети дослідження було залучено 40 білих статевозрілих самиць щурів, вагою $177,1 \pm 16$ г, які перебували в стандартних умовах віварію ДДМУ. Враховуючи те, що тривалість естрального циклу у щурів чутлива до часового

співвідношення світла та темряви, нами був використаний режим 12 годин світла та 12 годин темряви упродовж доби (вмикання світла відбувалося о 6 ранку) для виключення впливу цього фактору. Для дослідження тривалості та структури естрального циклу у самиць кожного дня між 9 та 11 ранку упродовж 14 діб отримували вагінальні мазки. В цьому дослідженні прийняли участь тільки ті тварини, у яких до проведення експерименту естральний цикл відрізнявся відповідною циклічністю. Таким чином виключали із дослідження щуриць, які мали суттєві відхилення у тривалості естрального циклу. Такий відбір є на цей час стандартизованим і дозволяє відібрати для експерименту щуриць з врівноваженою гормональною гіпоталамо-гіпофізарно-яєчничковою віссю [11].

Всі щуриці, які були одібрані для участі в експерименті, були розділені на 4 групи. Перша група - інтактна (n-10, група щуриць, яка знаходиться в звичайних умовах утримання), друга - контрольна (n-10, група щуриць, які отримували галотановий наркоз з подальшою фіксацією, але без впливу ударної хвилі), третя, або перша експериментальна група (n-10, група, на яку був спрямований вплив ударної хвилі в фазі еструса), четверта, друга експериментальна група (n-10, група, на яку був спрямований вплив ударної хвилі в фазі діеструса).

Експериментальна частина роботи виконана на базі ДДМУ. Повітряна ударна хвиля відтворювалася в пристрої для дослідження дії на організм ударної хвилі вибуху [12].

Для отримання вагінальних мазків нами була застосована техніка вимивання піхвового вмісту із застосуванням скляної офтальмологічної піпетки та фізіологічного розчину (метод вагінального лаважу). Для збору клітин з піхви набирали 0,2 мл фізіологічного розчину у піпетку. Кінчик піпетки обережно вводили у вагінальний отвір на глибину 0,5–1 см. Після промивання отриману суспензію зразка рівномірно наносили на предметне скло тонким шаром та залишали висихати на повітрі. Для кожної тварини використовували індивідуальні одноразові піпетки. За думкою [13] метод вагінального лаважу дозволяє отримати вагінальний мазок з більшою клітинністю та попереджує розвиток псевдовагітностей.

Після перенесення вагінальної суспензії на предметне скло проводили оцінку вологого вагінального мазка за допомогою світлового мікроскопа при 100-кратному збільшенні з цифровою фотофіксацією через окуляр мікроскопа. При оцінці враховували наявність або відсутність трьох типів клітин, а саме, великих епітеліальних без'ядерних зроговілих клітин з гострими кутами або невизначеної форми, округлих незроговілих епітеліальних клітин менших за розмірами з ядрами та зернистістю та малих круглих клітин – лейкоцитів. Оцінюючи також баланс цих клітин

мазок відносили до відповідної стадії естрального циклу.

Статистично-математичний аналіз кількісних показників естрального циклу проводили за допомогою комп'ютерної програми статистичної обробки даних STATISTICA 6.1 (StatSoftInc., серійний № AGAR909E415822FA), «Microsoft Excel» (Office Home Business 2KB4Y-6H9DB-VM47K-749PV-PG3KT) з програмною надбудовою «AtteStat», реалізованій у програмному пакеті «MedCalc Statistical Software» (MedCalc Software, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; free trial version 23.3.7) та програм R (<https://cran.r-project.org>) з метою порівняння кількісних даних в експериментальних групах тварин з показниками контрольної та інтактної груп самиць щурів. Перевірку гіпотези нормальності розподілу серед досліджуваних кількісних ознак проводили за критерієм Шапіро-Уїлка. Після перевірки на нормальність розподілу кількісних даних розраховували середню арифметичну (M), стандартне відхилення (SD) для кожного показника естрального циклу. Для визначення відмінностей між групами застосовували критерій Стьюдента для незалежних вибірок (t). Критичне значення рівня статистичної значущості (p) приймалося <math> < 5 \% < /math> (p<0,05).

Під час дослідження експериментальних тварин дотримувалися Європейської конвенції про

захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 року), Закону України №3447-IV Про захист тварин від жорстокого поводження [14, 15].

Результати та їх обговорення

Для встановлення відмінностей між інтактною, контрольною та експериментальними групами щуриць в структурі та тривалості естрального циклу нами були застосовані наступні критерії при оцінці вагінальних мазків щодо ототожнення їх з відповідною стадією естрального циклу. Якщо вагінальний мазок був низької щільності, з помірною кількістю дрібних ядерних епітеліальних клітин, з малою кількістю нейтрофілів, з поодинокими великими ядерними клітинами та без'ядерними зроговілими епітеліальними клітинами, то цей мазок ототожнювали з проеструсом. У випадку, якщо вагінальний мазок був з високою відносною щільністю клітин, з великою кількістю великих без'ядерних клітин, з відсутністю нейтрофілів та помірною кількістю малих та великих ядерних клітин, то цей мазок свідчив про еструс. Для дієструса була характерна помірна щільність, значна кількість нейтрофілів, наявність поодиноких малих ядерних клітин та відсутність великих ядерних та без'ядерних зроговілих клітин (рис. 1).



Рис. 1. Вологі вагінальні мазки інтактної групи самиць білих щурів в різних стадіях естрального циклу. Зліва-направо: проеструс, еструс та дієструс.

Якісний цитологічний аналіз вагінальних мазків у експериментальної групи щурів показав, що їх клітинний склад був представлений або поодинокими, або помірною кількістю нейтрофілів, великою кількістю малих ядерних клітин, відсутністю великих ядерних клітин, без'ядерних зроговілих клітин, та помірною або значною відносною щільністю клітин (рис. 2).

За даними цитологічного аналізу вагінальних мазків у щуриць, які зазнали впливу повітряної ударної хвилі, в посттравматичному періоді упродовж терміну спостереження були виявлені зміни як у тривалості естрального циклу, так і в тривалості окремих стадій естрального циклу. Естральний цикл в посттравматичному періоді тривав достовірно довше у порівнянні з інтактною та контрольною групами тварин (табл. 1).

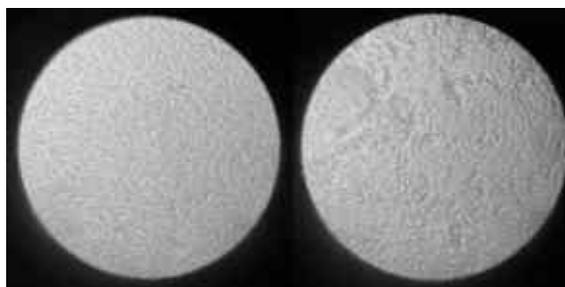


Рис. 2. Вологі вагінальні мазки експериментальних груп білих щурів. А - помірна кількість нейтрофілів, велика кількість малих ядерних клітин, висока відносна щільність клітин; В - поодинокі нейтрофіли, велика кількість малих ядерних клітин, поодинокі великі ядерні клітини, помірна відносна щільність клітин.

Показники естрального циклу самиць шурів упродовж 14 діб спостереження (M±SD)

Показники естрального циклу	Інтактна група	Контрольна група	Експериментальна група 1	Експериментальна група 2
Тривалість естрального циклу, (добі)	4,17±0,41	4,33±0,52	4,83±0,41*	5,17±0,41**
Тривалість тічки (проеструс+еструс), (добі)	1,83±0,41	1,83±0,41	3,0±0,0**	3,00±0,63**
Тривалість міжтічки (метаеструс+діеструс), (добі)	2,33±0,52	2,5±0,55	1,83±0,41	2,00±0,0
Кількість еструсів, од.	3,83±0,41	3,67±0,52	3,17±0,41*	2,83±0,41**

* відмінності достовірні при $p < 0,05$ між експериментальними групами та інтактною групою;

** відмінності достовірні при $p < 0,05$ між експериментальними групами та інтактною та контрольною групами.

Тривалість естрального циклу у експериментальних тварин була подовжена за рахунок збільшення тривалості фази проеструсу. В експериментальних групах тривалість тічки була достовірною вища у порівнянні з інтактною та контрольною групами. Тривалість міжтічки в експериментальних групах за середніми значеннями була меншою, але ці показники не мали достовірних відмінностей у порівнянні з інтактною та контрольною групами.

Відомо, що середня тривалість естрального циклу у статевозрілих шуриць упродовж репродуктивного періоду коливається в межах 4-5 діб, або 107-113 годин, за даними [16]. В структурі естрального циклу середні годинні коливання проеструсу, еструсу, метаеструсу та діеструсу за даними спостережень [14] відповідали 14-18 годинам, 25-28 годинам, 5-8 годинам та 53-59 годинам. За результатами нашого дослідження аналіз тривалості як в цілому, так і окремих стадій естрального циклу у шуриць інтактною та контрольною групами мав подібні часові характеристики.

Виявлене у шуриць експериментальних груп подовження проеструсу (фолікулінова стадія естрального циклу), під час якої відбувається дозрівання фолікулів, може бути пов'язано зі зниженням вивільнення гонадотропін-релізінг гормону гіпоталамуса, порушенням секреції фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) та порушенням балансу ФСГ та лютеїнізуючого гормону у бік зниження ФСГ, як наслідок дифузної травми головного мозку [17], активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирничкової вісі з підвищенням рівня кортизолу і гальмуванням вивільнення гонадотропін-релізінг гормону, ушкодженням клітин гранульози в яєчниках, частковою атрезією зростаючих фолікулів з порушенням в подальшому зворотнього зв'язку і затримкою овуляції. Таким чином,

посттравматичні зміни в головному мозку шуриць могли порушити баланс гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової вісі, що призводило до затримки формування домінуючого фолікула та, як наслідок, подовження тривалості естрального циклу.

Підсумок

Експериментальна вибухо-індукована травма головного мозку у статевозрілих шуриць призводила до подовження тривалості естрального циклу за рахунок подовження стадії проеструсу в незалежності від того в якій стадії естрального циклу знаходилася шуриця на момент травматичного впливу. Клітинний склад вагінальних мазків у шуриць експериментальної групи показав зменшення кількості великих ядерних клітин та без'ядерних зроговілих епітеліальних клітин. Виявлені зміни можливо розглядати як ранній маркер репродуктивної дисфункції після впливу ударної хвилі.

Перспективи подальших розробок

Отримані результати під час проведеного дослідження дозволяють в подальшому продовжити вивчення гормонального статусу та морфологічних змін яєчників після впливу експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку.

Інформація про конфлікт інтересів

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

Джерела фінансування

Дослідження виконані в рамках науково-дослідної теми «Дослідження морфогенезу органів і тканин у експериментальних тварин і людини під впливом зовнішніх і внутрішніх факторів в онтогенезі» (номер державної реєстрації 0124U005025).

Літературні джерела References

1. Ye Z, Li Z, Zhong S, Xing Q, Li K, Sheng W, Shi X, Bao Y. The recent two decades of traumatic brain injury: a bibliometric analysis and systematic review. *Int J Surg.* 2024;110(6):3745-59. doi: 10.1097/JS9.0000000000001367.
2. Mortimer DS. Military Traumatic Brain Injury. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2024;35(3):559-71. doi: 10.1016/j.pmr.2024.02.008.
3. Brazinova A, Rehorcikova V, Taylor MS, Buckova V, Majdan M, Psota M, Peeters W, Feigin V, Theadom A, Holkovic L, Synnot A. Epidemiology of Traumatic Brain Injury in Europe: A Living Systematic Review. *J Neurotrauma.* 2021;38(10):1411-40. doi: 10.1089/neu.2015.4126.
4. Haarbauer-Krupa J, Pugh MJ, Prager EM, Harmon N, Wolfe J, Yaffe K. Epidemiology of Chronic Effects of Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma.* 2021;38(23):3235-47. doi: 10.1089/neu.2021.0062.
5. Haynes N, Goodwin T. Literature Review of Sex Differences in mTBI. *Mil Med.* 2023;188(5-6):e978-e984. doi: 10.1093/milmed/usab472.
6. Snook ML, Henry LC, Sanfilippo JS, Zeleznik AJ, Kontos AP. Association of Concussion With Abnormal Menstrual Patterns in Adolescent and Young Women. *JAMA Pediatr.* 2017;171(9):879-86. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.1140.
7. Adams RS, Akobirshoev I, Brenner LA, Katon JG, Mitra M. Pregnancy, Fetal, and Neonatal Outcomes Among Women With Traumatic Brain Injury. *J Head Trauma Rehabil.* 2023;38(3):E167-E176. doi: 10.1097/HTR.0000000000000807.
8. Wunderle K, Hoeger KM, Wasserman E, Bazarian JJ. Menstrual phase as predictor of outcome after mild traumatic brain injury in women. *J Head Trauma Rehabil.* 2014;29(5):E1-8. doi: 10.1097/HTR.0000000000000006.
9. Roby PR, Grimberg A, Master CL, Arbogast KB. Menstrual Cycle Patterns After Concussion in Adolescent Patients. *J Pediatr.* 2023;262:113349. doi: 10.1016/j.jpeds.2023.02.002.
10. Anto-Ocrah M, Cafferky V, Lewis V. Pregnancy After Concussion: A Clarion Call for Attention? *J Head Trauma Rehabil.* 2022;37(4):E268-E279. doi: 10.1097/HTR.0000000000000723.
11. Goldman JM, Murr AS, Cooper RL. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2007;80(2):84-97. doi: 10.1002/bdrb.20106.
12. Kozlova YV, Abdul-Ogli LV, Kosharnyi AV, Kytova IV, Korzachenko MA, inventors; Kozlova YV, assignee. Device for studying the effect of an explosion shock wave on the organism. Ukrainian patent UA 146858. 2021 Mar 24.
13. Cora MC, Kooistra L, Travlos G. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicologic Pathology.* 2015;43(6):776-93. doi: 10.1177/0192623315570339.
14. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986;123:52. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>.
15. Закон України. Про захист тварин від зhorstokogo povodzhennia [Law of Ukraine. On the protection of animals from cruelty]. Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy (VVR). 2006;27:230. Available from: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
16. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. *Biotech Histochem.* 2005;80(2):79-87. doi: 10.1080/10520290500138422.
17. Kozlov S, Kozlova Y, Bondarenko N, Bondarenko O. Histopathological and ultrastructural changes in the rats brain after air shock wave impact. *Med. perspekt.* [Internet]. 2024;29(1):16-22. Available from: <https://journals.uran.ua/index.php/2307-0404/article/view/300497>.

Дворецкий Д.Д., Козлов С.В. Оцінка естрального циклу у щурів після експериментальної вибухоіндукованої травми головного мозку.

РЕФЕРАТ. Проведений аналіз наукових джерел, в яких вивчалися зв'язки між отриманою травмою головного мозку у жінок, зокрема легкого ступеню, та потенційними наслідками для репродуктивної функції, показав, що на цей час існують певні прогалини щодо потенційних механізмів розвитку порушення менструального циклу, несприятливих наслідків вагітності у жінок після струсу головного мозку, який виник, як і в результаті контактної травми, так і в результаті впливу вибухової ударної хвилі. Враховуючи це нами була визначена **мета** нашого дослідження – оцінити тривалість та структуру естрального циклу у білих самиць щурів після впливу повітряної ударної хвилі. **Методи.** Для вирішення мети дослідження було залучено 40 білих статевозрілих самиць щурів. Для дослідження тривалості та структури естрального циклу у самиць кожного дня між 9 та 11 ранку упродовж 14 діб отримували вагінальні мазки. Всі щуриці, які були одібрані для участі в експерименті, були розділені на 4 групи: інтактна (n-10), контрольна (n-10), експериментальна група (n-10), на яку був спрямований вплив ударної хвилі в фазі еструса, експериментальна група (n-10), на яку був спрямований вплив ударної хвилі в фазі діеструса. Повітряна ударна хвиля

відтворювалася в пристрої для дослідження дії на організм ударної хвилі вибуху. Для отримання вагінальних мазків нами була застосована техніка вагінального лаважу. Статистично-математичний аналіз кількісних показників естрального циклу проводили за допомогою комп'ютерної програми статистичної обробки даних STATISTICA 6.1. **Результати.** Якісний цитологічний аналіз вагінальних мазків у експериментальної групи щурів показав, що їх клітинний склад був представлений або поодинокими, або помірною кількістю нейтрофілів, великою кількістю малих ядерних клітин, відсутністю великих ядерних клітин, без'ядерних зроговілих клітин, та помірною або значною відносною щільністю клітин. За даними цитологічного аналізу вагінальних мазків у щуриць, які зазнали впливу повітряної ударної хвилі, в посттравматичному періоді були виявлені зміни як у тривалості естрального циклу, так і в тривалості окремих стадій естрального циклу. **Підсумок.** Експериментальна вибухо-індукована травма головного мозку у статевозрілих щуриць призводила до подовження тривалості естрального цикла за рахунок подовження стадії проеструсу в незалежності від того в якій стадії естрального цикла знаходилася щуриця на момент травматичного впливу. Клітинний склад вагінальних мазків у щуриць експериментальної групи показав зменшення кількості великих ядерних клітин та без'ядерних зроговілих епітеліальних клітин. Виявлені зміни можливо розглядати як ранній маркер репродуктивної дисфункції після впливу ударної хвилі.

Ключові слова: вибухо-індукована травма головного мозку, естральний цикл, вагінальна цитологія, білі щури, експеримент.