



УДК 591.33:546.711:613.63

О.В. Штапенко, І.І. Гевкан, Ю.І. Сливчук, В.Я. Сирватка, С.В. Федорова
**ВПЛИВ ГЛУТАМАТУ МАНГАНУ НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ
ТА ЕМБРІОГЕНЕЗ ЩУРІВ**

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Email: shtapenko31@gmail.com

Досліджували вплив підшкірного введення препарату глутамату мангану у формі ліпосомальної емульсії на репродуктивну систему та ембріогенез самок щурів. Результати досліджень показали, що введення препарату глутамату мангану за 7 днів до запліднення та при заплідненні призводить до вірогідного збільшення кількості жовтих тіл вагітності ($p < 0,001$), кількості живих плодів ($p < 0,001$) та зменшення загальної і передімплантаційної смертності у порівнянні з контрольною групою. Дослідженнями встановлено підвищення основних показників ембріонального розвитку у дослідних групах. Так, виявлено підвищення кількості місць імплантацій на 1 самку $10,7 \pm 0,26$ та $11,3 \pm 0,21$ ($p < 0,001$) у 1-й та 2-й дослідних групах, які отримували препарат глутамату мангану, проти $9,4 \pm 0,16$ у контрольній групі, а також відповідне зниження кількості місць резорбції плодів у самок щурів. Отримані результати вказують на позитивний вплив препарату глутамату мангану у формі ліпосомальної емульсії на ембріогенез самок.

Ключові слова: глутамат мангану, вагітність, ембріогенез, ліпосомальні препарати

О.В. Штапенко, И.И. Гевкан, Ю.И. Сливчук, В.Я. Сырватка, С.В. Федорова
**ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМАТА МАРГАНЦА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ
И ЭМБРИОГЕНЕЗ КРЫС**

Институт биологии животных НААН, г. Львов

Email: shtapenko31@gmail.com

Исследовали влияние подкожного введения препарата глутамата марганца в форме липосомальной эмульсии на репродуктивную систему и эмбриогенез самок крыс. Результаты исследований показали, что введение препарата глутамата марганца за 7 дней до оплодотворения и при оплодотворении приводит к достоверному увеличению количества желтых тел беременности ($p < 0,001$), количества живых плодов ($p < 0,001$) и уменьшение общей и предимплантационной смертности по сравнению с контрольной группой. Исследованиями установлено улучшение основных показателей эмбрионального развития в опытных группах. Так, выявлено достоверное повышение количества мест имплантаций на 1 самку $10,7 \pm 0,26$ и $11,3 \pm 0,21$ ($p < 0,001$) в 1-й и 2-й опытных группах, получавших препарат глутамата марганца, против $9,4 \pm 0,16$ в контрольной группе, а также снижение количества мест резорбции плодов у самок крыс. Полученные результаты указывают на положительное влияние препарата глутамата марганца в форме липосомальной эмульсии на эмбриогенез самок.

Ключевые слова: глутамат марганца, беременность, эмбриогенез, липосомальные препараты

O. V. Shtapenko, I. I. Hevkan, Yu. I. Slyvchuk, V. Y. Syrvatka, S.V. Fyodorova
**EFFECT OF GLUTAMATE MANGANESE ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION
AND EMBRYOGENESIS OF FEMALE RATS**

Institute of Animal Biology of NAAS, Lviv

Email: shtapenko31@gmail.com

Pregnancy is associated with increased nutritional needs due to the physiologic changes of the female and the metabolic demands of the embryo/fetus. The use of chelating compounds with high biological activity increased the fertility of female rats by stimulation metabolism and functional activity of the reproductive system. Manganese is an essential element utilized by antioxidants, including superoxide dismutase (MnSOD), and others metalloenzymes that take part in reduction reactions, in multiple physiological processes including reproductive system. The aim of the research was to determine the effect of subcutaneous injections of Mn glutamate in liposomal forms on the reproductive system and the process of embryogenesis of experimental female rat.

The study was conducted on female rats aged 2.5-3 months with body weight of 180-200 g. Rats with dated gestation were divided into three groups: two experimental and control. Female rabbits of the 1th experimental group were subcutaneous injected of 2 mg/ml for Mn glutamate in liposomal form one week before fertilization and the animals of the 2th group were obtained the same preparation during fertilization. Rats were euthanized on the twentieth day, ovarians were singled out of fiber, visual inspection and counting the number of yellow bodies were performed, absolute and relative mass indexes were determined, Mn glutamate influence index was calculated.

Experimental results showed that the administration of Mn glutamate 7 days before fertilization and during fertilization significant increased the number of corpora lutea of pregnancy ($p < 0,001$), number of live fetuses ($p < 0,001$) due to the decrease in general and pre-implantation embryonic mortality compared with the control group. The experimental results showed improvement in key indicators of embryonic development. We observed significant increase in the number of implanted embryos on 1 female at $10,7 \pm 0,26$ and $11,3 \pm 0,21$ ($p < 0,001$) ($9,4 \pm 0,16$ vs. control group) and decrease of the number of resorption in the female rats treated with Mn glutamate as compared with the control group. The results suggest a beneficial effect on the course of Mn glutamate embryogenesis of experimental animals.

Key words: glutamate manganese, pregnancy, embryogenesis, liposomal preparation

Серед чинників, які впливають на відтворювальну функцію, важливе значення мають макро- та мікроелементи (Kumar, 2011). Нестача мікроелементів викликає порушення відтворювальної функції, зокрема, розлади і порушення генеративної функції яєчників під час статевого циклу, що призводить до ембріональної смертності та зниження заплідненості.

Одним із важливих мікроелементів, який забезпечує нормальну репродуктивну функцію тварин, є манган (Скальний, 2004; Прімова, 2014). Він впливає на овогенез, виношування плода, вигодовування новонароджених, запобігає дегенеративним змінам статевих залоз (Kim, 2012). Манган бере

ISSN 2225-5486 (Print), ISSN 2226-9010 (Online). Біологічний вісник МДПУ. 2015. №3



активну участь в окисно-відновних процесах у тканинах (Agarwal, 2005), впливає на ріст і розмноження тварин, а також на процеси кровотворення, регулює функцію ендокринних залоз, посилює дію вітамінів, входить до складу ряду ферментів та є їх активатором (Gunter, 2006). Дефіцит цього мікроелемента впливає на передню долю гіпофіза, гальмуючи її здатність продукувати і вивільняти лютеїнізуючий та фолікулоstimулюючий гормони, які регулюють функцію яєчників (Pine, 2005).

У підвищенні біологічної доступності мікроелементів і забезпеченні ними тварин важливу роль відіграють біокоординаційні, хелатні сполуки, в яких метали утворюють комплекси з біолігандами, природніми носіями мікроелементів (Бінкевич, 2012). Відомо, що хелати є найбільш оптимальною для організму формою сполук біогенних металів з лігандами/органічними речовинами (Ильин, 2012). Біологічна активність металу в цих комплексах зростає у сотні разів порівняно з активністю його в іншому стані (Кебец, 2006).

Тому значна увага приділяється органічним сполукам біогенних елементів, отриманих шляхом синтезу мікроелементів з амінокислотами. Однак, біологічна дія біокоординаційних сполук на репродуктивну здатність самок залишається мало вивченою. Метою досліджень було з'ясувати вплив введення глютамату мангану у формі ліпосомального препарату на запліднення та імплантаційну здатність самок щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для проведення досліджень відбирали самиць білих нелінійних лабораторних щурів віком 2,5-3 місяці та живою масою 180-200 г. На підготовчому етапі перед проведенням експерименту досліджували естральний цикл самиць методом вагінальних мазків (Шаторна, 2013). Для досліджень самок із стійким ритмом естрального циклу розділяли на 3 групи по 10 голів тварин у кожній: 1 – контрольна (самиці з фізіологічним перебігом вагітності), 2 – дослідна, тваринам якої підшкірно вводили глютамат мангану у формі ліпосомальної емульсії у дозі 550 мкг/гол за 7 днів до запліднення; 3 група – препарат вводили при заплідненні.

Самиць усіх груп на стадіях проеструс-еструс підсажували до самців за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у вагінальних мазках. Евтаназію вагітних самиць щурів проводили методом декапітації під ефірним наркозом на 20-й день вагітності. Після лапаротомії вилучали роги матки з яєчниками, підраховували кількість жовтих тіл у яєчниках, місць імплантацій у матці, кількість живих плодів та таких, що були в стадії резорбції для визначення показників доімплантаційної та післяімплантаційної загибелі згідно із загальноприйнятими методами (Бессалова, 2006). Для виявлення морфологічних змін визначили абсолютну масу яєчників та розраховували відносну масу яєчників за формулою:

$$M_{\text{відн}} = M_{\text{абс}} / M_{\text{твар}} \times 100\%,$$

де: $M_{\text{відн}}$ - відносна маса яєчника, мг; $M_{\text{абс}}$ - абсолютна маса яєчника, мг;

$M_{\text{твар}}$ - маса тварин, мг.

Також розраховували Індекс впливу (I) досліджуваних металів на масометричні показники яєчників згідно (Онул, 2013) за формулою

$$I = M_{\text{досл}} / M_{\text{контр.}}$$

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Усі отримані в роботі цифрові дані обробляли комп'ютерними програмами *Microsoft Excel*, *Statistica 10*. Вірогідність відмінностей визначали за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз морфологічних показників репродуктивної здатності самиць щурів дослідних груп, яким вводили препарат глютамату мангану у формі ліпосомальної емульсії до та при заплідненні показав вірогідне зростання кількості жовтих тіл вагітності в яєчниках та кількості імплантацій на одну самку порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$, табл. 1). Так, у 1-й дослідній групі, самицям якої глютамат мангану вводили до запліднення кількість жовтих тіл вагітності становила $12,1 \pm 0,1$ та у 2-й дослідній групі, яким вводили препарат під час запліднення $12,9 \pm 0,23$ проти $9,4 \pm 0,16$ у контрольній групі. Кількість місць імплантацій складала $10,7 \pm 0,26$ та $11,3 \pm 0,21$ проти $9,4 \pm 0,16$ відповідно ($p < 0,001$).

Введення глютамату мангану сприяє ембріональному розвитку, що підтверджується вірогідним підвищенням кількості живих плодів на одну самицю на $17,2\%$ ($10,2 \pm 0,20$; $p < 0,001$) та $26,4\%$ ($11,0 \pm 0,21$; $p < 0,001$) у 1-й та 2-й дослідних групах проти $8,7 \pm 0,15$ у контрольній групі. Подібні відмінності виявлені також стосовно кількості резорбцій плодів між дослідними та контрольною групами. Очевидно, це пов'язано з посиленням метаболічних процесів у зв'язку зі здатністю мангану активувати ферменти та регуляторні медіатори, які впливають на обмінні процеси в репродуктивних органах і гіпоталамо-гіпофізарній ендокринній системі самок, що підвищує репродуктивну функцію яєчників, імплантаційну здатність та приживлюваність ембріонів.

При порівнянні показників ембріонального розвитку за дії глютамату мангану встановлено значне зниження загальної ембріональної смертності, а



також летальності в передімплантаційний та постімплантаційний періоди в обох дослідних групах порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1. Морфологічні дослідженнями яєчників щурів за дії глютаму мангану ($M \pm m$, $n=10$)

Групи	Кількість жовтих тіл на одну самку	Кількість місць імплантації	Кількість живих плодів	К-сть місць резорбції	Доімплантаційна летальність, %	Післяімплантаційна летальність, %	Загальна ембріона-льна летальність, %
Контроль	10.7±0.3	9.4±0.16	8.7± 0.15	0.8±0.16	18.69	10.34	27.10
I	12.1±0.1***	10.7±0.26***	10.2±0.20***	0.5±0.35	11.57	4.67	15.70
II	12.9±0.23***	11.3±0.21***	11.0±0.21***	0.4±0.24	11.63	3.51	14.73

Примітка: у цій та наступній таблиці статистично вірогідні різниці показників зразків дослідних груп порівняно з контрольними: *** $-p < 0,001$.

Порівняння результатів морфологічних досліджень яєчників контрольної та дослідних груп виявило певні відмінності абсолютних та відносних показників маси яєчників самиць. Зокрема, сумарна маса яєчників у 2-й дослідній групі, тваринам якої вводили препарат глютаму мангану у формі ліпосомальної емульсії при заплідненні була у 1,1 рази вищою в порівнянні з 1-ою дослідною групою, тварини якої отримували глютаму мангану за 7 днів до запліднення (табл. 2).

Аналогічна тенденція також спостерігалось щодо підвищення відносної маси яєчників в обох дослідних групах порівняно з контрольною. Введення глютаму мангану позитивно впливає на масометричні показники яєчників, що підтверджено індексом стимуляції, який складає 1,06 та 1,14 у 1-й та 2-й дослідних групах відповідно.

Наші результати узгоджуються з даними інших авторів (Фофанова, 2005; Фавье, 2002; Kumar, 2005), які пов'язують підвищення запліднюючої здатності та репродуктивної функції самок з індукуючим впливом мікроелементів на метаболічні процеси та використанням органічних сполук мікроелементів.

Таблиця 2. Біометричні параметри яєчників щурів за дії глутамату мангану ($M \pm m$, $n=10$)

Групи	Абсолютна маса яєчників, мг	Відносна маса яєчників, %	Індекс впливу, ум. од.	Маса щурів (г)
Контроль	74,77±0,68	0,0402	-	185,99±1,55
I	79,14±0,61***	0,0418	1,06	189,51±0,81
II	85,51±0,73***	0,0451	1,14	189,64±0,88

Структура біокоординаційних хелатних сполук сприяє збільшенню їх проникності через клітинні мембрани та модулює доступність для різних клітинних рецепторів, а глутамінова кислота, за рахунок включення в енергетичні та пластичні обмінні процеси, впливає на функціональний стан тканин та органів при вагітності, а також стимулює гіпоталамо-гіпофізарну систему.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що введення органічної сполуки глутамату мангану у формі ліпосомального препарату за 7 днів до запліднення та при заплідненні проявляє стимулюючу дію на репродуктивну систему самиць та ембріогенез, сприяє підвищенню морфофункціонального стану яєчників при вагітності щурів, зокрема, збільшується число жовтих тіл вагітності, масометричні параметри яєчників вагітних самиць щурів, а також кількість живих плодів за рахунок зниження до- та постімплантаційної смертності.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Бессалова Е.Ю. Физиологические и структурные методы оценки морфофункционального статуса яичников млекопитающих /Е.Ю. Бессалова // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. — 2006. — Т. 5, № 3. — С. 85-90.

Бінкевич В.Я. Біохімічні функції хелатних з'єднань мікроелементів у організмі тварин / В.Я. Бінкевич, Б.В. Гутий, Л.Є. Микитин, Ф. Новотні, Б. Лешо // Науковий вісник ЛНУВМБГ імені С.З. Гжицького. — 2012. — Т. 14 № 2 (3). — С. 3-7.



Ильин Д.В. Разработка технологий получения аспарагинатов металлов – субстанций для производства БАД / Д.В. Ильин, Р.В. Краснова, И.З. Ахметов, В.В. Судокон // Микроэлементы в медицине. – 2012. – 13(4). – С. 49-51.

Кебец Н. М. Синтез смешаннолигандных комплексов металлов с витаминами и аминокислотами и изучение их биологических свойств на животных : Автореф. дис. докт. биол. наук. /Н. М. Кебец. – М., 2006. – 35 с.

Онул Н.М. Вплив важких металів на морфологічні особливості яєчників щурів / Н.М. Онул // Вісник ВДНЗУ Українська медична стоматологічна академія Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2013. – Т. 13, Вип. 4 (44). – С. 154-158.

Прімова Л.О. Метаболізм вітамінів і мінеральних речовин: навчальний посібник / Л.О. Прімова, І.Ю. Висоцький – Суми: Сумський державний університет, 2014. – 256 с.

Скальный А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век». Мир, 2004. – 10 с.

Фавье М. Микроэлементы и беременность / М. Фавье // Микроэлементы в медицине. – 2002. – Т. 3. – № 4. – С. 2-6.

Фофанова И.Ю. Роль витаминов и микроэлементов в сохранении репродуктивного здоровья / И.Ю. Фофанова // Гинекология. – 2005. – № 4. – С. 244-249.

Шаторна В.Ф. Дослідження впливу наноматеріалів на стан репродуктивної функції в експерименті / В.Ф. Шаторна, В.І. Гарець, О.О. Савенкова, І.І. Колосова // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, №1, ч. 1 (61). – С. 246-250.

Agarwal A Role of oxidative stress in female reproduction / A. Agarwal, S. Gupta, R. K Sharma // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2005. – Vol. 3 (28). – P. 1-21.

Gunter T.E. Speciation of manganese in cells and mitochondria: a search for the proximal cause of manganese neurotoxicity / T.E. Gunter, C.E. Gavin, M. Aschner, K.K. Gunter // *Neurotoxicology.* – 2006. – Vol. 27 (5). – P. 765–776.

Kim S. I. Effect of manganese exposure on the reproductive organs in immature female rats / S. I. Kim, Y. S. Jang, S.H. Han, M. J. Choi, E. H. Go, Y. P. Cheon, J.S. Lee, S.H. Lee // *Development and Reproduction* – 2012. – Vol. 16(4). – P. 295-300.

Kumar S. Importance of micro minerals in reproductive performance of livestock / S. Kumar, A. K. Pandey, A. W. AbdulRazzaque, D. K. Dwivedi // *Veterinary Word.* – 2011. – Vol. 4(5). – P. 230-233.

Pine M. Manganese acts centrally to stimulate luteinizing hormone secretion: a potential influence on female pubertal development / M. Pine, B. Lee, R. K. Dearth, J.K. Hiney, W. Les Dees // *Toxicol Sci.* – 2005. – Vol. 85. – P. 880–885.

REFERENCES

- Bessalova, E.Yu. (2006). Fyzyolohycheskye y strukturne metody otsenky morfofunktsyonal'noho statusa yachnykov mlekopytayushchykh. *Klinichna anatomiya ta operatyvna khirurgiya*. 5(3), 85-90.
- Binkevych, V.Ya., Hutyy, B.V., Mykytyn, L.Ye., Novotni, F., Lesho, B. (2012). Biokhimichni funktsiyi khelatnykh z'yednan' mikroelementiv u orhanizmi tvaryn. *Naukovyy visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Hzhys'tkoho*. 14, 2 (3), 3-7.
- Ilin, D.V., Krasnova, R.V., Ahmetov, I.Z., Sudokov, V.V. (2012). Razrabotka tehnolgiy polucheniya asparaginatov metallov – substansiy dlya proizvodstva BAD. *Mikroelementy v meditsine*. 13(4), 49-51.
- Kebets, N. M. (2006). Sintez smeshannoligandnykh kompleksov metallov s vitaminami i aminokislotalami i izuchenie ih biologicheskikh svoystv na zhyvotnykh. Thesis of Doctoral Dissertation.
- Onul, N.M. (2013). Vplyv vazhkykh metaliv na morfolohichni osoblyvosti yayechnykh shchuriv. *Visnyk VDNZU Ukrayins'ka medychna stomatolohichna akademiya. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny*. 13, 4 (44), 154-158.
- Primova, L.O., Vysots'kyi, I.Yu. (2014). Metabolizm vitaminiv i mineral'nykh rehovyn: navchal'nyy posibnyk. Sumy: Sums'kyi derzhavnyy universytet.



- Skalnyiy, A.V., Rudakov, I.A. (2004). Bioelementyi v meditsine. M.: Izdatelskiy dom «ONIKS 21 vek».
- Fave, M. (2002). Mikroelementyi i beremennost. Mikroelementyi v meditsine. 3(4), 2-6.
- Fofanova, I.Yu. (2005). Rol vitaminov i mikroelementov v sohraneniі reprodukativnogo zdorovya. Ginekologiya. 4, 244-249.
- Shatorna, V.F., Harets', V.I., Savenkova, O.O., Kolosova I.I. (2013). Doslidzhennya vplyvu nanomaterialiv na stan reproduktyvnoyi funktsiyi v eksperymentі. Tavrycheskyy medyko-byolohycheskyy vesnyk. 16(1), 246-250.
- Agarwal, A., Gupta, S., Sharma, R.K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.*, 3 (28), 1-21.
- Gunter, T.E., Gavin, C.E., Aschner, M., Gunter, K.K. (2006). Speciation of manganese in cells and mitochondria: a search for the proximal cause of manganese neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 27 (5), 765–776.
- Kim, S. I., Jang, Y. S., Han, S.H., Choi, M. J., Go, E. H., Cheon, Y. P., Lee, J.S., Lee, S.H. (2012). Effect of manganese exposure on the reproductive organs in immature female rats. *Development and Reproduction*, 16(4), 295-300.
- Kumar, S., Pandey, A. K., AbdulRazzaque, A. W., Dwivedi, D. K. (2011). Importance of micro minerals in reproductive performance of livestock. *Veterinary Word*. 4(5), 230-233.

Pine, M., Lee, B., Dearth, R. K., Hiney, J.K., Les Dees, W. (2005). Manganese acts centrally to stimulate luteinizing hormone secretion: a potential influence on female pubertal development. *Toxicol Sci.* 85, 880–885.

Поступила в редакцію 20.09.2015

Как цитировать:

Штапенко, О.В., Гевкан, І.І., Сливчук, Ю.І., Сирватка, В.Я., Федорова, С.В. (2015). Вплив глутамату мангану на репродуктивну функцію та ембріогенез щурів. *Биологический вестник Мелитопольского государственного педагогического университета имени Богдана Хмельницкого*, 5 (3), 8-17.

crossref <http://dx.doi.org/10.7905/bbmspu.v5i3.982>

© *Штапенко, Гевкан, Сливчук, Сирватка, Федорова, 2015*

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 3.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/)