

Влияние экзогенного хорионического гонадотропина человека на овуляцию у мышей

С.Я. Амстиславский^{1, 2}✉, С.В. Раннева^{1, 2}, Д.С. Рагаева¹, Э.А. Чуйко², А.М. Попкова², Е.Ю. Брусенцев¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

✉ e-mail: amstis@bionet.nsc.ru

Применение некоторых вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), в частности гормональной стимуляции овуляции, может привести к изменению числа и качества получаемых ооцитов. Целью исследования было изучение характера овуляции у мышей линии CD1 после воздействия на самок хорионическим гонадотропином человека (ХГЧ) и исследование последствий этого воздействия на длительность беременности, эмбриональные потери и вес рожденных потомков. При воздействии препаратом ХГЧ не было обнаружено достоверных различий по общему числу овулировавших ооцитов по сравнению с контрольными самками, а также различий по числу незрелых (без полярного тела) и зрелых (с формирующимся полярным телом) форм овулировавших ооцитов. Число же ооцитов с полярным телом у мышей экспериментальной группы после гормональной стимуляции овуляции препаратом ХГЧ было достоверно больше ($p < 0.05$) по сравнению с контрольной группой (6.2 ± 0.86 и 2.2 ± 0.9 соответственно). Не было получено достоверных различий между группами по продолжительности беременности и числу рожденных потомков, включая долю живо- и мертворожденных особей. Однако вес детенышей на пятый день после рождения в экспериментальной группе был достоверно меньше ($p < 0.001$), чем в контроле (3.16 ± 0.09 и 3.76 ± 0.07 соответственно). Таким образом, введение экзогенного ХГЧ самкам мышей стимулирует развитие ооцитов *in vivo*, что приводит к формированию большего числа их зрелых форм, но потомки, рожденные самками, стимулированными препаратом ХГЧ, имеют меньший вес тела в первые дни после рождения.

Ключевые слова: мыши; ооциты; хорионический гонадотропин человека.

Для цитирования: Амстиславский С.Я., Раннева С.В., Рагаева Д.С., Чуйко Э.А., Попкова А.М., Брусенцев Е.Ю. Влияние экзогенного хорионического гонадотропина человека на овуляцию у мышей. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(8):1006-1010. DOI 10.18699/VJ19.577

Effect of exogenous human chorionic gonadotropin on ovulation in mice

S.Ya. Amstislavsky^{1, 2}✉, S.V. Ranneva^{1, 2}, D.S. Ragaeva¹, E.A. Chuyko², A.M. Popkova², E.Yu. Brusentsev¹

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

✉ e-mail: amstis@bionet.nsc.ru

The implementation of assisted reproductive technologies (ART), hormonal stimulation in particular, may change the quality of ovulated oocytes. The purpose of our work was to study ovulation in CD1 mice after their stimulation with human chorionic gonadotropin (hCG) and to investigate the effects of such hormonal stimulation on the pregnancy duration, fetal losses and the weight of the offspring. No significant differences were found in the total number of ovulated oocytes or in the number of immature (without a polar body) ovulated oocytes; nor were there differences between the groups in the number of oocytes with a developing polar body. However, the number of matured oocytes with a distinct polar body was significantly higher ($p < 0.05$) in mice stimulated with hCG (experimental group) as compared with the controls (6.2 ± 0.86 and 2.2 ± 0.97 , respectively). No significant differences were observed between the experimental and control mice in the duration of pregnancy or in the numbers of term offspring, including the percentage of live and stillborn pups. However, the body weight of the offspring in the experimental group was significantly lower ($p < 0.001$) as compared with the controls on the fifth day after birth (3.16 ± 0.09 and 3.76 ± 0.07 , respectively). Thus, exogenous hCG facilitates the development of mouse oocytes *in vivo*, which leads to the larger number of their mature forms at ovulation, however, the offspring born after hCG-stimulated pregnancy was characterized by a lower body weight on the fifth day after birth.

Key words: mice; oocytes; human chorionic gonadotropin.

For citation: Amstislavsky S.Ya., Ranneva S.V., Ragaeva D.S., Chuyko E.A., Popkova A.M., Brusentsev E.Yu. Effect of exogenous human chorionic gonadotropin on ovulation in mice. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(8):1006-1010. DOI 10.18699/VJ19.577 (in Russian)

Введение

Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) играет важную роль во время беременности. У человека ХГЧ начинает вырабатываться уже на 6–8-й день беременности

тканью хориона, отсюда и происходит название гормона; его концентрация возрастает в несколько тысяч раз к 7–11-й неделе, а затем начинает постепенно снижаться (Fournier et al., 2015). Этот гормон обладает лютеинизи-

рующей активностью, будучи агонистом рецепторов лютеинизирующего гормона (ЛГ), и превосходит его по этим свойствам (Keay et al., 2004). Благодаря ХГЧ в первые месяцы беременности сохраняется активность желтого тела, которое обеспечивает продукцию прогестерона – «гормона беременности».

ХГЧ характеризуется структурным сходством с ЛГ, оба гормона воздействуют на один и тот же рецептор – ЛГ/ХГЧ (Drakakis et al., 2009). Фактор, отличающий ХГЧ от ЛГ, – более длительный период полувыведения, равный 36 ч, тогда как период полувыведения рекомбинантного ЛГ оценивается примерно в 10–12 ч (Cole, 2010). ХГЧ демонстрирует более сильную аффинность связывания с ЛГ/ХГЧ-рецептором (Drakakis et al., 2009). Независимо от наличия в схеме гормональной стимуляции фолликулостимулирующего гормона, низкие дозы ХГЧ могут поддерживать развитие и созревание наиболее крупных фолликулов яичника, клетки которых приобрели рецепторы ЛГ/ХГЧ в процессе своего роста (Cole, 2010).

Хорионический гонадотропин человека применяется для контроля овуляции у человека и других млекопитающих, а также при лечении бесплодия у обоих полов (Delvigne, Rozenberg, 2002; Homburg, 2004; Амстиславский, 2006). Благодаря ранней продукции гормона трофобластом эмбриона, ХГЧ служит гормональным маркером хромосомных нарушений зародыша у человека (Борисова и др., 2017). Безопасными и эффективными протоколами стимуляции суперовуляции у женщин признаются протоколы с применением гормональных препаратов (Homburg, 2004). В частности, для этих целей широко используют группу гонадотропинов, важнейшим из которых является ХГЧ (Delvigne, Rozenberg, 2002; Homburg, 2004).

В ранних работах было показано, что введение обладающего фолликулостимулирующей активностью гонадотропина сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК) на разных стадиях эстрального цикла мышей влияет на качество получаемых после этой процедуры ооцитов (Tarin et al., 2002). В работе (Wang et al., 2006) было установлено, что преимплантационные эмбрионы, полученные из незрелых ооцитов после последовательной инъекции ГСЖК и ХГЧ, с последующим дозреванием *in vitro* (*in vitro* maturation, IVM) и после искусственного оплодотворения (*in vitro* fertilization, IVF), хуже развиваются при культивировании *in vitro* (*in vitro* culture IVC), чем полученные из дозревших *in vivo* ооцитов. Суперовуляция мышей с использованием инъекций ГСЖК и ХГЧ дает меньшее число зрелых ооцитов, но при этом повышает число ооцитов с деформациями митохондрий, сниженной митохондриальной активностью и продукцией АТФ, по сравнению с ооцитами, полученными при естественной овуляции (Lee et al., 2017). Лишь в единичных работах изучали эффекты гормональной стимуляции препаратом ХГЧ (без комбинации с ГСЖК) на развитие эмбрионов мышей (Ertzeid, Storeng, 1992; Dinopoulou et al., 2016). Тем не менее результаты этих работ противоречивы, требуют дальнейшей проверки.

В настоящее время исследователи разрабатывают новые протоколы суперовуляции. Так, синхронизация эстрального цикла у мышей с последующей инъекцией антиингибиновой сыворотки и ХГЧ позволяет получить

в два раза больше зрелых ооцитов, чем стандартная схема ГСЖК и ХГЧ (Hasegawa et al., 2016). Было показано (Takeo, Nakagata, 2015), что совместное введение антиингибиновой сыворотки с препаратом ГСЖК и последующей инъекцией препарата ХГЧ повышало выход зрелых ооцитов по сравнению с их введением по отдельности. Однако во всех используемых протоколах гормональной стимуляции мышей с целью вызвать суперовуляцию обязательно применяется ХГЧ.

В нашей ранней работе на мышах линии DD выявлено, что доля зрелых форм овулировавших ооцитов была наибольшей после введения гонадотропинов (ГСЖК и ХГЧ) самкам на стадии эструса (Redina et al., 1994). В этом исследовании также было установлено, что после такого сочетанного воздействия двух гонадотропных препаратов у мышей овулируют ооциты разной степени зрелости (Redina et al., 1994). Тем не менее пока неизвестно, как отразится стимуляция самок мышей только препаратом ХГЧ на стадии эструса непосредственно перед спариванием с самцом на качестве ооцитов и дальнейшем протекании беременности. Задачи нашего исследования – изучить характер овуляции у мышей после воздействия экзогенным ХГЧ; установить, как влияет этот гормон на такие параметры, как длительность беременности, эмбриональные потери и вес рожденных потомков.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. В эксперименте было использовано 10 самок мышей линии CD1 в возрасте 2.5 мес. для получения ооцитов и 14 самок мышей тех же линии и возраста для получения потомков. В контрольной и экспериментальной группах было по пять особей для сбора ооцитов и, соответственно, шесть и восемь особей для получения потомков. Для стерильного спаривания использовали пять вазэктомированных самцов для выделения ооцитов и пять фертильных самцов (для беременности). Животных содержали в клетках с подстилкой из опилок в стандартных условиях конвенционального вивария Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск, Россия): при комфортной температуре 22–24 °С, свободном доступе к стандартному корму («Чара», Россия) и очищенной воде, при естественном режиме освещения. Все эксперименты на животных одобрены Комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 5 от 13.05.2011) и соответствуют Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

Протокол гормональной стимуляции овуляции. В нашей работе был использован протокол, описанный ранее (Redina et al., 1994), с модификациями. Для гормональной стимуляции овуляции использовали препарат ХГЧ Chorulon (Intervet, MSD Animal Health, Новая Зеландия). Самкам делали по одной инъекции препарата, растворенного в физиологическом растворе в дозировке 5 МЕ (100 мкл) внутривенно. Введение препарата осуществляли на стадии эструса, с 17:00 до 18:00 ч. Стадию цикла самки определяли по влагалищным мазкам. После инъекций самок подсаживали по одной к каждому вазэктомированному самцу для последующего сбора ооцитов либо к фертильному самцу для получения по-

томства. На утро следующего дня у самок проверяли наличие вагинальных пробок, по которым судили о том, что спаривание состоялось. Контрольным самкам вводили 100 мкл физиологического раствора и спаривали с самцами по аналогичной схеме.

Вазэктомия самцов. Процедуру вазэктомии проводили не менее чем за две недели до начала эксперимента, как было описано ранее, с небольшими модификациями (Hogan et al., 1994). Половозрелых самцов мышей линии CD1 наркотизировали путем внутривентрального введения 0.25 мг/кг препарата медетомедина гидрохлорида (Domitor 1 мг/мл, Orion-Corporation, Финляндия) и через 10 мин 50 мг/кг препарата золетила (Zoletil, SA, Virbac Sante Animale, Франция). После наркотизации мышам подкожно вводили антибиотик: 0.01 мл амоксициллина тригидрата 150 мг/мл (ОАО «Синтез», Россия). Затем животных помещали на подогреваемый столик, шерсть в зоне операционного поля сбрасывали, а кожу обрабатывали 70 % этиловым спиртом. При помощи хирургических ножниц делали горизонтальный надрез длиной около 5 мм кожных покровов мошонки. Подтягивали эпидидимисы к краю хирургической раны и разворачивали их так, чтобы было видно семенные канатики. Семявыносящие каналы отделяли от сопряженных тканей и пережигали раскаленным пинцетом в двух местах, удаляя участок между ними. Эпидидимисы перемещали в первоначальное положение. Затем в рану присыпали 2 мг амоксициллина тригидрата (ОАО «Синтез», Россия). Закрывали надрезы наложением двух швов и обрабатывали их Раносаном (ООО «АПИ-САН», Россия).

Оценка ооцитов. Самок после продуктивного спаривания подвергали эвтаназии при помощи дислокации шейных позвонков. Ооциты извлекали через 20–22 ч после спаривания путем рассечения ампулярной части яйцеводов в питательной среде M2 (Merck, Германия). Для удаления кумулюсных клеток использовали гиалуронидазу (Merck) в концентрации 80 МЕ/мл (Brinster, 1971). Оценивали как по общему числу ооцитов, так и по отдельным категориям: без полярного тела, с формирующимся полярным телом и со сформированным полярным телом (стадия МII мейоза), как было описано ранее (Redina et al., 1994). Оценку ооцитов производили с помощью инвертированного светового микроскопа (DM IL LED, Leica Microsystems, Германия) при увеличении 10×, для фотодокументирования использовали камеру (DFC 295, Leica Microsystems, Германия).

Оценка продолжительности беременности и взвешивание рожденных потомков. Самок, имеющих вагинальные пробки после покрытия фертильными самцами, отсаживали в отдельные клетки. Учитывали долю покрытых самок, а также продолжительность беременности (день родов). Оценивали число рожденных потомков, а также долю живо- и мертворожденных детенышей. Кроме того, на пятый день после рождения производили взвешивание потомков.

Статистический анализ. Данные анализировали с помощью программы Statistica 6.0. Соответствие полученных значений нормальному распределению определяли при помощи критерия Шапиро–Уилка. Результаты по ооцитам, а также продолжительности беременности,

числу рожденных потомков и весу тела представлены как среднее ± ошибка среднего. Для сравнения групп использовали *t*-критерий Стьюдента. Данные по покрытию самок, а также по числу живо- и мертворожденных потомков представлены как процент от общего. При сравнении групп использовали критерий χ^2 . Значения при $p < 0.05$ считали статистически достоверными.

Результаты

Данные по оценке числа и качества ооцитов приведены в табл. 1. Статистический анализ не выявил достоверных различий по общему числу овулировавших ооцитов, а также по числу ооцитов без полярного тела и числу ооцитов с формирующимся полярным телом между экспериментальной и контрольной группами. При этом число ооцитов со сформированным полярным телом было достоверно больше после гормональной стимуляции самок препаратом ХГЧ ($p < 0.05$) по сравнению с контрольной группой (6.2 ± 0.86 и 2.2 ± 0.97 соответственно). Ооциты трех оцениваемых категорий показаны на рисунке.

Данные по оценке продолжительности беременности и рожденных потомков представлены в табл. 2. Статисти-

Table 1. Ovulation in CD1 mice after exposure to exogenous hCG

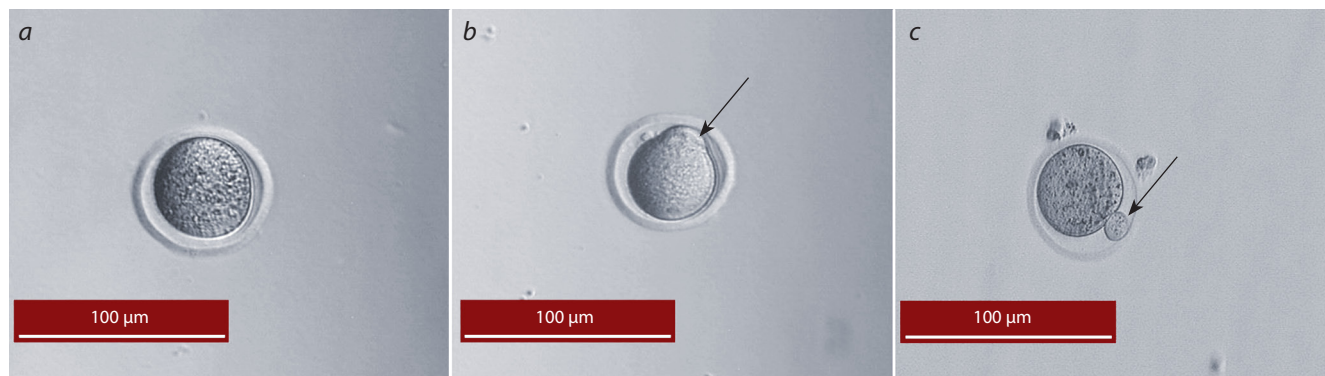
Oocytes	Groups (number of mice per group)	
	Control (n = 5)	hCG (n = 5)
Mean number of ovulated oocytes	12.80 ± 0.58	13.40 ± 1.81
Without polar body	3.40 ± 1.12	1.60 ± 0.81
With forming polar body	7.20 ± 1.93	5.60 ± 1.60
With formed polar body	2.20 ± 0.97	6.20 ± 0.86*

* $p < 0.05$ as compared to control.

Table 2. Evaluation of the duration of pregnancy and the born offspring of CD1 mice after the injection of exogenous hCG

Parameter	Groups (number of animals)	
	Control (n = 6)	hCG (n = 8)
Number of females with vaginal plugs, %	6 (100)	6 (75.00)
Duration of pregnancy, days	19.67 ± 0.33	19.00 ± 0.32
Number offspring		
of born per female	11.83 ± 3.31	10.83 ± 5.78
of live-born, %	71 (100)	65 (90.28)
of stillborn, %	0 (0)	7 (9.72)
Pup weight, g	3.76 ± 0.07	3.16 ± 0.09***

*** $p < 0.001$ as compared to control.



Oocytes of three assessed categories: *a* – without polar body; *b* – with a forming polar body (indicated by an arrow); *c* – with a formed polar body (indicated by an arrow).

ческий анализ не выявил достоверных различий между экспериментальной и контрольной группами по доле покрытых самок, а также по продолжительности беременности и числу рожденных потомков, включая живые и мертворожденные особи. Тем не менее вес детенышей на пятый день после рождения в экспериментальной группе был достоверно ниже ($p < 0.001$), чем в контроле (3.16 ± 0.09 и 3.76 ± 0.07 соответственно).

Обсуждение

Оценка качества ооцитов, полученных после гормонального воздействия на самок мышей препаратом ХГЧ, показала возрастание числа зрелых форм со сформированным полярным телом по сравнению с контрольной группой. Наши данные согласуются с недавними результатами по IVМ ооцитов мышей со стадии герминального везикула, где было установлено, что скорость дозревания в среде с добавлением ХГЧ была значительно выше по сравнению с контрольной группой, а также улучшалось эмбриональное развитие при воздействии препаратом ХГЧ в ходе IVC (Dinoroulou et al., 2016). В работе по влиянию гонадотропинов на доимплантационное развитие мышей (Ertzeid, Storeng, 1992) было выявлено, что после стимуляции овуляции препаратом ХГЧ увеличилось среднее число эмбрионов на мышь, но уменьшилась доля морфологически нормальных эмбрионов по сравнению с группой со спонтанной овуляцией. Улучшение качественного состава овулировавших ооцитов, обнаруженное в нашей работе, по сравнению с исследованием G. Ertzeid и R. Storeng (1992), может быть обусловлено методическими различиями при введении препарата ХГЧ. В наших экспериментах препарат ХГЧ вводили мышам лишь на стадии эструса, в то время как G. Ertzeid и R. Storeng (1992) стадию цикла мышей на момент введения препарата не учитывали. Как было установлено нами ранее (Redina et al., 1994), качество овулировавших ооцитов при введении гормональных препаратов существенно зависит от стадии эстрального цикла на начало гормональной стимуляции.

Результаты изучения воздействия препаратом ХГЧ во время беременности у людей на развитие эмбрионов достаточно противоречивы. Так, в настоящее время накоплено множество данных по позитивному влиянию ХГЧ на пре- и постимплантационный периоды развития зародыша

человека (Kane et al., 2009; Strug et al., 2016; Li et al., 2017; Makrigiannakis et al., 2017). В одном из исследований на людях было обнаружено, что ХГЧ является регулятором пролиферации маточных НК-клеток (natural killer), которые играют важную роль в успешном протекании беременности у человека, воздействуя через рецептор маннозы CD206 (Kane et al., 2009). В работе на приматах было установлено, что после стимуляции яичников внутриматочная инфузия ХГЧ повышает число рецепторов ESR1 и PGR эндометрия, задерживает развитие его стромы, а также способствует синхронизации донора и реципиента, что в конечном счете способствует успешной трансплантации эмбрионов (Strug et al., 2016).

ХГЧ активно используют в репродуктивной медицине для иммуномодуляции эндометрия перед трансплантацией эмбрионов, поскольку он выступает в качестве активатора введенных в полость матки аутологических мононуклеарных клеток периферической крови, что, в свою очередь, повышает эффективность имплантации (Li et al., 2017). Все эти данные свидетельствуют лишь об опосредованном влиянии ХГЧ на развивающийся плод и не учитывают отдаленных эффектов на рожденное потомство.

В более раннем исследовании на мышах было отмечено негативное влияние как комбинации двух гормональных препаратов, ГСЖК и ХГЧ, так и, собственно, экзогенного ХГЧ на пре- и постимплантационное развитие зародышей и возрастание процента резорбированных плодов (Ertzeid, Storeng, 1992). Наши результаты, напротив, подтверждают позитивное влияние ХГЧ на качество овуляции, но при этом продемонстрирована тенденция к повышению доли мертворожденных особей. Обнаруженное нами достоверное снижение веса тела у потомков после введения ХГЧ на пятый день после их рождения согласуется с обнаруженным ранее снижением веса плодов в конце беременности после воздействия экзогенного ХГЧ (Ertzeid, Storeng, 1992). В исследовании на людях было установлено, что зачатые при помощи вспомогательных репродуктивных технологий дети часто рождаются недоношенными и имеют меньший вес тела по сравнению с естественно зачатыми (Sazonova et al., 2011; Henningsen et al., 2015), что также может быть связано со стимуляцией их матерей в период овуляции препаратом ХГЧ.

Заклучение

Таким образом, наше исследование показало, что введение экзогенного ХГЧ самкам мышей перед спариванием их с самцами влияет на овуляцию, улучшая качество ооцитов. Между тем такого рода воздействие оказывает негативное влияние на потомство, отличающееся сниженным весом в первые дни после рождения. Механизмы этих отдаленных эффектов пока остаются непонятными и требуют дальнейшего изучения.

Список литературы / References

- Борисова М.А., Моисеенко Д.Ю., Смирнова О.В. Хорионический гонадотропин человека: неизвестное об известном. Физиол. человека. 2017;43(1):97-110. DOI 10.7868/S0131164616060059. [Borisova M.A., Moiseenko D.Yu., Smirnova O.V. Human chorionic gonadotropin: Unknown about known. Human Physiology. 2017; 43(1):93-104. DOI 10.1134/S0362119716060050].
- Brinster R.L. Measuring embryonic enzyme activity. In: Daniel J.C. (Ed.) Methods in Mammalian Embryology. San Francisco: Freeman, 1971;215-227.
- Cole L.A. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. Reprod. Biol. Endocrinol. 2010;8(1):102. DOI 10.1186/1477-7827-8-102.
- Delvigne A., Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. Hum. Reprod. Update. 2002;8:559-577. DOI 10.1093/humupd/8.6.559.
- Dinopoulou V., Drakakis P., Kefala S., Kiapekou E., Bletsa R., Anagnostou E., Kallianidis K., Loutradis D. Effect of recombinant-LH and hCG in the absence of FSH on *in vitro* maturation (IVM) fertilization and early embryonic development of mouse germinal vesicle (GV)-stage oocytes. Reprod. Biol. 2016;16(2):138-146. DOI 10.1016/j.repbio.2016.01.004.
- Drakakis P., Loutradis D., Beloukas A., Sypsa V., Anastasiadou V., Kalofolias G., Arabatzis H., Kiapekou E., Stefanidis K., Paraskevis D., Makrigiannakis A., Hatzakis A., Antsaklis A. Early hCG addition to rFSH for ovarian stimulation in IVF provides better results and the cDNA copies of the hCG receptor may be an indicator of successful stimulation. Reprod. Biol. Endocrinol. 2009;7:110. DOI 10.1186/1477-7827-7-110.
- Ertzeid G., Storeng R. Adverse effects of gonadotrophin treatment on pre- and postimplantation development in mice. J. Reprod. Fertil. 1992;96:649-655. DOI 10.1530/jrf.0.0960649.
- Fournier T., Guibourdenche J., Evain-Brion D. Review: hCGs: different sources of production, different glycoforms and functions. Placenta. 2015;36(1):60. DOI 10.1016/j.placenta.2015.02.002.
- Hasegawa A., Mochida K., Inoue H., Noda Y., Endo T., Watanabe G., Ogura A. High-yield superovulation in adult mice by anti-inhibin serum treatment combined with estrous cycle synchronization. Biol. Reprod. 2016;94(1):21. DOI 10.1095/biolreprod.115.134023.
- Henningsen A.A., Gissler M., Skjaerven R., Bergh C., Tiitinen A., Romundstad L.B., Wennerholm U.B., Lidgaard O., Nyboe Andersen A., Forman J.L., Pinborg A. Trends in perinatal health after assisted reproduction: a Nordic study from the CoNARTaS group. Hum. Reprod. 2015;30:710-716. DOI 10.1093/humrep/deu345.
- Hogan B., Beddington R., Costantini F., Lacy E. Manipulating the Mouse Embryo. A Laboratory Manual. 2nd ed., New York; Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 1994.
- Homburg R. Management of infertility and prevention of ovarian hyperstimulation in women with polycystic ovary syndrome. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2004;18:773-788. DOI 10.1016/j.bpobgyn.2004.05.006.
- Kane N., Kelly R., Saunders P.T., Critchley H.O. Proliferation of uterine natural killer cells is induced by human chorionic gonadotropin and mediated via the mannose receptor. Endocrinology. 2009;150:2882-2888. DOI 10.1210/en.2008-1309.
- Keay S.D., Vatish M., Karteris E., Hillhouse E.W., Randeve H.S. The role of hCG in reproductive medicine. Br. J. Obstet. Gynecol. 2004; 111(11):1218. DOI 10.1111/j.1471-0528.2004.00412.x.
- Lee M., Ahn J.I., Lee A.R., Ko D.W., Yang W.S., Lee G., Ahn J.Y., Lim J.M. Adverse effect of superovulation treatment on maturation, function and ultrastructural integrity of murine oocytes. Mol. Cells. 2017;40(8):558-566. DOI 10.14348/molcells.2017.0058.
- Li S., Wang J., Cheng Y., Zhou D., Yin T., Xu W., Yu N., Yang J. Intrauterine administration of hCG-activated autologous human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) promotes live birth rates in frozen/thawed embryo transfer cycles of patients with repeated implantation failure. J. Reprod. Immunol. 2017;119:15-22. DOI 10.1016/j.jri.2016.11.006.
- Makrigiannakis A., Vrekoussis T., Zoumakis E., Kalantaridou S.N., Jeschke U. The role of hCG in implantation: A mini-review of molecular and clinical evidence. Int. J. Mol. Sci. 2017;18(6):1305. DOI 10.3390/ijms18061305.
- Redina O.E., Amstislavsky S.Ya., Maksimovsky L.F. Induction of superovulation in DD mice at different stages of the oestrous cycle. J. Reprod. Fertil. 1994;(102):263-267. DOI 10.1530/jrf.0.1020263.
- Sazonova A., Kallen K., Thurin-Kjellberg A., Wennerholm U.B., Bergh C. Obstetric outcome after *in vitro* fertilization with single or double embryo transfer. Hum. Reprod. 2011;26(2):442-450. DOI 10.1093/humrep/deq325.
- Strug M.R., Su R., Young J.E., Dodds W.G., Shavell V.I., Diaz-Gimeno P., Ruiz-Alonso M., Simon C., Lessey B.A., Leach R.E., Fazleabas A.T. Intrauterine human chorionic gonadotropin infusion in oocyte donors promotes endometrial synchrony and induction of early decidual markers for stromal survival: A randomized clinical trial. Hum. Reprod. 2016;31:1552-1561. DOI 10.1093/humrep/dew080.
- Takeo T., Nakagata N. Superovulation using the combined administration of inhibin antiserum and equine chorionic gonadotropin increases the number of ovulated oocytes in C57BL/6 female mice. PLoS One. 2015;10(5):e0128330. DOI 10.1371/journal.pone.0128330.
- Tarin J.J., Perez-Albala S., Cano A. Stage of the estrous cycle at the time of pregnant mare's serum gonadotropin injection affects the quality of ovulated oocytes in the mouse. Mol. Reprod. Dev. 2002; 61(3):398-405. DOI 10.1002/mrd.10042.
- Wang Y., Ock S.A., Chian R.C. Effect of gonadotrophin stimulation on mouse oocyte quality and subsequent embryonic development *in vitro*. Reprod. Biomed. Online. 2006;12(3):304-314. DOI 10.1016/S1472-6483(10)61002-4.

Acknowledgements. This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 19-016-00025, and State Budgeted Project 0259-2019-0003 for ICG SB RAS.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received May 20, 2019. Revised June 13, 2019. Accepted June 13, 2019.