



АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 636.1.082.4

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.2.268

ПРИМЕНЕНИЕ СУРФАГОНА ДЛЯ ИНДУКЦИИ ОВУЛЯЦИИ КОБЫЛ В ЦИКЛАХ ВРТ

Калашников В.В.¹ – акад. РАН, д-р с.-х. наук, проф., науч. рук. ФГБНУ «ВНИИ коневодства» (ORCID 0000-0001-9845-1691); Лебедева Л.Ф.^{1*} – д-р с.-х. наук, доц., зав. лаб. физиологии (ORCID 0000-0001-6960-5233); Солодова Е.В.¹ – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3495-3478); Красильникова Е.А.² – вет. врач

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства»,
² ООО «Поворот ВП»

*Lebedeva-L18@yandex.ru

Ключевые слова: гонадотропный релизинг гормон; люлеберин ацетат; сурфагон; хорионический гонадотропин человека; эструс; диаметр фолликула; интервал до овуляции.

Key words: gonadotropic releasing hormone; luleberin acetate; surfagon; human chorionic gonadotropin; estrus; follicle diameter; interval before ovulation.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках конкурса Российского научного фонда 2022 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами» (Проект № 23-16-00226).

Поступила: 12.03.2024

Принята к публикации: 10.06.2024

Опубликована онлайн: 28.06.2024



РЕФЕРАТ

С целью прогнозирования сроков овуляции кобыл для получения зрелых ооцитов и фолликулярной жидкости в циклах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) применяли отечественный аналог ГнРГ сурфагон в двух дозах (40 и 50 мкг) на фоне сравнения с эффективностью ранее применяемого препарата ХГЧ. Инъекции сурфагона проводили внутримышечно при достижении лидирующим фолликулом диаметра 35 мм и более, наличии максимального или начавшего снижаться отёка матки. Анализ продолжительности интервалов между внутримышечной инъекцией 40 мкг и 50 мкг препарата и овуляцией показал, что в промежутке между 37 и 48 часами после инъекции происходит 72,4 и 35% овуляций, соответственно. Результат применения 40 мкг сурфагона аналогичен результатам применения ХГЧ - 72 и 74% овуляций в данном промежутке, соответственно. Следовательно, препарат «Сурфагон» в дозе 40 мкг наиболее приемлем для применения в циклах ВРТ. Всего 3,4% овуляций после применения 40 мкг сурфагона происходит в интервале до 24 часов после инъекции. Поэтому его применение позволяет планировать забор фолликулярной жидкости и ооцита из преовуляторного фолликула методом ОРУ через 24

часа. Отечественный препарат Сурфагон (люлеберин ацетат, ЗАО «Мосагроген», Москва) эффективен для индукции овуляции у кобыл и может служить альтернативой использованию ХГЧ и импортных аналогов ГнРГ как в обычной практике воспроизводства, так и в планировании процедур ОРУ с целью забора фолликулярной жидкости и извлечения ооцитов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Применение фолликулярной жидкости в качестве среды для созревания ооцитов *in vitro* является оптимальной и эффективной заменой базовым средам, в которые необходимо добавление дорогостоящих гормональных добавок и факторов роста. Установлено, что включение фолликулярной жидкости как добавки в среду для созревания ооцитов *in vitro* влияет на скорость созревания ооцитов и развитие полученных эмбрионов. Чистая преовуляторная фолликулярная жидкость лошадей, собранная после стимуляции ГнРГ, превосходит по уровню ядерного и цитоплазматического созревания ооцитов стандартные питательные среды [1,2]. Однако фолликулярная жидкость для этой цели должна иметь гормональный состав, соответствующий преовуляторной стадии развития фолликула.

Во время продолжительной эстральной фазы кобыл (5-7 дней), обусловленной медленным подъёмом лютеинизирующего гормона (ЛГ), который играет решающую роль в созревании ооцита и овуляции фолликула, значительное повышение концентрации ЛГ происходит лишь за 48 часов до овуляции [3,4]. Поэтому забор фолликулярной жидкости должен производиться в этот период. Кроме этого, прогнозирование сроков овуляции необходимо при использовании метода трансплантации свежих эмбрионов для синхронизации кобыл доноров и реципиентов [5].

Определение времени овуляции по размеру фолликула, изменению его формы и упругости, ультразвуковым характеристикам фолликула и эндометрия не всегда точно и успешно. Поэтому широко вошло в практику использование гормональных препаратов, которые индуцируют овуляцию через определённый промежуток времени. В настоящее время существует три типа препаратов для индукции овуляции: человеческий хорионический

гонадотропин (ХГЧ), агонисты гонадотропного релизинг – гормона (ГнРГ) и рекомбинантный лютеинизирующий гормон (ЛГ).

ХГЧ - гликопротеин, который обладает биологическими свойствами как лютеинизирующего (ЛГ), так и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов. Он связывается с обоими типами рецепторов к гонадотропинам, но его лютеинизирующая активность значительно преобладает над фолликулостимулирующей [6, 7]. Установлено, что внутривенная или внутримышечная инъекция ХГЧ в дозах 1500-3000 МЕ при наличии в яичнике фолликула диаметром ≥ 35 мм позволяет прогнозировать овуляцию через 24-48 часов после инъекции [8, 9, 10, 11].

Однако, повторные инъекции ХГЧ вызывают образование антител, период полураспада которых варьирует от одного до нескольких месяцев. Из-за образования антител его применение в трёх - четырёх циклах подряд может вызвать отсутствие реакции на препараты ХГЧ и задержку овуляции до 60-96 часов после инъекции [7, 9].

ГнРГ – декапептид нейронного гормона с коротким периодом полураспада (от 5 до 10 минут), синтезируется в гипоталамусе и высвобождается в пульсирующем режиме [12]. Его состав одинаков для всех видов млекопитающих. По порտальным сосудам гипоталамо-гипофизарной системы он транспортируется в аденогипофиз, где стимулирует секрецию и высвобождение гонадотропинов (ФСГ и ЛГ). Частота импульсного высвобождения ГнРГ оказывает значительное влияние на экспрессию генов гонадотропинов. Высокая частота вызывает максимальную стимуляцию альфа-и ЛГ-бета-мРНК, более низкие частоты сигнализируют об экспрессии ФСГ-бета-мРНК. Этот уникальный биосинтетический механизм позволяет не только про-

изводить два гормона в пределах одного типа клеток с помощью одного сигнального гормона, но и влияет на их дифференциальное высвобождение. ФСГ стимулирует фолликулярный рост и созревание, что приводит к выработке эстрогенов гранулёзными клетками стенки фолликула, а ЛГ индуцирует овуляцию доминирующего фолликула и образование желтого тела, которое вырабатывает прогестерон [6,13, 14].

Таким образом, ГнРГ является естественным фактором, индуцирующим овуляцию. Его синтетические аналоги (бусерелин, дезлорелин и гистрелин) имеют более длительный период полураспада, что увеличивает потенциал действия препаратов. Экспрессия бета-гена ЛГ, ведущая к его биосинтезу, сильно зависит от дозы вводимого препарата - аналога ГнРГ [14].

В настоящее время наиболее часто используемыми препаратами агонистами ГнРГ являются: дезлорелин (SucroMate™, Bioniche Life Sciences Inc.) и ацетат бусерелина (Receptal; MSD Animal Health) (в инъекционной форме); в форме имплантата – дезлорелин ацетат (Ovuplant™, Fort Dodge Animal Health/Peptec).

Первым препаратом, выпущенным и одобренным для использования в США в 1998 году, стал Ovuplant™, содержащий 2,1 мг дезлорелин ацетата. Это подкожный имплантат с замедленным высвобождением действующего вещества, который в 114 раз мощнее нативного ГнРГ. Однако, не удалённый имплантат задерживает фолликулярный рост и возвращение в охоту незажеребевших кобыл. Это объясняется тем, что его непрерывное высвобождение снижает уровень секреции ФСГ и ЛГ из гипофиза и приводит к длительным межовуляторным интервалам. Поэтому для предотвращения пролонгации межовуляторных интервалов имплантат необходимо удалять через 2 дня после установки [15,16,17].

В результате испытаний препаратов агонистов ГнРГ в инъекционной форме (дезлорелина, гистрелина и бусерелина), стало понятно, что инъекционные раство-

ры также эффективны в индуцировании овуляции кобыл [16, 18, 19, 20]. Наиболее мощным из этих трёх препаратов оказался гистрелин (в 210 раз мощнее нативного ГнРН). Выяснено, что внутримышечная инъекция 0,25 или 0,5 мг препарата, при наличии в яичнике фолликула диаметром 35 мм, индуцирует овуляцию в среднем через 48 часов.

С 2010 года в США начали производить инъекционную форму дезлорелин ацетата, препараты которого содержат 1,8 мг/мл дезлорелин ацетата, что эквивалентно 1,7 мг дезлорелина. Вспомогательные вещества изобутират ацетата сахарозы и карбонат пропиленов способствуют контролируемому высвобождению препарата. У 90% кобыл после инъекции 1,8 мг (1 мл) дезлорелин ацетата овуляция происходит в среднем через 41 час. Поэтому, дезлорелин и гистрелин из-за сильного и пролонгированного действия на гипоталамус и гипофиз названы суперагонистами ГнРГ [16].

В 10 раз менее мощный, чем эти агонисты - ацетат бусерелина (Receptal; MSD Animal Health). Он также лицензирован для индукции овуляции у кобыл. Исследования показали, что овуляция может быть индуцирована с помощью одной инъекции 40 мкг (10 мл) бусерелина. Его эффективность не отличается от эффективности других синтетических аналогов и ХГЧ. Частота овуляции составляет 89-95%, среднее время от инъекции до овуляции - 48 часов [18].

За 15 лет, после идентификации и расшифровки химической структуры ГнРН было синтезировано более 2000 его аналогов [16]. В России производятся препараты: «Сурфагон» и «Сурфагон Ультра» (с содержанием действующего вещества люлеберин ацетата, 5, 10 и 50 мкг/мл). Выпускаются эти препараты ЗАО «Мосагроген» и ООО «НПК «Асконт+». Проведено достаточно много исследований по эффективности действия зарубежных препаратов-аналогов ГнРГ [16,18,19,20]. Однако, в России данных по результатам применения отечественных препаратов недостаточно. В официаль-

ных инструкциях по использованию сурфагона даются схемы применения только для коров, свиноматок и овцематок.

С целью определения эффективности применения отечественного препарата «Сурфагон» и возможности прогнозирования индукции овуляции у кобыл при применении данного препарата в циклах вспомогательных репродуктивных технологий, мы поставили перед собой задачу установить временной интервал, в течение которого происходит овуляция у большинства кобыл после инъекции и определить оптимальную дозу препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование было проведено на кобылах экспериментальной конюшни ВНИИ коневодства, матках племенного завода ООО «Лаг-Сервис Агро». Всего в опыте по применению сурфагона было задействовано 75 голов. Опыт проводили на циклирующих кобылах с января по август. Живая масса кобыл составляла 400-550 кг, возраст от 3 до 16 лет. Кормление и содержание кобыл соответствовало принятым зоотехническим нормам.

Для сравнения были выбраны две дозы препарата – 40 и 50 мкг. 40 мкг – аналогично применению импортного препарата ацетат бусерелина с подобной активностью, 50 мкг – аналогично рекомендациям для применения на коровах. Кобылы I опытной группы (n=29 циклов) получали инъекцию препарата в дозе 40 мкг, II группы (n=40 циклов) – 50 мкг. Для сравнения был проведен анализ применения для этих же целей препарата ХГЧ отечественного производства на матках ООО «Локотской конный завод» в дозах 2000-2500 МЕ. В обработку взяты данные по 113 циклам кобыл (III-контрольная группа), которым применяли ХГЧ не более чем в трёх циклах подряд. Для анализа, время от инъекции до овуляции было разбито на интервалы: 12-24, 25-36, 37-48, 49-60, >60 часов.

Препараты вводились кобылам в эструсе при максимальном или начавшем снижаться отёке матки и наличии в яичнике фолликула диаметром ≥ 35 мм. Сред-

ний диаметр фолликула определяли путём деления на два суммы наибольших диаметров по вертикали и горизонтали. Диагностику проводили на ультразвуковых сканерах Mindrey DP-50 (Китай) и Ехаго (Франция). Проверку кобыл проводили с интервалом 12 часов, таким образом, точность определения времени от инъекции до овуляции составила ± 6 часа.

Данные обрабатывали по общепринятой методике расчета статистических характеристик, оценивая достоверность различий между группами с использованием критерия Стьюдента-Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Анализ полученных данных показал, что количество овуляций, произошедших в интервале до 48 часов после обработки сурфагоном, и в той, и другой дозе, не имеет достоверных различий с результатами после применения ХГЧ (86,9 и 92% соответственно) (Таблица 1). Наибольшее количество овуляций при обработке любым препаратом происходит в промежутке между 37 и 48 часами после инъекции. Однако, при применении сурфагона в дозе 40 мкг, в отличие от применения сурфагона в дозе 50 мкг овуляций в этом интервале происходит в 2 раза больше ($p \leq 0,001$).

Из таблицы 1 видно, что при использовании дозы 50 мкг, распределение овуляций в первых трёх периодах происходит более равномерно чем при применении препарата в дозе 40 мкг. Это объясняется, по-видимому, большим количеством действующего вещества, вводимого в организм кобылы, что приводит к более быстрому ответу гипофиза на воздействие аналога ГнРГ и более раннему повышению лютеинизирующего гормона. Следует отметить, что все овуляции, вошедшие в интервал 49-60 часов, как в первой, так и второй группе произошли до 52 часов после инъекции.

Как при применении сурфагона, так и использовании ХГЧ определённый процент овуляций происходит ранее 25 часов после инъекции. Возможно, это объясняется тем, что во время инъекции доминирующий фолликул уже находится под

влиянием эндогенного ЛГ [13]. Исходя из результатов нашего исследования, наименьшее количество овуляций в этот период происходит при применении 40 мкг сурфагона – 3,4% (1/29), наибольший – при применении 50 мкг – 20% (8/40). Преждевременные овуляции, т.е. овуляции, происходящие в период 12-24 часа после инъекции, в обычной практике сокращают продолжительность эструса до 2-3 дней, что отрицательно сказывается на зажеребляемости [21]. В циклах ВРТ такой исход гормональной подготовки кобыл может нарушить запланированные через 24 часа процедуры забора ооцитов

(ОПУ) из преовуляторных фолликулов [1, 2].

По результатам нашего исследования, а также исследований других авторов [8, 11, 21] после инъекции препаратов ХГЧ и аналогов ГнРГ от 2 до 12 % овуляций может происходить более чем через 48 часов. В этих случаях при осеменении или случке кобыл возможно повторное использование сурфагона через 2-2,5 суток после первой инъекции. В циклах ВРТ многократное повторное использование в смежных циклах, в отличие от использования ХГЧ, не вызовет образования антител [7].

Таблица 1 – Распределение овуляций по временным интервалам после инъекции сурфагона в дозах 40 и 50 мкг и ХГЧ в дозе 2500 МЕ

Группа	Диаметр фолликула, мм, M±m	Распределение овуляций по временным интервалам, n (%)					Всего овуляций, n (%)
		Интервалы от инъекции до овуляции, часов					
		12-24	25-36	37-48	49-60	>60	
I *	40,1±0,7	1(3,4±3,3)	4(13,8±6,4) ³	21(72,4±8,3) ¹	2(6,9±4,7)	1(3,4±3,3)	29(100)
II**	40,1±0,5	8(20,0±6,3)	12(30,0±7,2)	14(35,0±7,5) ²	5(12,5±5,2)	1(2,5±2,4)	40(100)
III ***	40,2±0,3	4(3,5±1,7)	9(8,0±2,5)	91(80,5±3,7)	7(6,1±2,2)	2(1,8±1,25)	113 (100)

*- сурфагон в дозе 40 мкг; **- сурфагон в дозе 50 мкг; ***- ХГЧ; $p^{1,2} \leq 0,001$, $p^{1,3} \leq 0,001$

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. Отечественный препарат Сурфагон (люлеберин ацетат, ЗАО «Мосагроген», Москва) эффективен для индукции овуляции у кобыл и может служить альтернативой использованию ХГЧ и импортных аналогов ГнРГ как в обычной практике воспроизводства, так и в планировании процедур ОПУ с целью забора фолликулярной жидкости и извлечения ооцитов.

2. Оптимальной дозой для использования в циклах ВРТ является доза 40 мкг, обеспечивающая 72% овуляций у кобыл в промежутке между 35 и 48 часами после инъекции.

THE USE OF SURFAGON FOR OVULATION INDUCTION OF MARES IN ART CYCLES

Kalashnikov V.V.¹ – acad. RAS, Doctor of Agricultural Sciences, prof., Scientific director of the Federal State Institute "The All-Russian Research Institute for Horse

Breeding" (ORCID 0000-0001-9845-1691); **Lebedeva L.F.**¹ * – Doctor. Agricultural Sciences, Associate Professor, Head. Of the lab. Physiology (ORCID 0000-0001-6960-5233); **Solodova E.V.**¹ – Candidate of Biol. Sciences, scientific co-workers (ORCID 0000-0003-3495-3478); Krasilnikova E.A.² – veterinarian at «Povorot» VP LLC.

*Lebedeva-L18@yandex.ru

Financing: The materials were prepared within the framework of the 2022 competition of the Russian Science Foundation "Conducting fundamental scientific research and exploratory scientific research by individual scientific groups" (Project No. 23-16-00226).

ABSTRACT

In order to predict the timing of ovulation in mares, to obtain mature oocytes and

follicular fluid in ART cycles, the domestic analogue of GnRH surfagon was used in two doses (40 and 50 mcg) against the background of comparison with the effectiveness of the previously used hCG drug. Surfagon injections were carried out intramuscularly when the leading follicle reached a diameter of 35 mm or more, and there was maximum or decreased edema of the uterus. An analysis of the duration of the intervals between intramuscular injection of 40 µg and 50 µg of the drug and ovulation showed that 72.4 and 35% of ovulations occur, respectively, between 37 and 48 hours after injection. The result of using 40 µg of surfagon is similar to the results of using hCG - 72 and 74% of ovulations in this period, respectively. Therefore, the drug "Surfagon" at a dose of 40 µg is most suitable for use in ART cycles. Only 3.4% of ovulations after the use of 40 µg of surfagon occur in the interval up to 24 hours after injection. Therefore, its use allows planning the collection of follicular fluid and oocyte from the preovulatory follicle using the OPU method after 24 hours. The domestic drug Surfagon (lyuleberin acetate, CJSC Mosagrogen, Moscow) is effective for the induction of ovulation in mares and can serve as an alternative to the use of HCG and imported GnRH analogues both in normal reproduction practice and in planning OPU procedures for the purpose of follicular fluid intake and oocyte extraction.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bøgh, I.B., Bézard, J., Duchamp, G., Baltsen, M., Gérard, N., Daels, P., Greve, T. (2002). Pure preovulatory follicular fluid promotes in vitro maturation of in vivo aspirated equine oocytes. *J. Theriogenology*, 57 (7), 1765-1779. doi: 10.1016/s0093-691x (02)00650-7.
2. Dell'Aquila, M.E., Cho Y.S., Minoia, P., Traina, V., G.M. Lacalandra, G.M., Maritato, F. (1997). Effects of follicular fluid supplementation of in-vitro maturation medium on the fertilization and development of equine oocytes after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *J. Human Reproduction*, 12(12), 2766-2772.
3. Satué, K., Gardón, J.C. (2013). A Review of the Estrous Cycle and the Neuroendocrine Mechanisms in the Mare. *J. Steroids Horm. Sci*, 4(2), 2.
4. Ginther, O.J., Utt, M.D., Bergfelt, D.R., & Beg, M.A. (2006). Controlling Interrelationships of progesterone/LH and estradiol/LH in mares. *Anim. Reprod. Sci.* 95, 144-150.
5. Солодова Е. В. Факторы, влияющие на эффективность трансплантации эмбрионов. / Е. В. Солодова // Коневодство и конный спорт. – 2018. – № 3. – С. 30-31.
6. Sauberli, D.S. (2013). The effectiveness and efficiency of ovulation induction agents in mares (Academic dissertation) Urbana, Illinois: Veterinary Clinical Medicine in the Graduate College of the University of Illinois at Urbana-Champaign., 1-31.
7. Солодова Е.В. Эффективность повторного применения хорионического гонадотропина у кобыл / Е. В. Солодова // Коневодство и конный спорт. – 2019. – № 3. – С. 36-37.
8. Ferreira-Silva, J.C., Nascimento, P.S., Moura, M. T., Basto, S.R.L., Azevedo, M.V., Rocha, J.M., Filho, José, P.S. & Lemos, O.M.A. (2018). Induction of Ovulation in Mangalarga Marchador Mares by hCG or GnRH. *J. Acta Scientiae Veterinariae*, 46, 1536.
9. Green, J.M., Raz, T., Epp, T., Carley, S.D., & Card, C.E. (2007). Relationships between utero - ovarian parameters and ovulatory response to human chorionic gonadotrophin (hCG) in mares. In: AAEP Annual Convention-Orlando, 2007 by American Association of Equine Practitioners 563-567. Retrieved from <https://www.ivis.org/library/aaep/aaep-annual-convention-orlando>
10. Лебедева Л. Ф. Использование хорионического гонадотропина для стимуляции овуляции фолликулов у кобыл / Л. Ф. Лебедева, М. М. Атрощенко // Ветеринария. 2017. – № 5. – С. 35-38.
11. Loy, R. G., & Hughes, J.P. (1966). The effect of HCG on ovulation, length of estrus and fertility in the mare. *J. Cornell Vet.*, 56 (1), 41-50
12. Phetudomsinsuk, K. (2017). Investigation into the effect of prostaglandin F2a,

GnRH analogue and hCG on induction of ovulation in mares. *Thai. Vet. Med.*, 47(4), 493-499

13. Irvine, C., & Alexander, S. (1994). The dynamics of gonadotropin-releasing hormone, LH and FSH secretion during the spontaneous ovulatory surge of the mare as revealed by intensive sampling of pituitary venous blood. *J. Endocrinology*, 140(2), 283-295.

14. Kaiser, U.B., Conn, P. M., Chinet, W.W. (1997). Studies of gonadotropin – releasing hormone (GnRH) action using GnRH receptor-expressing pituitary cell lines. *J. Endocrine Reviews*, 18(1), 46-70.

15. Ingwerson, J.A. (2007). Induction of ovulation and LH response in cyclic mares treated with gonadorelin diacetate tetrahydrate. Retrospective Theses and Dissertations. Retrieved from <https://lib.dr.iastate.edu/rtd/14897>

16. Pinto, C.R.F. (2013) Hormones and Breeding. In-depth: reproductive endocrinology, AAEP proceeding, 59, 331-336. Retrieved from <https://aaep.org/sites/default/files/issues/Repro/Pinto1.pdf>

17. Ganheim, A., & Jochle, W. (1995). Acceleration and timing of fertile ovulation in cyclic mares with a deslorelin implant. *J. Acta Veterinaria Scandinavica*, 36(4), 393-400.

18. Barrier-Battut, I., & Le Poutre, N. (2001). Use of busorelin to induce ovulation in the cyclic mare. *J. Theriogenology*, 55, 1679-1695.

19. Ferris, R.A., Lindholm, A. R.G., Scofield, D. B., & Hatzel, J.N. (2012). Efficacy of deslorelin acetate (Sucromate) on induction of ovulation in American Quarter Horse mares. *J. Equine Veterinary Science*, 32(5), 286-288.

20. Lindholm, A., Scofield, D.B., McCue P.M., & Ferris, D. (2011). Comparison of deslorelin and histrelin for induction of ovulation in mares. *J. Equine Veterinary Science*, 31(5), 312-313.

21. Солодова Е. В. Анализ зажеребляемости кобыл в различных по продолжительности естественных и стимулированных циклах / Е. В. Солодова // Коневодство и конный спорт. 2019. – № 1. – С. 20-23.

REFERENCES

1. Bøgh, I.B., Bézard, J., Duchamp, G., Baltsen, M., Gérard, N., Daels, P., Greve.T. (2002). Pure preovulatory follicular fluid promotes in vitro maturation of in vivo aspirated equine oocytes. *J. Theriogenology*, 57 (7), 1765-1779. doi: 10.1016/s0093-691x(02)00650-7.

2. Dell'Aquila, M.E., Cho Y.S., Minoia.P., Traina.V., G.M.Lacalandra. G.M., Maritato.F. (1997). Effects of follicular fluid supplementation of in-vitro maturation medium on the fertilization and development of equine oocytes after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *J. Human Reproduction*, 12(12), 2766–2772.

3. Satué, K., Gardón, J.C. (2013). A Review of the Estrous Cycle and the Neuroendocrine Mechanisms in the Mare. *J. Steroids Horm. Sci.*, 4(2), 2

4. Ginther, O.J., Utt, M.D., Bergfelt, D.R., & Beg, M.A. (2006). Controlling Interrelationships of progesterone/LH and estradiol/LH in mares. *Anim. Reprod. Sci.* 95.144–150.

5. Solodova E.V. Factors influencing the effectiveness of embryo transplantation. / E.V. Solodova // Horse breeding and equestrian sport. – 2018, No. 3, pp. 30-31.

6. Sauberli, D.S. (2013). The effectiveness and efficiency of ovulation induction agents in mares (Academic dissertation) Urbana, Illinois: Veterinary Clinical Medicine in the Graduate College of the University of Illinois at Urbana-Champaign., 1-31

7. Solodova E.V. Efficiency of repeated use of human chorionic gonadotropin in mares / E.V. Solodova // Horse breeding and equestrian sport. – 2019, No. 3, pp. 36-37.

8. Ferreira-Silva, J.C., Nascimento, P.S., Moura, M.T., Basto, S.R.L., Azevedo, M.V., Rocha, J.M., Filho, José, P.S. & Lemos, O.M.A. (2018). Induction of Ovulation in Mangalarga Marchador Mares by hCG or GnRH. *J. Acta Scientiae Veterinariae*, 46, 1536.

9. Green, J.M., Raz, T., Epp, T., Carley, S.D., & Card, C.E. (2007). Relationships between utero-ovarian parameters and ovulatory response to human chorionic gonadotropin (hCG) in mares. In: AAEP Annual Convention-Orlando, 2007 by American

- Association of Equine Practitioners 563–567. Retrieved from <https://www.ivis.org/library/aaep/aaep-annual-convention-orlando>
10. Lebedeva L.F., Atroshchenko M.M. The use of human chorionic gonadotropin to stimulate ovulation of follicles in mares. / Lebedeva L.F., Atroshchenko M.M. // *Veterinary medicine*. -2017. - No. 5. – P. 35-38.
11. Loy, R. G., & Hughes, J. P. (1966). The effect of HCG on ovulation, length of estrus and fertility in the mare. *J. Cornell Vet.*, 56(1), 41-50
12. Phetudomsinsuk, K. (2017). Investigation into the effect of prostaglandin F2a, GnRH analogue and hCG on induction of ovulation in mares. *Thai. Vet. Med.*, 47(4), 493-499
13. Irvine, C., & Alexander, S. (1994). The dynamics of gonadotropin-releasing hormone, LH and FSH secretion during the spontaneous ovulatory surge of the mare as revealed by intensive sampling of pituitary venous blood. *J.Endocrinology*, 140(2), 283-295.
14. Kaiser, U.B., Conn, P.M., & Chinnet, W.W. (1997). Studies of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) action using GnRH receptor-expressing pituitary cell lines. *J. Endocrine Reviews*, 18(1), 46-70.
15. Ingwerson, J.A. (2007). Induction of ovulation and LH response in cyclic mares treated with gonadorelin diacetate tetrahydrate. Retrospective Theses and Dissertations. Retrieved from <https://lib.dr.iastate.edu/rtd/14897>
16. Pinto, C.R.F. (2013) Hormones and Breeding. In-depth: reproductive endocrinology, AAEP proceeding, 59, 331-336. Retrieved from <https://aaep.org/sites/default/files/issues/ReproPinto1.pdf>
17. Ganheim, A., & Jochle, W. (1995). Acceleration and timing of fertile ovulation in cyclic mares with a deslorelin implant. *J. Acta Veterinaria Scandinavica*, 36(4), 393-400.
18. Barrier-Battut, I., & Le Poutre, N. (2001). Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. *J. Theriogenology*, 55, 1679-1695.
19. Ferris, R. A., Lindholm, A. R. G., Scofield, D. B., & Hatzel, J. N. (2012). Efficacy of deslorelin acetate (Sucromate) on induction of ovulation in American Quarter Horse mares. *J. Equine Veterinary Science*, 32(5), 286-288.
20. Lindholm, A., Scofield, D. B., McCue P. M., & Ferris, D. (2011). Comparison of deslorelin and histrelin for induction of ovulation in mares. *J. Equine Veterinary Science*, 31(5), 312-313.
21. Solodova E.V. Analysis of the pregnancy rate of mares in natural and stimulated cycles of various durations. / E.V. Solodova // *Horse breeding and equestrian sport*. – 2019. - No. 1. – P. 20-23.