

УДК 577.95;575;591.3;592/599

## ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ

© 2014 г. Д. С. Рагаева\*, \*\*, Е. Ю. Брусенцев\*, С. Я. Амстиславский\*, \*\*

\* Институт цитологии и генетики СО РАН

630090 Новосибирск, пр. Лаврентьева, д. 10

\*\* Новосибирский государственный университет

630090 Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2

E-mail: amstis@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 17.02.14 г.

Окончательный вариант получен 04.04.14 г.

Рассмотрено влияние вспомогательных репродуктивных технологий на развитие гипертензивного фенотипа. Особое внимание уделено вопросам влияния культивирования и трансплантации преимплантационных эмбрионов на артериальное давление у развившихся из этих эмбрионов особей. Проведен анализ исследований, выполненных на лабораторных моделях, главным образом на гипертензивных линиях крыс. Проведено обсуждение этих данных в контексте применения вспомогательных репродуктивных технологий в медицине.

**Ключевые слова:** преимплантационные эмбрионы, вспомогательные репродуктивные технологии, артериальная гипертензия.

DOI: 10.7868/S0475145014050085

Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) широко применяются в современной медицине для лечения женского и мужского бесплодия (Sullivan et al., 2013). Первый ребенок, полученный в результате ЭКО, родился в Великобритании в конце 70-х годов (Stepoe, Edwards, 1978), а за 36 лет после этого события число детей, полученных в результате той или иной модификации данного метода, превысило 5 миллионов (Sullivan et al., 2013). Современный комплекс ВРТ включает в себя экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) (Stepoe, Edwards, 1978); интродитоплазматическую инъекцию сперматозоидов или ИКСИ (Intra-cytoplasmic Sperm Injection, ICSI) (Palermo et al., 1992); интродитоплазматическую инъекцию селекционированных по морфологии сперматозоидов или ИМСИ (Intra-cytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection, IMSI) (Berkovitz et al., 2005); искусственное осеменение (Steiman, Taumog, 1977); дозревание ооцитов *in vitro* (IVM) (Veck et al., 1983), криоконсервацию гамет (Sherman, 1963) и преимплантационных эмбрионов (Mohr, Trounson, 1985); трансплантацию зигот (Devroey et al., 1989) и эмбрионов (Mason et al., 1990). Особое место в этом списке занимает такая ключевая технология, как культивирование преимплантационных эмбрионов *in vitro* (IVC)

(McLaren, Biggers, 1958; Summers, Biggers, 2003; Брусенцев и др., 2014).

Современные ВРТ не только помогают преодолеть различные формы бесплодия, но и предупредить появление у ребенка тяжелых наследственных болезней, благодаря преимплантационной генетической диагностике (ПГД) (Handyside et al., 1990; Collins, 2013). Методы ВРТ все время усложняются, однако каждый дополнительный технологический этап чаще всего снижает процент имплантации эмбрионов (Hardy et al., 2002).

Первоначальный вариант ЭКО, разработанный Эдвардсом и его коллегами был направлен, главным образом, на преодоление женского бесплодия (Stepoe, Edwards, 1978). Суть этого метода состоит в том, чтобы экстракорпорально (*in vitro*) оплодотворить яйцеклетку, а затем ввести полученный эмбрион в полость матки для дальнейшего развития. В классическом варианте зародыши, полученные в результате экстракорпорального оплодотворения яйцеклеток, трансплантируют на стадии дробления после культивирования в течение 2–3 суток (Mason et al., 1990; Tan et al., 1990; Hardy et al., 2002). Однако по мере того, как происходит совершенствование культуральных сред (Брусенцев и др., 2014) и появляется осознание преимуществ культивирования полученных в ходе ЭКО зародышей до бластоцисты (Blake et al.,

2007), все большее распространение получает трансплантация более поздних стадий развития зародышей. В современных программах ЭКО эмбрионы перед трансплантацией, все чаще, культивируют *in vitro* в CO<sub>2</sub>-инкубаторе до 5–6 сут и трансплантируют на стадии бластоцисты (Hardy et al., 2002; Blake et al., 2007).

#### ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКО И ДРУГИХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ

Несмотря на длительное применение ВРТ в клинике, отдаленные эффекты этих технологий до сих пор остаются не до конца изученными. Накопливаются данные о том, что при применении ВРТ чаще возникает осложненная беременность (Sazonova et al., 2011), а дети, рожденные при помощи этих технологий больше подвержены риску возникновения определенных заболеваний и нарушений в ходе онтогенеза (Zhang et al., 2010; Lu et al., 2013; Sandin et al., 2013).

Показано, что по сравнению с детьми, зачатыми естественным путем, дети, полученные с использованием ЭКО, чаще рождаются недоношенными и имеют низкий вес при рождении (Sazonova et al., 2011), однако по достижении возраста 5–6 лет имеют более высокий рост по сравнению со сверстниками, зачатыми естественным путем (Miles et al., 2007).

Дети, рожденные с применением ВРТ, чаще обычных детей имеют предрасположенность к различным заболеваниям (Davies et al., 2012; Lu et al., 2013). В частности, у них увеличивается риск возникновения канцерогенеза (Horsthemke, Ludwig, 2005; Ludwig et al., 2005), а также повышается процент возникновения врожденных дефектов сердечно-сосудистой системы (Kallen et al., 2010). Даже если дети после применения процедур ЭКО рождаются здоровыми, они чаще страдают сердечно-сосудистыми заболеваниями по мере взросления, и, что особенно важно в контексте данного обзора, у них обнаружено небольшое, но достоверное повышение артериального давления (Seelen et al., 2008). Возможный механизм данного явления был предложен Scherger et al. (2012), которые установили, что нарушение функционирования сосудов у рожденных в результате ВРТ подростков встречалось существенно чаще, чем у детей, зачатых естественным путем.

Метод ICSI, который позволяет обойти естественную селекцию сперматозоидов, признается как наиболее опасный (Berkovitz et al., 2005; Sandin et al., 2013). Например, установлено, что пороки развития чаще наблюдаются у новорожденных, полученных с использованием ICSI (Cox et al., 2002; Bonduelle et al., 2005). В частности, у мальчиков наблюдались аномалии развития уро-

генитального тракта (Bonduelle et al., 2005). В 2013 году на большом статистическом материале была установлена взаимосвязь между процедурой ЭКО и патологиями аутистического спектра, а также задержкой умственного развития (Sandin et al., 2013). Исследователи выяснили, что использование метода ICSI статистически достоверно повышает риск возникновения этих заболеваний. Однако, усовершенствованная форма этого метода – IMSI – позволяет избежать многих проблем, связанных с отсутствием селекции сперматозоидов при традиционном ICSI (Berkovitz et al., 2005).

Трансплантация более чем одного эмбриона может привести к многоплодной беременности и сокращению периода внутриутробного развития, что повышает риск преждевременных родов и низкого веса тела новорожденных детей (Lu et al., 2013). Действительно, при естественной многоплодной беременности наблюдается высокий процент (80%) дородовых осложнений: преждевременные роды, внутриутробная задержка развития, внутриутробная гибель плода, гестационный диабет и преэклампсия (Norwitz et al., 2005). При трансплантации же одного эмбриона (single embryo transfer – SET) значительно снижается риск такого рода отклонений (Gerris, 2009). Однако даже при применении SET осложнения беременности возникают чаще, чем при естественном размножении без применения репродуктивных технологий (Sazonova et al., 2011).

Некоторые исследователи считают, однако, что дефекты у новорожденных детей после ЭКО могут быть в большей мере обусловлены бесплодием их родителей, чем, собственно, применением процедур ВРТ (Romundstad et al., 2008; Hayashi et al., 2012). Влияние оказывает не только конкретное заболевание, но и общее состояние здоровья родителей, возраст матери и другие факторы. Исследователи из Китая предположили, что технологии ВРТ, в частности стандартное ЭКО, могут повлиять на потомство через изменение экспрессии генов в плаценте (Zhang et al., 2010). Действительно, при применении ВРТ у некоторых пациентов изменяется экспрессия генов плаценты, вовлеченных в иммунный ответ в системе взаимодействий матери и плода и регуляции клеточной дифференцировки, что может повлиять на развитие эмбриона (Zhang et al., 2010).

Учитывая то, что интерпретация результатов применения ВРТ на людях затруднена и то, что применение этих технологий в различных клиниках различается, выводы о влиянии тех или иных репродуктивных технологий на полученное в результате их применения потомство можно сделать лишь при анализе не только клинических данных, но и экспериментов на лабораторных животных.

## АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ И ГИПЕРТЕНЗИВНЫЕ ЛИНИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Хотя у детей, рожденных с применением ВРТ, нарушения в развитии сердечно-сосудистой системы, в частности, повышение АД наблюдаются далеко не всегда, эти наблюдения представляются очень важными в связи с тем, что гипертонической болезнью в развитых странах страдают 20–30% взрослого населения (Yach et al., 2004). С возрастом распространенность болезни возрастает и в некоторых странах достигает 50–60% (Cooper et al., 2005). Большими гипертонической болезнью считаются люди, характеризующиеся стойким повышением артериального давления (АД), у которых систолическое артериальное давление (САД) превышает 140 мм рт. ст., а диастолическое артериальное давление (ДАД) выше 90 мм рт. ст. (Vabatsikou, Zavistanou, 2010). Для лабораторных животных нет столь же четкого определения гипертонических значений АД как для человека. Тем не менее, большинством исследователей признается, что гипертоническим порогом при работе с лабораторными животными считается 150 мм рт. ст.

### *Методы измерения артериального давления*

Как в клинической практике, так и в эксперименте на животных, в частности, на крысах, АД измеряют прямым и непрямим методом. Прямой метод измерения АД у человека применяется только в стационарных условиях при хирургических вмешательствах, когда введение в артерию пациента зонда с датчиком необходимо для непрерывного контроля уровня давления. Преимущество этого метода заключается в том, что давление измеряется постоянно, отображаясь в виде кривой давление/время, однако в силу своей инвазивности, данный метод по отношению к человеку применяется редко.

Иногда данный метод применяют при работе с лабораторными животными, особенно крысами (Амстиславский, 1986; Lee, Azar, 2010). При этом у достаточно взрослых крыс канюлируют хвостовую артерию (Амстиславский, 1986), а крысытам иногда канюлируют другие артерии, в частности, сонную и бедренную (Lee, Azar, 2010). С помощью системы трубок канюлю соединяют с датчиком давления. Несмотря на сложность подобных хирургических операций, с помощью данного способа удается измерять артериальное давление у крысят в возрасте одной недели и даже у новорожденных (Lee, Azar, 2010).

С появлением телеметрического оборудования, которое позволяет не только измерять прямым методом АД, но и осуществлять это, минимизируя стресс для животного, которое может находиться в своей домашней клетке, существенно расширились возможности изучения гипертен-

зии и эти методы становятся все более популярными (Molcan et al., 2009; Braga, Burmeister, 2011)

В настоящее время в клинической практике, а также и в эксперименте на животных, чаще всего применяют не прямые методы измерения АД. Аускультативный метод измерения АД у человека был предложен в 1905 г. Н.С. Коротковым. Типичный прибор для определения давления по методу Короткова (сфигмоманометр или тонометр) состоит из пневмоманжеты, устройства для нагнетания воздуха в манжету с регулируемым клапаном для стравливания и устройства, измеряющего давление в манжете. САД определяют при декомпрессии манжеты в момент появления первой фазы тонов Короткова, а ДАД – по моменту их исчезновения. Эти методы общеизвестны и более подробное их описание выходит за рамки данной обзорной статьи.

Классический метод измерения АД у животных основан на сходных принципах. Для сфигмографического измерения АД у крыс (Bunag, Batterfield, 1982) на хвост животного одевают манжету, и нагнетают в нее воздух, при этом специальный датчик регистрирует пульс в хвостовой артерии. Фиксируют АД в момент исчезновения пульсовой волны по мере нагнетания воздуха в манжету. Показано, что при исследованиях, проводимых на крысах, результаты измерения АД сфигмографическим (непрямым) методом и путем прямого канюлирования артерий дают сходные результаты (Wen et al., 1988). Непрямым методом при помощи манжеты одеваемой на хвост животного можно измерять АД как у взрослых крыс (Bunag, Batterfield, 1982; Wen et al., 1988), так и у крысят в возрасте 1.5 мес. (Амстиславский и др., 1998) и даже в возрасте 3 недели (Markel et al., 1999).

### *Генетические модели артериальной гипертензии*

Лабораторные исследования АГ проводят преимущественно на крысах, другие виды животных используют для этих целей гораздо реже (Pinto et al., 1998). Гипертензию вызывают либо экспериментально, либо путем селекции или трансгенеза создают линии генетически предрасположенные к артериальной гипертензии (Pinto et al., 1998; Rapp, 2000; De Artinano, Castro, 2009; Bader, 2010).

В настоящее время существует несколько линий крыс и мышей, которые являются генетическими моделями АГ. В обзорной статье, опубликованной более десятилетия назад, Rapp (2000), например, перечисляет 10 генетических моделей, полученных на крысах. В настоящее время число гипертонических линий лабораторных животных, преимущественно крыс, выросло, хотя и не очень значительно (De Artinano, Castro, 2009; Bader, 2010).

Линия SHR (Spontaneously Hypertensive Rats) полученная исходно в Японии (Okamoto, Aoki, 1963) имеет сходные проявления с эссенциальной

гипертонией человека: гипертрофию сердца, склероз коронарных артерий, коронарную недостаточность и т.д. Эта генетическая модель используется для изучения патогенеза АГ и ее эффектов на сердечно-сосудистую систему. Впоследствии, из SHR была получена линия SHRSP (stroke prone SHR) со спонтанной гипертонией и склонностью к инсультам (Okamoto et al., 1973). В настоящее время существует несколько сублиний крыс SHR (Pravenec et al., 2010). Выяснилось, однако, что аналогия между человеческой эссенциальной гипертонией и крысами со спонтанной гипертонией (SHR) далеко не полная (Trippodo, Frochlich, 1981; Corvol et al., 1999). Линия SHR является, безусловно, наиболее популярной в мире генетической моделью для исследования гипертонии и число экспериментальных работ, выполненных с использованием крыс этой линии, весьма велико (Pinto et al., 1998). Со временем стало, однако, очевидно, что человеческая патология имеет разнородную этиологическую основу, и каждая из существующих в настоящее время моделей (гипертензивных линий) отражает какую-то из разновидностей гипертонии (Corvol et al., 1999).

Другими линиями крыс с генетически обусловленной артериальной гипертонией, полученными путем традиционной селекции, являются Миланская гипертензивная линия MHS (Milan Hypertensive Strain) (Bianchi, Ferrari, 1995), Лионская гипертензивная линия: LH (Lyon Hypertensive) (Julien et al., 1997), Новозеландская линия: GH (Genetically Hypertensive) была получена в Новой Зеландии в 1958 г. (Smirk, Hall, 1958; Simpson et al., 1984).

Помимо линий крыс, у которых артериальная гипертония возникает практически всегда, а условия среды либо отягощают, либо смягчают ее проявление, существуют и такие, у которых артериальная гипертония возникает лишь при наличии провоцирующего фактора. Примером могут служить линии Даля (Dahl), полученные в США. Существует соль-чувствительная (Dahl Salt-Sensitive, SS) и соль-резистентная линии (Dahl Salt-Resistant, SR) – гипертензивная и нормотензивная соответственно. Развитие гипертонии у линии DS идет на фоне диеты с повышенным содержанием поваренной соли (8% NaCl) (Dahl et al., 1962).

Линии Sabra, также как и линии Dahl, бывают чувствительными и резистентными: Sabra hypertension-prone (SBH/y) и Sabra hypertension-resistant (SBN/y). Крысы чувствительной линии были получены введением дезоксикортикостерона на фоне повышенного содержания NaCl (1%) в воде для питья (Ben-Ishay et al., 1972).

Относительно недавно были получены и трансгенные гипертензивные линии, как крыс, так и мышей (Lee et al., 1996; Pinto et al., 1998; Caron et al., 2002; Bader, 2010).

Особый интерес в контексте данного обзора представляет линия крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертонией (НИСАГ), полученная в Институте цитологии и генетики СО РАН (Маркель, 1985; Markel et al., 1999). У крыс НИСАГ найдены изменения миокарда и сосудов, характерные для гипертонии, нарушения в адренергической системе головного мозга, почек и сердца (Амстиславский, 1986; Klimov et al., 2013), функциональные и морфологические изменения в почках и надпочечниках (Бузуева и др., 2006; Amstislavsky et al., 2006; Пыльник и др., 2012), биохимические изменения на уровне клеточных мембран, а именно, в ион-транспортующих системах клетки (Markel et al., 1992) и ряд других нарушений. В целом, для НИСАГ характерна повышенная активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (Markel et al., 2007; Антонов и др., 2010; 2011; Klimov et al., 2013).

#### ХАРАКТЕР ПРОТЕКАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ, ВЕС ПОТОМСТВА И ГИПЕРТЕНЗИЯ

В начале 1990-х годов была обнаружена закономерность между протеканием беременности, весом ребенка при рождении и последующим риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, диабета второго типа и артериальной гипертонией (Barker, 1995; 1999). Эта закономерность была сформулирована в виде гипотезы Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) Дэвидом Баркером. Согласно этой гипотезе, как здоровье, так и некоторые болезни человека программируются условиями его раннего развития, в частности пренатального (Barker, 1995; Paneth, Susser, 1995). В соответствии с его гипотезой адаптационные ответы на различные стимулы во время критических периодов беременности могут иметь отдаленные эффекты из-за перестройки в системах регуляции гомеостаза (Bateson et al., 2004). Имеется множество подтверждений того, что как недостаточное, так и избыточное питание во время беременности увеличивает риск возникновения сердечно-сосудистых патологий у потомства (Waterland, Michels, 2007; Gilbert, Nijland, 2008; Loi et al., 2013).

В настоящее время гипотеза Баркера подтверждена экспериментами на лабораторных животных. Так, например, низкопротеиновая диета во время беременности у крыс приводила к гипертензивным состояниям у потомства, которое выражалось в достоверном повышении АД, причем это гипертензивное состояние было либо лишь в определенном возрасте (Harrison, Langley-Evans, 2009), либо длилось в течение нескольких месяцев, на протяжении всего периода эксперимента (Stewart et al., 2005). Кроме характера диеты на

риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний сказываются и другие факторы, воздействующие во время беременности, например избыток глюкокортикоидов (Gilbert, Nijland, 2008). Исследования на людях показали, что низкий вес детей при рождении может быть вызван не только питанием беременной женщины (Barker, 1995; 1999), но и избыточным стрессом во время беременности (Wadhwa et al., 1993). Стресс, как известно, приводит к повышению уровня глюкокортикоидов (Selye, 1936; Chrousos, Kino, 2009). На крысах было продемонстрировано, что при фармакологических воздействиях во время беременности, приводящих к повышению эндогенного уровня глюкокортикоидов, у потомства наблюдали уменьшение массы тела и повышение артериального давления (Lindsay et al., 1996). Более того, введение глюкокортикоидов (дексаметазона) крысам в течение критических периодов беременности вызывало снижение веса потомства, а по мере взросления ожидаемый гипертензивный фенотип проявлялся, когда животные подвергались стрессу, и такое повышение артериального давления сохранялось на длительный срок (O'Regan et al., 2008).

Особо следует подчеркнуть, что низкопротеиновая диета именно во время преимплантационного периода беременности у крыс сопровождалась характерными изменениями у потомства, такими, как сниженный вес потомков при рождении, их усиленный рост в течение первых недель жизни, а также повышение артериального давления (Kwong et al., 2000). При этом было отмечено снижение числа клеток как во внутренней клеточной массе (ВКМ), так и в трофобласте бластоцист тех самок крыс, которых содержали на низкопротеиновой диете (Kwong et al., 2000).

Гипотеза DOHaD применительно к преимплантационным эмбрионам имеет два направления: "quiet embryo hypothesis" и "stress-response models" (Leese, 2012). Первое направление предполагает, что в преимплантационных зародышах системы поддержания гомеостаза предупреждают изменение метаболизма и проявление негативных эффектов (Leese, 2002). Согласно "stress-response models", напротив, факторы стресса, воздействующие на преимплантационные эмбрионы в субоптимальных условиях при культивировании *in vitro*, влияют на их изменения в метаболизме (Xie et al., 2011).

#### ВЛИЯНИЕ РАННИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ: РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Влияние ранних пре- и постнатальных воздействий на формирование сердечно-сосудистой си-

стемы изучают на лабораторных мышах и, особенно, крысах. Главным образом такого рода исследования проводят на специально созданных линиях с генетической предрасположенностью к развитию артериальной гипертензии, полученных путем селекции или трансгенеза. Наиболее известные из них кратко охарактеризованы выше. Также приведены современные методы измерения артериального давления

#### *Изменение материнской среды в раннем постнатальном онтогенезе: влияние на формирование гипертензивного фенотипа*

Влияние ранней материнской среды на проявление гипертензии систематически изучалось на крысах линии со спонтанной гипертензией (SHR) и контрольных крысах линии WKY. В одном из ранних исследований (Cierpial, McCarty, 1987), в котором выводки этих контрастных линий подвергали кросс- или ин-фостерингу (то есть, их воспитывали приемные матери альтернативной линии, либо своей собственной линии), было продемонстрировано, что гипертензия у 3-х месячных крыс SHR не развивается, если крысят этой линии вскармливали приемные матери линии WKY. Ин-фостеринг, однако, не отменял развитие гипертензии у крыс SHR. В случае же с нормотензивными крысами линии WKY, ни ин-фостеринг, ни вскармливание крысят приемными матерями SHR не приводили к достоверному изменению кровяного давления и развитию гипертензии. Интересно отметить, что хотя кровяное давление у крыс SHR, воспитанных WKY, было существенно ниже, чем у крыс SHR, не подвергавшихся кросс-фостерингу, однако воспитанные нормотензивными матерями WKY крысята SHR сохраняли высокую стресс-реактивность (Cierpial et al., 1990a). Более поздние исследования на этой модели были направлены на то, чтобы понять биологическую основу существенного смягчения и замедления развития гипертензии у крыс линии SHR при воспитании их приемными матерями нормотензивной линии WKY.

Было установлено, что материнское поведение крыс SHR и WKY существенным образом различается (Myers et al., 1989a), но при этом во многом зависит от генотипа воспитуемых крысят (Cierpial et al., 1990b; Myers et al., 1989b). При воспитании крысят альтернативной линии материнское поведение сдвигается в сторону характерную для этой линии. С учетом этих новых фактов были проведены эксперименты, при которых в выводки SHR или WKY подсаживали единственного крысенка альтернативной линии (McCarty, Lee, 1996). Данное исследование подтвердило то, что у крыс SHR, воспитанных WKY, кровяное давление существенно ниже, чем у крыс SHR, воспитанных их биологическими матерями. При этом на кро-

вяное давление крыс WKY ин- и кросс-фостеринг влияния не оказывали. Более поздние исследования пытались дифференцировать эффекты изменения материнской среды в пре- и постнатальном онтогенезе крыс SHR, с этой целью меняли не только кормящую мать, но и проводили трансплантацию эмбрионов между контрастными линиями крыс (Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010). В целом, результаты этих исследований подтвердили и расширили представления, заложенные в более ранних работах.

Работы по перекрестному воспитанию между крысами SHR и WKY (Cierpial, McCarty, 1987; McCarty, Lee, 1996; Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010; Lee et al., 2011), несмотря на различия в экспериментальном дизайне, имели вполне воспроизводимый результат. Кровяное давление у животных с генотипом SHR, воспитанных приемными матерями нормотензивной линии, было ниже, чем в случае воспитания биологическими родителями. В то же время крысы WKY, воспитанные приемными матерями SHR, не становились гипертензивными, и их кровяное давление не отличалось от контроля. Наряду с влиянием на кровяное давление, перекрестное воспитание оказывало воздействие на вес животных и другие физиологические характеристики (McCarty, Lee, 1996; Lee, Azar, 2010; Lee et al., 2011).

В качестве возможных причин того, что полное развитие гипертензии у крыс SHR требовало наличия гипертензивной матери, было выдвинуто две основные гипотезы: ключевым фактором являются либо особенности материнского поведения крыс SHR, либо количественные или качественные особенности молока матери и характера вскармливания (McCarty, 1999; Ashton, 2000). Первая гипотеза, несмотря на свою привлекательность, подтверждения не получила (McCarty, 1999; Ashton, 2000).

Для кормящих самок SHR было показано изменение количественных показателей выработки молока (Gouldsborough et al., 1998; Ashton, 2000; Lee et al., 2011). Кроме того, молоко крыс SHR и WKY отличалось по составу: у крыс SHR в молоке было обнаружено повышенное содержание хлористого натрия, а также уменьшение калия, кальция и белка (McCarty, Tong, 1995). Однако наиболее существенным фактором считается то, что в течение первых двух первых недель периода вскармливания самки SHR выделяют существенно меньше молока, чем самки WKY (Gouldsborough et al., 1998; Ashton, 2000; Lee et al., 2011). Эти факты подтверждают гипотезу о том, что роль постнатальной материнской среды в развитии гипертензии опосредована, главным образом, через количество и качество молока.

В исследованиях на некоторых других гипертензивных линиях крыс были получены сходные результаты. Так, при перекрестном воспитании

гипертензивных крыс линии НИСАГ и нормотензивным контролем Wistar развитие гипертензии у генетически предрасположенных к ней крыс не прекращалось полностью, но существенно замедлялось. Лишь у стареющих животных (8 мес.) гипертензия, в конце концов, развивалась, однако в более мягкой форме, чем у крыс НИСАГ, воспитанных собственными матерями. Следует отметить, что на всем протяжении эксперимента, то есть с возраста 1.5 мес. и до 8 мес., АД у крыс НИСАГ, воспитанных приемными матерями Wistar, было на 20–25 мм рт. ст. ниже, чем у животных этой линии, не подвергавшихся перекрестному воспитанию (Амстиславский, 2006).

Однако эксперименты по перекрестному воспитанию крыс линии GH и Wistar показали, что имеет место не только смягчение гипертензии у генетически предрасположенных к гипертензии крысят GH после вскармливания их приемными матерями нормотензивной линии Wistar, но и повышение АД у крыс Wistar при вскармливании их приемными матерями GH (Ledingham, Ashton, 2005). Еще более необычным были результаты перекрестного воспитания, проведенные на линиях Dahl (Dene, Rapp, 1985). После вскармливания крысят гипертензивной соль-чувствительной линии Dahl (SS/Jr) приемными матерями нормотензивной соль-резистентной линии Dahl (SR/Jr) наблюдалось резкое повышение АД у самцов в возрасте одного месяца, после чего происходило его снижение до прежнего уровня (Dene, Rapp, 1985). В более поздних исследованиях изменений АД после кросс-фостеринга этих линий обнаружено не было (Kubisch et al., 1998). Такие расхождения результатов, полученных на GH и Dahl, в сравнении с результатами, полученными на НИСАГ и SHR, могут быть связаны с межлинейными различиями и генетическими особенностями каждой из перечисленных линий, поскольку механизмы, лежащие в основе развития гипертензии у этих линий различны (Rapp, 2000; Bader, 2010).

Помимо экспериментов, связанных с изменением материнской среды, то есть кросс- и ин-фостерингом, некоторые исследователи используют и другие способы длительной модификации гипертензивного фенотипа в ходе раннего постнатального онтогенеза, такие как хэндлинг (табл. 1). Хэндлинг осуществляют различными способами. Например, животных в раннем возрасте (1–21 день жизни) размещают в отдельных маленьких клетках на 3–10 мин (Tang et al., 1982; Kudryashova et al., 2004), либо ежедневно берут на руки на 10 минут (Кондратенко, Ломтева, 2003). Было показано, что у крыс линии SHR, подвергавшихся хэндлингу, АД существенно ниже, чем у SHR не прошедших хэндлинг (Tang et al., 1982). Подобные результаты были получены и на крысах линии НИСАГ, которых подвергали хэндлингу в период вскармливания. У этих животных АД в усло-

**Таблица 1.** Последствия изменения материнской среды в раннем постнатальном онтогенезе: формирование сердечно-сосудистой патологии и гипертензии у потомков

Модель	Эффекты у потомства	Величина и длительность эффектов	Ссылки
<i><b>Влияние кросс-фостеринга на крыс гипертензивных и не гипертензивных линий</b></i>			
1. Линии SHR и WKY	Смягчение гипертензии у крыс SHR воспитанных WKY	Снижение АД на 20–30 мм рт. ст. до 12 недельного возраста	McCarty, 1999; Ashton, 2000; Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010; Lee et al., 2011
2. Линии GH и Wistar	Смягчение гипертензии у крыс GH воспитанных Wistar	Снижение АД на 15 мм рт. ст. с 6 по 9 неделю постнатального онтогенеза	Ledingham, Ashton, 2005
	Развитие транзиторной гипертензии у крыс Wistar воспитанных GH	Увеличение АД на 30 мм рт. ст. с 6 по 10 неделю постнатального онтогенеза	Ledingham, Ashton, 2005
3. Линии Dahl (SS/Jr) и Dahl (SR/Jr)	Усиление гипертензии у самцов крыс Dahl (SS/Jr) воспитанных Dahl (SR/Jr)	Увеличение АД на 40 мм рт. ст. с 4 по 5 неделю постнатального онтогенеза	Dene, Rapp, 1985
	Отсутствие эффекта	Отсутствие эффекта	Kubisch et al., 1998
4. Линии НИСАГ и Wistar	Смягчение гипертензии у крыс НИСАГ воспитанных Wistar	Снижение АД на 20–25 мм рт. ст. в течение постнатального онтогенеза (1.5–8 мес.)	Амстиславский, 2006
<i><b>Влияние хэндлинга на крыс гипертензивных линий</b></i>			
1. Линия SHR	Смягчение гипертензии	Снижение АД на 30 мм рт. ст.	Tang et al., 1982
2. Линия НИСАГ	Снижение гипертензивной реакции на стресс	АД при стрессе на 25 мм рт. ст. ниже чем в группе без хэндлинга	Kudryashova et al., 2004

виях стресса (получасовая рестрикция) было существенно ниже, чем в контрольной группе НИСАГ, не подвергавшихся хэндлингу (Kudryashova et al., 2004).

*Изменения пренатальной материнской среды в связи с формированием гипертензивного фенотипа: культивирование и трансплантация эмбрионов*

Одним из направлений современных исследований является выяснение на лабораторных моделях отдаленных последствий применения ВРТ по отношению к полученным потомкам (Khosla et al., 2001; Fernandez-Gonzalez et al., 2004; Sjöblom et al., 2005; Ecker et al., 2004; Calle et al., 2012). Особый интерес в контексте данной обзорной статьи представляют работы, в которых изучали отдаленные эффекты применения ключевых репродуктивных технологий по отношению к артериальному давлению у развившихся в результате применения этих технологий потомков (табл. 2). Показано, в частности, что применение трансплантации эмбрионов, иногда в сочетании с их криоконсервацией и длительным культивирова-

нием как на мышах (Watkins et al., 2007), так и на крысах (Kubisch et al., 1988; Amstislavsky et al., 1996; Kubisch, Gómez-Sánchez, 1999; Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010; Рагаева и др., 2013) приводит к изменениям в развитии сердечно-сосудистой системы потомков.

Изучение отдаленных эффектов изменения пренатальной материнской среды в связи с изменениями АД у потомков и гипертензией производят с использованием метода перекрестной трансплантации эмбрионов у нормотензивных и гипертензивных линий крыс (табл. 2). В наиболее полных работах наряду с методом трансплантации эмбрионов применяют также метод перекрестного воспитания с целью оценить вклад постнатальных материнских влияний в ходе периода вскармливания (Dene, Rapp, 1985; Kubisch et al., 1988; Kubisch, Gómez-Sánchez, 1999; Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010).

В работах по трансплантации эмбрионов между крысами линий SHR и WKY было получено подтверждение того, что гипертензивный фенотип крыс SHR проявляется позже в онтогенезе и в более мягкой форме, если эмбрионы этой линии

**Таблица 2.** Последствия изменения материнской среды в пренатальном онтогенезе: формирование сердечно-сосудистой патологии и гипертензии у потомков

Модель	Эффекты у потомства	Величина и длительность эффектов	Ссылки
<i><b>Влияние трансплантации эмбрионов у крыс гипертензивных и не гипертензивных линий</b></i>			
1. Перекрестная трансплантация эмбрионов между гипертензивной линией SHR и нормотензивной линией WKY	а. Отсутствие эффектов	Отсутствие эффектов	Gray, 1991
	б. Задержка и (или) смягчение развития гипертензии у крыс SHR	У самцов SHR рожденных реципиентами WKY АД достигало гипертензивного порога на один месяц позже и было, в возрасте 1–3 мес. в среднем, на 20–40 мм рт. ст. ниже, чем у обычных крыс SHR, однако к возрасту 5 мес. АД в этих группах уже не отличалось	Di Nicolantonio et al., 2006
	в. Существенное смягчение развития гипертензии у крыс линии SHR	У самцов SHR рожденных реципиентами WKY АД в возрасте 4 мес. было, в среднем, более, чем на 50 мм рт. ст. ниже, чем у обычных крыс SHR	Lee, Azar, 2010
2. Трансплантация эмбрионов от крыс гипертензивной линии НИСАГ в матку реципиентов той же линии (НИСАГ)	Смягчение проявления гипертензии у крыс линии НИСАГ	У самцов НИСАГ рожденных реципиентами НИСАГ в возрасте 4 мес. АД было, в среднем, на 20 мм рт. ст. ниже, чем у обычных крыс НИСАГ	Amstislavsky et al., 1996
3. Трансплантация эмбрионов от крыс гипертензивной линии НИСАГ в матку крыс нормотензивной линии Вистар)	Усиление проявления гипертензии у крыс линии НИСАГ	У самцов НИСАГ рожденных реципиентами Вистар в возрасте 4 мес. АД было, в среднем, на 40 мм рт. ст. выше, чем у обычных крыс НИСАГ	Amstislavsky et al., 1996
4. Трансплантация эмбрионов от крыс гипертензивной линии НИСАГ в матку нормотензивных гибридных крыс	Усиление проявления гипертензии у крыс линии НИСАГ	У самцов НИСАГ рожденных нормотензивными гибридными реципиентами АД в возрасте 2 мес. было, в среднем, на 20 мм рт. ст. выше, чем у обычных крыс НИСАГ	Рагаева и др., 2013
5. Перекрестная трансплантация эмбрионов между гипертензивной линией SS/JrCtr и нормотензивной линией SR/Jr	Отсутствие эффектов	Отсутствие эффектов	Dene, Rapp, 1985
	Смягчение развития гипертензии у крыс линии линии	Гипертензия развивалась у самцов SS/JrCtr рожденных реципиентами SR/Jr лишь в 4 мес. т.е. на 10 недель позже обычного и при этом АД у таких крыс в среднем, было более, чем на 50 мм рт. ст. ниже, чем у обычных крыс SS/JrCtr	Kubisch, Gómez-Sánchez, 1999
<i><b>Влияние трансплантации эмбрионов в сочетании с их криоконсервацией</b></i>			
1. Перекрестная трансплантация эмбрионов между гипертензивной линией SHR и нормотензивной линией WKY	Отсутствие эффектов	Отсутствие эффектов	Mizuno et al., 1986
2. Трансплантация эмбрионов от крыс гипертензивной линии НИСАГ в матку нормотензивной линии Вистар)	Существенное смягчение развития гипертензии у крыс линии НИСАГ к крысам-реципиентам линии Вистар	У самцов и самок НИСАГ рожденных реципиентами Вистар АД в возрасте 4 мес. было, в среднем, на 25 мм рт. ст. ниже, чем у обычных крыс НИСАГ	Amstislavsky et al., 1996



Таблица 2. Окончание

Модель	Эффекты у потомства	Величина и длительность эффектов	Ссылки
<i>Влияние длительного культивирования эмбрионов в сочетании с их трансплантацией</i>			
1. Культивирование размороженных эмбрионов крыс гипертензивной линии НИСАГ в течение 48 часов перед их трансплантацией нормотензивным гибридным реципиентам	Смягчение усиления гипертензии вызванной прямой трансплантацией (без культивирования)	У самцов НИСАГ рожденных реципиентами WAG в возрасте 2 мес. АД не отличалось от обычных крыс НИСАГ	Рагаева и др., 2013
2. Культивирование эмбрионов гибридных нормотензивных мышей в течение 96 часов перед их трансплантацией реципиентам того же генотипа	Достоверное повышение АД не достигающее гипертензивного порога	У самцов и самок рожденных в результате культивирования и последующей трансплантации АД в возрасте 21 недели было на 10 мм рт. ст. выше, чем у мышей того же генотипа рожденных естественным путем	Watkins et al., 2007

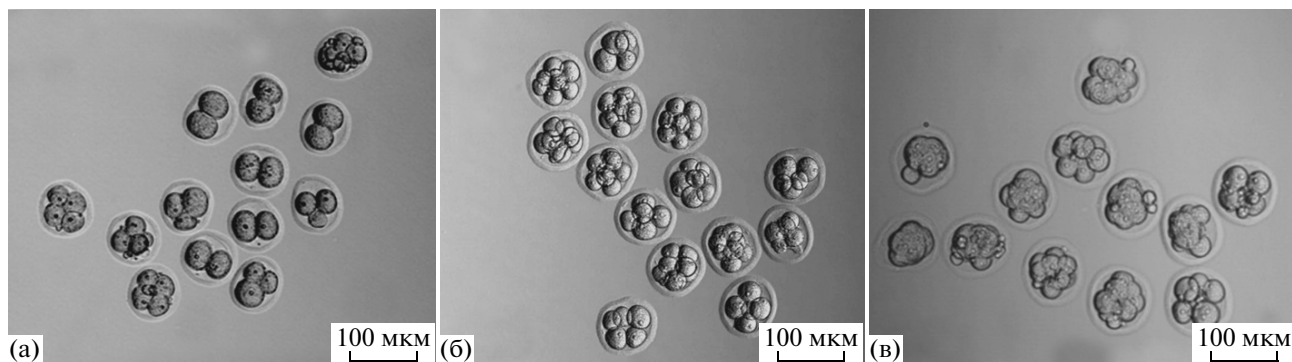
развиваются в репродуктивном тракте нормотензивных крыс WKY (Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010), хотя в более ранних исследованиях этого эффекта обнаружено не было (Mizuno et al., 1986; Gray, 1991). В исследовании Ди Николантино с соавторами (2006) было продемонстрировано, что АД у крыс SHR, развившихся из эмбрионов, трансплантированных реципиентам нормотензивной линии WKY, остается сниженным в течение первых пяти месяцев жизни, независимо от того, вскармливают ли таких крысят родившие их самки-реципиенты линии WKY или же их передают на вскармливание приемным матерям SHR.

В работах на соль-чувствительной и соль-резистентной линиях Даля были сделаны сходные наблюдения о том, что гипертензия у первых существенно смягчается при трансплантации их эмбрионов нормотензивным реципиентам соль-резистентной линии (Kubisch et al., 1998; Kubisch, Gómez-Sánchez, 1999), хотя в более раннем исследовании не было обнаружено никаких эффектов (Dene, Rapp, 1985).

При трансплантации эмбрионов нормотензивных линий реципиентам с артериальной гипертензией не было обнаружено повышений давления у потомков ни в одном из исследований (табл. 2). Интересно отметить, что при трансплантации эмбрионов гипертензивных крыс НИСАГ в матку реципиентов той же самой гипертензивной линии НИСАГ наблюдалось смягчение гипертензии у крыс НИСАГ, однако если эмбрионы НИСАГ трансплантировали реципиентам нормотензивной линии Вистар (Amstislavsky et al., 1996) или гибридным реципиентам (Рагаева и др., 2013), то у потомков НИСАГ, полученных в результате этой трансплантации, наблюдалось, наоборот, усиление проявления гипертензии. Интерес-

но отметить, что при этом масса крысят этой группы была существенно ниже по сравнению с крысятами НИСАГ, рожденными своими естественными матерями, что находится в полном соответствии с гипотезой DONaD.

Другие вспомогательные репродуктивные технологии, наряду с собственно трансплантацией эмбрионов, могут существенным образом влиять на артериальное давление потомков. Особо следует отметить исследование, проведенное на мышях (Watkins et al., 2007). В данной работе эмбрионы гибридных мышей не склонных к развитию гипертензии (CBA и C57BL/6) трансплантировали на стадии бластоцисты реципиентам того же самого генотипа. Причем эти эмбрионы либо сразу вымывали на стадии бластоцисты и трансплантировали, либо получали на более ранних стадиях дробления и перед трансплантацией подвергали культивированию *in vitro* в течение двух суток. Оказалось, что у потомков, развившихся после трансплантации этих эмбрионов, как у самцов, так и у самок АД было существенно повышенным по сравнению с мышами, рожденными естественным путем. Причем наиболее длительные эффекты в виде стойкого повышения АД (хотя и не достигавшего гипертензивного порога) наблюдались именно после сочетания длительного культивирования эмбрионов с их последующей трансплантацией реципиентам. В этом же исследовании показано, что бластоцисты, культивированные *in vitro*, имели меньшее число клеток трофобласта и внутренней клеточной массы по сравнению с полученными *in vivo* бластоцистами, однако, в полном соответствии гипотезой DONaD, потомки, развившиеся из этих зародышей, отличались наиболее быстрым увеличением массы тела после рождения и наиболее стойкими



Эмбрионы крыс линии НИСАГ (Наследственная индуцированная стрессом артериальная гипертензия): (а) после замораживания-криоконсервации-оттаивания, (б) после культивирования *in vitro* в течение 24 ч, (в) после культивирования *in vitro* в течение 48 ч.

и выраженными гипертензивными проявлениями (Watkins et al., 2007).

Нами проведен пилотный эксперимент по изучению отдаленных эффектов эмбриотрансплантации и длительного культивирования зародышей *in vitro* крыс линии НИСАГ на формирование гипертензивного фенотипа (Рагаева и др., 2013). Преимплантационные эмбрионы крыс линии НИСАГ были заморожены на стадии 2–4 клеток при помощи программного замораживателя CL 8800 (Cryologic, Австралия).

После оттаивания их культивировали *in vitro* в CO<sub>2</sub> инкубаторе (Binder, Германия) в среде R1ECM (rat 1-cell embryo culture medium) в течение 48 часов с последующей трансплантацией. При культивировании в течение 24-х часов большинство эмбрионов полученных от крыс-доноров НИСАГ на третий день после спаривания (рис. 1а) достигали стадии 4–8 клеток (рис. 1б), через 48 ч культивирования большинство эмбрионов достигали стадии морулы (рис. 1в), после чего их трансплантировали крысам-реципиентам. В контроле крысам-реципиентам трансплантировали морулы крыс НИСАГ, которые были получены минуя этап культивирования *in vitro*; эти эмбрионы были получены от доноров НИСАГ на 4-й день после спаривания, заморожены и разморожены как описано выше, после чего трансплантированы.

В возрасте двух месяцев у крыс НИСАГ, рожденных после прямой трансплантации (НИСАГ *in vivo*), рожденных после культивирования *in vitro* и последующей трансплантации (НИСАГ *in vitro*), а также у крыс НИСАГ, полученных естественным размножением (НИСАГ – контроль), и контрольных нормотензивных крыс того же возраста (гибридов крыс линии Wistar Albino Glaxo и ручных серых крыс-пасюков) было измерено артериальное давление в покое. АД у самцов из группы “НИСАГ *in vitro*” (среднее АД по данной группе составило 166 мм рт. ст.) было выше, чем у самцов

контрольных нормотензивных крыс (среднее АД по группе 127 мм рт. ст.), но достоверно не отличалось от самцов крыс из группы “НИСАГ – контроль” (среднее АД по группе 165 мм рт. ст.). В то же время АД самцов из группы “НИСАГ *in vivo*” (среднее АД по группе 188 мм рт.ст.) было достоверно выше, чем у самцов в каждой из трех перечисленных групп. Таким образом, хотя сама по себе трансплантация эмбрионов оказывала влияние на АД потомков, но это влияние смягчалось культивированием эмбрионов НИСАГ перед их трансплантацией настолько, что потомки хотя и имели гипертензивный фенотип, но он был не более выражен, чем у крыс НИСАГ рожденных естественным путем.

#### ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ: ВЛИЯНИЕ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ

Работы на экспериментальных моделях демонстрируют, что манипуляции с эмбрионами на преимплантационной стадии развития могут существенно образом сказываться на формировании артериальной гипертензии у потомков, полученных из этих эмбрионов. В более широком смысле можно утверждать о том, что “материнская среда” сказывается на формировании гипертензивного фенотипа, причем как в ходе пренатального, так и постнатального периодов онтогенеза (табл. 1, 2).

При применении на человеке таких базовых репродуктивных технологий, как трансплантация преимплантационных эмбрионов и их культивирование *in vitro* имеются изменения в сердечно-сосудистой системе потомков, в частности, повышение артериального давления (Ceelen et al., 2008) и повышение систолического давления в легочной артерии в условиях гипоксии (Scherrer et al., 2012). Сходное повышение АД моделируется и при применении этих технологий на лабораторных животных (Watkins et al., 2007).

При вынашивании и (или) вскармливании потомков крыс линий с генетически обусловленной гипертензией приемными (суррогатными) матерями нормотензивных линий у этих потомков, как правило, происходит существенное смягчение, однако, иногда и усиление развития гипертензии (табл. 1, 2). Следует отметить, что как в первом, так и во втором случае наблюдались и другие эффекты, прежде всего, изменение массы тела потомков (Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010; Рагаева и др., 2013). В тех случаях, когда происходило усиление гипертензии, имело место уменьшение массы потомков, рожденных в результате применения репродуктивных технологий (Рагаева и др., 2013). В тех же случаях, когда наблюдался обратный эффект и гипертензия смягчалась, масса тела потомков была выше (Di Nicolantonio et al., 2006; Lee, Azar, 2010). Эти наблюдения находятся в полном соответствии с гипотезой DOHaD (Barker, 1995; 1999), согласно которой низкая масса тела при рождении является прогностическим критерием повышения риска развития гипертензии.

В случае же когда эмбрионы крыс не предрасположенных к гипертензии трансплантируют самкам-реципиентам гипертензивных линий (табл. 2), либо крысят нормотензивных линий отдают на вскармливание приемным матерям гипертензивных линий, лишь в исключительных случаях у потомков подвергнутых такого рода воздействиям повышается АД; в подавляющем же большинстве случаев при таком направлении переноса гипертензии не возникает (табл. 1, 2).

Причиной изменений в сердечно-сосудистой системе у животных, рожденных после применения вспомогательных репродуктивных технологий, могут быть как влияния суррогатной матери, так и особенности геномного импринтинга при нахождении в условиях *in vitro* (Khosla et al., 2001; Mann et al., 2004; Rivera et al., 2008). Известно, что преимплантационный этап в развитии зародыша является важнейшим критическим периодом для программирования различных патологий у потомства (Fowden et al., 2006). Было показано, что уровень избирательного метилирования отдельных генов зависит от условий культивирования, что отражается на фенотипе потомков, полученных из эмбрионов мышей, развивавшихся до стадии бластоцисты *in vitro* и трансплантированных мышам-реципиентам (Khosla et al., 2001; Rivera et al., 2008). Следует отметить, что при культивировании эмбрионов мышей в условиях *in vitro* нарушается процесс геномного импринтинга отдельных генов, однако это зависит от применяемых сред: в одних средах эти нарушения были выраженными, в других они практически отсутствовали (Mann et al., 2004; Market-Velker et al., 2010).

В исследованиях на мышах показано, что применение комбинации репродуктивных технологий приводит к изменениям экспрессии отдельных генов развивающегося эмбриона, причем амплитуда этих изменений отличается от таковой при применении отдельных процедур (Rivera et al., 2013). В нашем пилотном эксперименте (Рагаева и др., 2013, данная статья) сочетание двух вспомогательных репродуктивных технологий (культивирование и трансплантация эмбрионов) сопровождается менее выраженными изменениями гипертензивного фенотипа, чем при применении одной лишь трансплантации эмбрионов.

В заключение хотелось бы отметить, что хотя вспомогательные репродуктивные технологии, как описано выше, влияют на развитие сердечно-сосудистой системы и уровень артериального давления, при обдуманном выборе культуральных сред и оптимальном подборе репродуктивных технологий можно свести эти эффекты к минимуму. Более того, изменения материнской среды в ходе применения ВРТ могут также замедлять и смягчать развитие наследственно обусловленной артериальной гипертензии.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят А.Л. Маркеля за обсуждение идей, лежащих в основе данной работы. Работа выполнена при поддержке РФФИ № 13-04-00685, а также бюджетного проекта VI.53.2.1 Института Цитологии и Генетики СО РАН.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Амтиславский С.Я. Особенности центральной альфа-адренергической регуляции артериального давления у крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией // Известия СО АН СССР. Сер. Биол. Науки. 1986. Т. 3. № 18. С. 118–122.
- Амтиславский С.Я., Попова Н.К., Томилова Ю.Э. и др. Влияние материнской среды на артериальное давление и рефлекс испуга у крыс с наследственной артериальной гипертензией // Российский физиологический журнал им. Сеченова. 1998. Т. 84. С. 783–789.
- Амтиславский С.Я. Эмбриотехнологические подходы к сохранению исчезающих видов млекопитающих: Дис. д-ра биол. наук. Новосибирск. 2006. 265 с.
- Антонов Е.В., Морева Т.А., Черкасова О.П. и др. Изучение секреторной активности коры надпочечника у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Бюллетень СО РАМН. 2010. Т. 30. № 4. С. 68–75.
- Антонов Е.В., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Альдостерон и стрессзависимая артериальная гипертония // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 152. № 8. С. 148–151.
- Брусенцев Е.Ю., Игонина Т.Н., Амтиславский С.Я. Традиционные и современные подходы к культивиро-

- ванию преимплантационных эмбрионов *in vitro* // Онтогенез. 2014. Т. 45. № 2. С. 73–88.
- Бузуева И.И., Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д. и др. Возрастные особенности структурной организации мозгового вещества надпочечника у крыс гипертензивной линии НИСАГ // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006. Т. 142. С. 604–606.
- Кондратенко Е.И., Ломтева Н.А. Ориентировочное поведение самок белых крыс в эстрального цикла и его зависимость от хэндлинга // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2003. Т. 53. № 3. С. 376–378.
- Маркель А.Л. Генетическая модель индуцированной стрессом артериальной гипертензии // Изв. АН СССР, Сер. Биологическая. 1985. Т. 3. С. 466–469.
- Пыльник Т.О., Редина О.Е., Смоленская С.Э. и др. Особенности экспрессии генов *Egf* и *Egfr* в ткани почки гипертензивных крыс линии НИСАГ (ISIAH) // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2012. Т. 98. С. 69–76.
- Пагаева Д.С., Брусенцев Е.Ю., Рожкова И.Н. и др. Криоконсервация и культивирование эмбрионов гипертензивных крыс НИСАГ: физиологические и поведенческие эффекты // III ежегодная конференция специалистов по работе с лабораторными животными. Новосибирск, 2013. С. 40.
- Amstislavsky S., Amstislavskaya T., Stein M. et al. Embryo cryobanking for conserving laboratory and wild animal species // Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science. 1996. V. 23. P. 269–277.
- Amstislavsky S., Welker P., Frühauf J.H. et al. Renal and endocrine changes in rats with inherited stress-induced arterial hypertension (ISIAH) // Histochem. Cell Biol. 2006. V. 125. № 6. С. 651–659.
- Ashton N. Perinatal development and adult blood pressure // Braz. J. Med. Biol. Res. 2000. V. 33. № 7. P. 731–740.
- Babatsikou F., Zavitsanou A. Epidemiology of hypertension in the elderly // Heal. Sci. J. 2010. V. 4. № 1. P. 24–30.
- Bader M. Rat models of cardiovascular diseases // Rat Genomics. Methods in Molecular Biology. 2010. V. 597. P. 403–414.
- Barker D.J. Fetal origins of coronary heart disease // BMJ. 1995. V. 311. P. 171–174.
- Barker D.J. Fetal undernutrition and adult hypertension // Handbook of Hypertension / McCarty R., Blizard D.A., Chevalier R.L. Eds. / Elsevier Science, 1999. V. 19. P. 587–599.
- Bateson P., Barker D., Clutton-Brock T., Deb D. et al. Developmental plasticity and human health // Nature. 2004. V. 430. P. 419–421.
- Ben-Ishay D., Saliternik R., Welner A. Separation of two strains of rats with inherited dissimilar sensitivity to DOCA-salt hypertension // Experientia. 1972. V. 28. P. 1321–1322.
- Berkovitz A., Eltes F., Yaari S. et al. The morphological normalcy of the sperm nucleus and pregnancy rate of intracytoplasmic injection with morphologically selected sperm // Hum. Reprod. 2005. V. 20. № 1. P. 185–190.
- Bianchi G., Ferrari P. A genetic approach to the pathogenesis of primary hypertension and to its treatment // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 1995. V. 22, Suppl. 2: S399–S405.
- Blake D., Farquhar C. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology // Cochrane Database Syst. Rev. 2007. № 4. P. 1–61.
- Bonduelle M., Wennerholm U.-B., Loft A. et al. A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, *in vitro* fertilization and natural conception // Hum. Reprod. 2005. V. 20. № 2. P. 413–419.
- Braga V.A., Burmeister M.A. Applications of Telemetry in Small Laboratory Animals for Studying Cardiovascular Diseases, Modern Telemetry, Dr. Ondrej Krejcar (Ed.) InTech. 2011. 470 p.
- Bunag R.D., Butterfield J. Tail-cuff blood pressure measurement without external preheating in awake rats // Hypertension. 1982. V. 4. № 6. P. 898–903.
- Calle A., Fernandez-Gonzalez R., Ramos-Ibeas P. et al. Long-term and transgenerational effects of *in vitro* culture on mouse embryos // Theriogenology. 2012. V. 77. № 4. P. 785–793.
- Caron K.M.I., James L.R., Kim H.-S. et al. A genetically clamped renin transgene for the induction of hypertension // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. № 12. P. 8248–8252.
- Ceelen M., van Weissenbruch M.M., Vermeiden J.P.W. et al. Cardiometabolic differences in children born after *in vitro* fertilization: follow-up study // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2008. V. 93. № 5. P. 1682–8.
- Chrousos G.P., Kino T. Glucocorticoid signaling in the cell: expanding clinical implications to complex human behavioral and somatic disorders // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2009. V. 1179. P. 153–166.
- Cierpial M.A., McCarty R. Hypertension in SHR rats: contribution of maternal environment // Am. J. Physiol. 1987. V. 253. P. 980–984.
- Cierpial M.A., Konarska M., McCarty R. Maternal influences on sympathetic-adrenal medullary system in spontaneously hypertensive rats // Am. J. Physiol. 1990a. V. 258. P. 1312–1316.
- Cierpial M.A., Murphy C.A., McCarty R. Maternal behaviour of spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto normotensive rats: effects of reciprocal cross – fostering of litter // Behav. Neural. Biol. 1990b. V. 54. P. 90–96.
- Collins S.C. Preimplantation genetic diagnosis: technical advances and expanding applications // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 2013. V. 25. № 3. P. 201–206.
- Cooper R.S., Wolf-Maier K., Luke A. et al. An international comparative study of blood pressure in populations of European vs. African descent // BMC Med. 2005. V. 3. P. 2.
- Corvol P., Persu A., Gimenez-Roqueplo A.-P. et al. Seven lessons from two candidate genes in human essential hypertension: angiotensinogen and epithelial sodium channel // Hypertension. 1999. V. 33. № 6. P. 1324–1331.
- Dahl L.K., Heine M., Tassinari L. Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion // Nature. 1962. V. 194. P. 480–482.

- Davies M.J., Moore V.M., Willson K.J. et al.* Reproductive technologies and the risk of birth defects // *N. Engl. J. Med.* 2012. V. 366. № 19. P. 1803–1813.
- De Artiñano A., Castro M.* Experimental rat models to study the metabolic syndrome // *Br. J. Nutr.* 2009. V. 102. № 9. P. 1246–1253.
- Dene H., Rapp J.P.* Maternal effects on blood pressure and survivability in inbred Dahl salt-sensitive rats // *Hypertension.* 1985. V. 7. № 5. P. 767–774.
- Devroey P., Staessen C., Camus M. et al.* Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility // *Fertil Steril.* 1989. V. 52. P. 246.
- Di Nicolantonio R., Koutsis K., Westcott K.T. et al.* Relative contribution of the prenatal versus postnatal period on development of hypertension and growth rate of the spontaneously hypertensive rat // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2006. V. 33. № 1–2. P. 9–16.
- Ecker D.J., Stein P., Xu Z., et al.* Long-term effects of culture of preimplantation mouse embryos on behavior // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 6. P. 1595–1600.
- Fernandez-Gonzalez R., Moreira P., Bilbao A. et al.* Long-term effect of *in vitro* culture of mouse embryos with serum on mRNA expression of imprinting genes, development, and behavior // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 16. P. 5880–5885.
- Fowden A.L., Giussani D.A., Forhead A.J.* Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences // *Physiology (Bethesda).* 2006. V. 21. P. 29–37.
- Gilbert J., Nijland M.* Sex differences in the developmental origins of hypertension and cardiorenal disease // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008. V. 295. P. 1941–1952.
- Gouldsborough I., Black V., Johnston I.T. et al.* Maternal nursing behaviour and the delivery of milk to the neonatal spontaneously hypertensive rats // *Acta Physiol. Scand.* 1998. V. 1. P. 107–114.
- Gerris J.* Single-embryo transfer versus multiple-embryo transfer // *Reprod. Biomed. Online.* 2009. V. 18. P. 63–70.
- Gray S.D.* Reciprocal embryo transfer between SHR and WKY. II. Effect on cardiovascular development // *Clin. Exp. Hypertens. Part A Theory Pract.* 1991. V. 13. P. 963–969.
- Handyside A.H., Kontogianni E.H., Hardy K. et al.* Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification // *Nature.* 1990. V. 344. P. 768–770.
- Hardy K., Wright C., Rice S. et al.* Future developments in assisted reproduction in humans // *Reproduction.* 2002. V. 123. P. 171–183.
- Harrison M., Langley-Evans S.C.* Intergenerational programming of impaired nephrogenesis and hypertension in rats following maternal protein restriction during pregnancy // *Br. J. Nutr.* 2009. V. 101. № 7. P. 1020–1030.
- Hayashi M., Nakai A., Satoh S. et al.* Adverse obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies may be related to maternal factors associated with infertility rather than the type of assisted reproductive technology procedure used // *Fertil. Steril.* 2012. V. 98. № 4. P. 922–928.
- Julien C., Bertolino S., Medeiros I. A. et al.* Renin secretion in Lyon hypertensive rats // *Clin. Exp. Hypertens.* 1997. V. 19. P. 699–711.
- Khosla S., Dean W., Reik W., Feil R.* Culture of preimplantation embryos and its long-term effects on gene expression and phenotype // *Hum. Reprod. Update.* 2001. V. 7. № 4. P. 419–427.
- Klimov L.O., Fedoseeva L.A., Ryazanova M.A. et al.* Expression of renin-angiotensin system genes in brain structures of ISIAH rats with stress-induced arterial hypertension // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2013. V. 154. № 3. P. 357–360.
- Kubisch H.M., Gómez-Sánchez E.P.* Embryo transfer in the rat as a tool to determine genetic components of the gestational environment // *Lab. Anim. Sci.* 1999. V. 49. № 1. P. 90–94.
- Kubisch H.M., Mathialagan S., Gomez-Sanchez E.P.* Modulation of blood pressure in the dahl SS/jr rat by embryo transfer // *Hypertension.* 1998. V. 31. № 1. P. 540–545.
- Kudryashova D.R., Markel A.L., Sharova T.V et al.* Effect of neonatal handling in rats with hereditary stress-induced arterial hypertension (NISAG rats) // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2004. V. 137. № 4. P. 345–347.
- Kwong W.Y., Wild A.E., Roberts P. et al.* Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension // *Development.* 2000. V. 127. № 19. P. 4195–202.
- Lindsay R.S., Lindsay R.M., Edwards C.R.W. et al.* Inhibition of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in pregnant rats and the programming of blood pressure in the offspring // *Hypertension.* 1996. V. 27. P. 1200–1204.
- Ledingham J.M., Ashton N.* Remodelling of mesenteric arteries in genetically hypertensive rats cross-fostered from birth to normotensive Wistar rats // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2005. V. 32. № 10. P. 859–864.
- Lee M.A., Bohm M., Paul M. et al.* Physiological characterization transgenic of the hypertensive transgenic rat TGR(mREN2)27 // *Am. Physiological Soc.* 1996. V. 270. № 42. P. 919–929.
- Lee J.Y., Azar S.H.* Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rat blood pressure after embryo transfer into different wombs and cross-suckling // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2010. V. 235. № 11. P. 1375–1384.
- Lee S.K., Sirajudeen K.N.S., Sundaram A. et al.* Effect of cross-fostering on renal anti-oxidant/oxidant status and development of hypertension in spontaneously hypertensive rats // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2011. V. 38. № 12. P. 854–859.
- Leese H.J.* Metabolism of the preimplantation embryo: 40 years on // *Reproduction.* 2012. V. 143. № 4. P. 417–427.
- Leese H.J.* Quiet please, do not disturb: a hypothesis of embryo metabolism and viability // *Bioessays.* 2002. V. 24. P. 845–849.
- Loi M., Del Savio L., Stupka E.* Social epigenetics and equality of opportunity // *Public Health Ethics.* 2013. V. 6. № 2. P. 142–153.
- Ludwig M., Katalinic A., Gro S. et al.* Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syn-

- drome born to subfertile couples // *J. Med. Genet.* 2005. V. 42. № 4. P. 289–291.
- Lu Y., Wang N., Jin F. Long-term follow-up of children conceived through assisted reproductive technology // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2013. V. 14. № 5. P. 359–371.
- Mann M.R.W., Lee S.S., Doherty A.S. et al. Selective loss of imprinting in the placenta following preimplantation development in culture // *Development.* 2004. V. 131. № 15. P. 3727–3735.
- Markel A.L. Development of a new strain of rats with inherited stress-induced arterial hypertension // *Genetic Hypertension*, Ed. Sassard J. Colloque INSERM, London, 1992. P. 405–407.
- Markel A.L., Maslova L.N., Shishkina G.T. et al. Developmental influences on blood pressure regulation in ISIAH rats // *Handbook of Hypertension* / Eds. McCarty R., Blizard D.A., Chevalier R.L. Elsevier Science, 1999. V. 19. P. 493–526.
- Markel A.L., Redina O.E., Gilinsky M.A. et al. Neuroendocrine profiling in inherited stress-induced arterial hypertension rat strain with stress-sensitive arterial hypertension // *J. Endocrinol.* 2007. V. 195. P. 439–450.
- Market-Velker B.A., Fernandes A.D., Mann M.R.W. Side-by-side comparison of five commercial media systems in a mouse model: suboptimal *in vitro* culture interferes with imprint maintenance // *Biol. Reprod.* 2010. V. 83. № 6. P. 938–950.
- Mason B.A. Simple techniques past and present as an alternative to in-vitro fertilization and GIFT // *British Medical Bulletin.* 1990. V. 46. № 3. P. 783–795.
- McCarty R. Development of the hypertensive phenotype. Basic and clinical studies // *Handbook of Hypertension* / Eds. McCarty R., Blizard D.A., Chevalier R.L. Elsevier Science, 1999. V. 19. P. 413–429.
- McCarty R., Lee J.H. Maternal influences on adult blood pressure of SHR: a single pup cross-fostering study // *Physiol. Behav.* 1996. V. 1. P. 71–75.
- McCarty R., Tong H. Development of hypertension in spontaneously hypertensive rats: role of milk electrolytes // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.* 1995. V. 22. P. 215–217.
- McLaren A., Biggers J.D. Successful development and birth of mice cultivated *in vitro* as early as early embryos // *Nature.* 1958. V. 182. № 4639. P. 877–878.
- Miles H.L., Hofman P.L., Peek J. et al. *In vitro* fertilization improves childhood growth and metabolism // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007. V. 92. № 9. P. 3441–3445.
- Mizuno A., Hoshi M., Hirabayashi M. et al. Development of hypertension in spontaneously hypertensive rats from cryopreserved embryos transferred to normotensive Wistar rats // *J. Hypertens.* 1986. V. 4. P. 373–374.
- Mohr L.R., Trounson A.O. Cryopreservation of human embryos // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1985. V. 442. P. 536–543.
- Molčan L., Veselá A., Zeman M. Radiotelemetry measurement of heart rate, blood pressure and locomotory activity of rats in physiological experiment // *Slovak J. Anim. Sci.* 2009. V. 42. p. 63–66.
- Myers M.M., Brunelli S.A., Squire J.M. et al. Maternal behavior of SHR rats and its relationship to offspring blood pressures // *Dev. Psychobiol.* 1989a. V. 22. P. 29–53.
- Myers M.M., Brunelli S.A., Shair H.N. et al. Relationships between maternal behavior of SHR and WKY dams and adult blood pressures of cross-fostered F1 pups // *Dev. Psychobiol.* 1989b. V. 22. P. 55–67.
- Norwitz E.R., Edusa V., Park J.S. Maternal physiology and complications of multiple pregnancy // *Semin. Perinatol.* 2005. V. 29. № 5. P. 338–348.
- Okamoto K., Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats // *Japanese Circulation Journal.* 1963. V. 27. P. 282–293.
- Okamoto K., Yamori Y., Nosaka S. et al. Studies on hypertension in spontaneously hypertensive rats // *Clinical Science and Mol. Med.* 1973. V. 45. P. 11–14.
- O'Regan D., Kenyon C.J., Seckl J.R. et al. Prenatal dexamethasone “programmes” hypotension, but stress-induced hypertension in adult offspring // *J. Endocrinol.* 2008. V. 196. № 2. P. 343–352.
- Palermo G., Joris H., Devroey P. et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte // *Lancet.* 1992. V. 340. P. 17–18.
- Paneth N., Susser M. Early origin of coronary heart disease (the “Barker hypothesis”) // *BMJ.* 1995. V. 310. P. 411–412.
- Pinto Y.M., Paul M., Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering // *Cardiovasc. Res.* 1998. V. 39. № 1. P. 77–88.
- Pravenec M., Kurtz T.W. Recent advances in genetics of the spontaneously hypertensive rat // *Curr. Hypertens. Rep.* 2010. V. 12. № 1. P. 5–9.
- Rapp J.P. Genetic analysis of inherited hypertension in the rat // *Physiol. Rev.* 2000. V. 80. № 1. P. 135–172.
- Rivera R.M., Stein P., Weaver J.R. et al. Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development // *Hum. Mol. Genet.* 2008. V. 17. № 1. P. 1–14.
- Rivera R.M., Ross J.W. Epigenetics in fertilization and preimplantation embryo development // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2013. V. 113. № 3. P. 423–432.
- Romundstad L.B., Romundstad P.R., Sunde A. et al. Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation: a population-based cohort study // *Lancet.* 2008. V. 372. № 9640. P. 737–743.
- Sazonova A., Källen K., Thurin-Kjellberg A. et al. Obstetric outcome after *in vitro* fertilization with single or double embryo transfer // *Hum. Reprod.* 2011. V. 26. № 2. P. 442–450.
- Scherrer U., Rimoldi S.F., Rexhaj E. et al. Systemic and pulmonary vascular dysfunction in children conceived by assisted reproductive technologies // *Circulation.* 2012. V. 125. P. 1890–1896.
- Selye H. Syndrome produced by diverse nocuous agents // *Nature.* 1936. V. 138. p. 32.
- Simpson F.O., Ledingham J.M., Paulin J.M. et al. Body sodium in rats: response to DOCA, adrenalectomy, changes in salt intake, and a salt load // *Am. J. Physiol.* 1986. V. 250. № 3 Pt 2. P. F551–558.
- Sjöblom C., Roberts C.T., Wikland M., Robertson S.A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor alleviates adverse consequences of embryo culture on fetal growth trajectory and placental morphogenesis // *Endocrinology.* 2005. V. 146. № 5. P. 2142–2153.

- Smirk F.H., Hall W.H.* Inherited hypertension in rats // *Nature*. 1958. V. 182. № 4637. P. 727–728.
- Stewart T., Jung F.F., Manning J. et al.* Kidney immune cell infiltration and oxidative stress contribute to prenatally programmed hypertension // *Kidney Int.* 2005. V. 68. № 5. P. 2180–2188.
- Tang M., Gandelman R., Falk J.L.* Amelioration of genetic (SHR) hypertension: a consequence of early handling // *Physiol. Behav.* 1982. V. 28. № 6. P. 1089–1091.
- Trippodo N.C., Frohlich E.D.* Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat // *Circ. Res.* 1981. V. 48. № 3. P. 309–319.
- Wadhwa P.D., Sandman C.A., Porto M. et al.* The association between prenatal stress and infant birth weight and gestational age at birth: A prospective investigation // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1993. V. 169. № 4. P. 858–865.
- Waterland R.A., Michels K.B.* Epigenetic Epidemiology of the Developmental Origins Hypothesis // *Annu. Rev. Nutr.* 2007. V. 27. P. 363–388.
- Watkins A., Platt D.* Mouse embryo culture induces changes in postnatal phenotype including raised systolic blood pressure // *PNAS*. 2007. V. 104. № 13. P. 5449–5454.
- Wen S.F., Tremblay J.M., Qu M.H. et al.* An impedance method for blood pressure measurement in awake rats without preheating // *Hypertension*. 1988. V. 11. № 4. P. 371–375.
- Xie Y., Awonuga A.O., Zhou S. et al.* Interpreting the stress response of early mammalian embryos and their stem cells // *Internat. Rev. of Cell and Mol. Biol.* 2011. V. 287. P. 43–95.

## Assisted Reproductive Technologies and Arterial Hypertension

D. S. Ragaeva<sup>a, b</sup>, E. Yu. Brusentsev<sup>a</sup>, and S. Ya. Amstislavsky<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, pr. Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia*

*e-mail: amstis@bionet.nsc.ru*

<sup>b</sup> *Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia*

Received February 17, 2014; in final form, April 4, 2014

**Abstract**—The effects of assisted reproductive technologies on the development of hypertensive phenotype were reviewed. A special emphasis is made on the effects of embryo culture and subsequent transfer on the blood pressure in the offspring. The analysis of studies with the laboratory models, mostly hypertensive strains of rats, is performed. These data are discussed in the context of the use the assisted reproductive technologies in medicine.

**Keywords:** preimplantation embryos, assisted reproductive technologies, arterial hypertension