

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
VISUOMENĖS SVEIKATOS INSTITUTAS

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

MITYBOS ĮTAKA ŽIURKIŲ PALIKUONIŲ FIZINEI BŪKLEI

THE INFLUENCE OF MATERNAL NUTRITION ON PHYSICAL STATUS IN RAT OFFSPRING

Leidžiama ginti _____
Visuomenės sveikatos instituto direktorius,
Prof. dr. R. Stukas

Studentė: V. Araminaitė _____

Darbo vadovė: Prof. dr. J. Tutkuvienė _____

Konsultantės:

Doc. dr. V. Žalgevičienė _____

Doc. dr. R. Šimkūnaitė-Rizgeliene _____

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

TURINYS

SANTRAUKA	3
ĮVADAS	6
1. AUGIMO PROGRAMAVIMO KONCEPCIJOS	9
2. AUGIMO PROGRAMAVIMO PADARINIAI	14
2.1. Hormoniniai pokyčiai	14
2.2. „Atsigriebimo fenomenas“ ir atsvoris	15
2.3. Kardiovaskulinės sistemos pokyčiai	18
2.4. Kiti organizmo pokyčiai	19
3. EKSPERIMENTAI SU GYVŪNAIS	20
3.1. Gyvūnų modelių pasirinkimo prielaidos	20
3.2. Prenatalinio augimo programavimo pasekmių tyrimai	21
3.2.1. Motinos mitybos ribojimo per nėštumą laipsniai	21
3.2.2. Baltymų trūkumo motinos dietoje reikšmė augančiam organizmui	22
3.2.3. Angliavandenių trūkumo motinos dietoje reikšmė augančiam organizmui	23
3.2.4. Riebalų trūkumo motinos dietoje reikšmė augančiam organizmui	23
3.2.5. Mineralinių medžiagų ir vitaminų trūkumo reikšmė augančiam organizmui	24
3.3. Medžiagų apykaitos pokyčių skirtumai tarp lyčių	25
3.4. Medžiagų apykaitos pokyčių išliekamumas keliuose palikuonių kartose	26
3.5. In utero mitybos ribojimo sukelti palikuonių elgsenos pokyčiai	29
3.6. Medžiagų apykaitos pokyčiai dėl mitybos ribojimo ir organizmo senėjimas	29
4. APIBENDRINIMAS	31
5. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	32
6. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	33
7. REZULTATAI	36
7.1. Pirmos kartos palikuonys	36
7.1.1. Nėštumo išeitys	36
7.1.2. Svorio kitimas	37
7.2. Antros kartos palikuonys	40
7.2.1. Nėštumo išeitys	40
7.2.2. Svorio kitimas	41
7.3. Reprodukcijos parametrų palyginimas tarp pirmos ir antros palikuonių kartų	45
7.4. Svorio palyginimas tarp pirmos ir antros palikuonių kartų	46
7.5. Morfolginiai ir elgsenos pokyčiai	53
8. REZULTATŲ APTARIMAS	61
IŠVADOS IR PASIŪLYMAI	67
LITERATŪROS SARAŠAS	68

SANTRAUKA

Nepakankama mityba iki nėštumo ir per nėštumą gali lemti palikuonio svorio pokyčius, vėlesnę brandą ar lėtines neinfekcines ligas suaugus.

Darbo tikslas: Įvertinti mitybos iki nėštumo ir per nėštumą įtaką žiurkių palikuonių fizinei būklei.

Uždaviniai: 1. Nustatyti ir palyginti žiurkių palikuonių svorio kitimo tendencijas tarp pirmos ir antros palikuonių kartų. 2. Įvertinti morfologinius pirmos ir antros kartos palikuonių išvaizdos ir elgsenos pokyčius. Tyrime naudotos 12 motininių žiurkių patelių ir 121 palikuonis. Žiurkių maitinimas vyko nustatytomis eksperimento sąlygomis: I eksperimentinės grupės (N=5) žiurkės buvo 50 proc. ribotos maisto 1 mėnesį iki nėštumo ir per visą nėštumo laikotarpį, II eksperimentinės grupės (N=5) žiurkės buvo ribotos 50 proc. maisto 1 mėnesį iki nėštumo, III eksperimentinė grupė (N=2) – kontrolinė, buvo maitinama *ad libitum* (apie 20 g/p). Vėliau visų grupių žiurkės šertos *ad libitum*. Palikuonys sverti kartą per savaitę, vertinta metabolinį stresą patyrusių ir nepatyrusių žiurkių palikuonių išvaizda, elgsena ir kiti metabolinio streso požymiai: domėjimasis aplinka, bailumas, agresyvumas, nervingumas. **Rezultatai:** 1. ▪ Suaugę pirmos kartos iki nėštumo ir per nėštumą maisto medžiagų ribojimą patyrusių žiurkių vyriškos lyties palikuonys sveria reikšmingai daugiau už kitas grupes; ▪ Suaugę antros kartos tik iki nėštumo maisto medžiagų ribojimą patyrusių žiurkių vyriškos lyties palikuonys sveria reikšmingai daugiau nei kitų grupių palikuonys; stebima ir iki nėštumo ir per nėštumą metabolinį stresą patyrusių žiurkių palikuonių patinų svorio padidėjimo tendencija iki 6 gyvenimo mėnesio ▪ Nerasta skirtumų tarp maisto medžiagų ribojimą patyrusių žiurkių palikuonių patelių svorio skirtumų su kontrolinės grupės patelėmis; 2. Antroje palikuonių kartoje eksperimentinių grupių vyriškos ir moteriškos lyties palikuonims stebėti morfologiniai medžiagų apykaitos pokyčiai: kraujingas ašarojimas, edemos sprando ir snukio srityje, nuplikimas, vangumas.

Išvados: 1. Motinos mitybos ribojimas per nėštumą ar iki nėštumo gali keisti postnatalinį augimą, priklausomai nuo lyties ir mitybos ribojimo ekspozicijos laikotarpio. ▪ Svorio pokyčių tarp patelių nestebima. Tai gali lemti adaptyvesnis moteriškas organizmas, kuris geriau prisitaiko prie kintančių aplinkos sąlygų; ▪ Mitybos ribojimas iki nėštumo ir per nėštumą veikia palikuonio raidą ūmiai: pirmoje palikuonių kartoje reikšmingai daugiau už kitas grupes sveria iki nėštumo ir per nėštumą maisto medžiagų ribojimą patyrusių žiurkių vyriškos lyties palikuonys; antroje palikuonių kartoje stebima tendencija, kad iki nėštumo ir per nėštumą maisto stokojusios žiurkės sveria daugiau už kontrolinius individus; ▪ Motinos mitybos ribojimas tik iki nėštumo lemia ryškesnius atokiuosius metabolinio streso reiškinius: antroje palikuonių kartoje reikšmingai

daugiau už kitas grupes sveria iki nėštumo mitybos ribojimą patyrusių žiurkių vyriškos lyties palikuonys, trumpesnė jų gyvenimo trukmė, ryškesnė lėtinių neinfekcinių ligų simptomatika. 2. Antroje palikuonių kartoje eksperimentinių grupių abiejų lyčių palikuonims stebimi morfologiniai medžiagų apykaitos pokyčiai: kraujingas ašarojimas, edemos sprando ir snukio srityje, nuplikimas, vangumas, kurie gali būti metabolinio streso indikatoriais, signalizuojančiais apie medžiagų apykaitos sutrikimą, lėtinių ligų riziką ir pirmalaikę mirtį.

Raktažodžiai: Mitybos ribojimas, nėštumas, augimo programavimas, taupysis fenotipas, atsigriebimo augimas.

SUMMARY

The hypotheses of a link between maternal nutrition during pregnancy and child's health has been raised in various studies. Unsufficient diet before pregnancy or in time of pregnancy can lead to inadequate weight of offspring, delayed maturation as well as obesity and greater risk of noncommunicable diseases in adulthood. **The main objective** of this study was to explore if there is a change in rat offspring's body weight that can be attributed to maternal nutrition.

Materials and methods. The animals were housed under standard conditions in the vivarium of the Institute of Biochemistry. All animal procedures are in accordance with the The State Food and Veterinary Service. The cohort of 12 mature female *Wistar* rats was divided into 3 groups with respect to nutritional restriction. The rats were fed either a control (1 group) or restricted diet (2 groups): one experimental group was food-restricted prior to pregnancy and the other - one month prior and through the pregnancy period. Both food-restricted rat groups received 50 percent less of the feed eaten in the control group. After 1 month maternal rats were mated. After weaning all pups were fed with control diet *ad libitum*. Pups were weighted weekly with the same, calibrated scales. After 4 months female offspring were mated following a standard above mentioned procedure. 2nd offspring generation was kept and weighted under the same standardized conditions. We also observed and evaluated offspring appearance, behavior and other signs of metabolic stress: interest in the environment, fear, aggressiveness, nervousness. Differences between groups were compared using multiple analysis of variance followed by LSD post-hoc test as well as Pearson χ^2 and Fisher's exact test.

Results show that 1. Unbalanced nutrition in pregnancy or pre-pregnancy can impact body weight in rats. ▪ 1st generation male offspring who were subjected to food restriction prior to pregnancy and through the pregnancy period weighted significantly more than other groups. ▪ In the 2nd offspring generation pre-pregnancy food deprived male rats were the heaviest; however a

tendency for a greater than control group's body weight was observed in prior to pregnancy and through the pregnancy food deprived males until the 6th month of life ▪ We have found no weight-related difference between groups in female offspring body weight in any time of the study in both 1st and 2nd generation offspring. 2. 2nd generation offspring have exhibited a number of symptoms indicating metabolic stress: red tears, edema in the neck and face as well as hair loss and sluggishness.

Conclusions. Nutrient prosperity *in utero* has a significant influence on offspring metabolic phenotype formation. Maternal nutritional restriction during or before pregnancy may alter postnatal growth, physical status and behavior in relation to gender and time window of exposure. 1. Female offspring seem to be more adaptive to food deprivation in pre-pregnancy and pregnancy and exhibit no weight related changes as well as less morphological differences in 1st and 2nd offspring generation. Diet before pregnancy and during pregnancy can affect the I and II generation male offspring weight. Our study found more intensive pathological changes at subsequent rather than first offspring generation. We have found changes in physical status of 1st generation offspring: pre-pregnancy and pregnancy food deprived males were more prone to being obese; this tendency was also observed in young age, but normalized in time of maturation in the 2nd offspring generation. The most notable consequences of metabolic stress in utero were exhibited in pre-pregnancy food deprived group descendants at the 2nd offspring generation. The mentioned group demonstrated the greatest weight, predisposition to obesity, shorter life span, a range of pronounced symptoms of chronic noncommunicable diseases. 2. We have observed a range of morphological symptoms of altered metabolism: red tears, edema in the neck and face as well as hair loss and sluggishness, that could be treated as indicators of metabolic stress, signalling altered metabolism, increased risk of noncommunicable diseases and premature death.

Keywords: dietary restriction, pregnancy, growth programming, thrifty phenotype, catch-up growth.

ĮVADAS

Mityba – vienas svarbiausių sveikatą lemiančių veiksnių. Netaisyklinga mityba gali tapti antsvorio, diabeto bei kitų lėtinių ligų priežastimi. Nustatyta, kad per didelis svoris - vienas svarbiausių su mityba susijusių ligų rizikos faktorių, bei didžiulė ekonominė našta sveikatos priežiūros sistemai [1,2]. Svorio didėjimo problema aktuali visame pasaulyje, kadangi net ir tradicinėse bendruomenėse vyksta intensyvūs pokyčiai. Visuomenės iš agrokultūrinių tampa miestietiškomis, vis labiau plinta sėdimas gyvenimo būdas bei didelės energinės vertės maisto vartojimas [3]. Išsivysčiusiose šalyse minėtos tendencijos nėra naujos, todėl kasmet nustatoma vis daugiau pasyvios gyvensenos sukeltų sveikatos sutrikimų. Daugiau kaip trečdalis vyresnių nei 20 metų JAV gyventojų turi antsvorio (KMI>25) arba yra nutukę (KMI>30) (po 34 proc. atitinkamai) [4]. Panaši situacija yra ir Europos Sąjungoje. Manoma, kad daugiau nei 200-ų milijonų gyventojų KMI - viršija minėtas vertes ir tai sudaro apie pusę suaugusiųjų populiacijos [5]. Lietuvos gyventojų, turinčių didesnę KMI vidurkį, dalis panaši į Europos Sąjungos: 2002 m. nutukimo paplitimas tarp Lietuvos 20–64 metų gyventojų buvo 16 proc., antsvorio – 49,1 proc.. Palyginus su 1994 m. duomenimis, nutukimo ir antsvorio paplitimas tarp vyrų padidėjo, o tarp moterų - sumažėjo [5,6]. Dėl šių tendencijų, ypač didelio Lietuvos medicinos teorijos ir praktikos atstovų dėmesio susilaukia šalies vyrų svoris: daugiau kaip 60 proc. vyresnių kaip 15 metų vyrų KMI viršija 25 [7]. Be to, su mityba susijusios ligos ne mažiau aktualios ir mirtingumo priežasčių kontekste. Lietuvoje, kaip ir visame pasaulyje, netinkamo gyvenimo būdo lemtos lėtinės ligos yra vienos svarbiausių pagrindinių mirties priežasčių sąrašė: daugiausia Lietuvos gyventojų miršta dėl kraujotakos sistemos ligų (56,1 proc.) ir piktybinių navikų (19,3 proc.) [8]. Trylikos Europos šalių, Izraelio ir JAV jungtinis antsvorio paplitimo rodiklių tyrimas parodė, kad Lietuvos paauglių antsvoris yra mažiausias (maždaug 5 proc.) iš nurodytų valstybių [9,10]. Lietuvos paaugliai buvo liekniausi 2000-2002 metais (antsvorio ir nutukimo paplitimas sudarė 3-11 proc. mergaitėms ir 5-19 proc. berniukams), tuo tarpu, šiuo metu dėl pasikeitusios socioekonominės situacijos ir gyvensenos veiksnių Lietuvos jaunuolių kūno svoris linkęs didėti [11]. Panašus ir 15-24 metų moterų antsvorio paplitimas. Analizuojant dažniausiai gimdančių moterų KMI (25-34 metų amžiaus), Lietuvos statistikos departamento duomenimis, apie 17 proc. moterų turi antsvorį ir apie 5 proc. yra nutukusios [12]. Visuotinės lieknėjimo tendencijos ir vyraujantis dailaus ar net išsekusio kūno propagavimas dažnai lemia nepasitenkinimą savo išvaizda ir pastangas lieknėti. Juolab, kad net ir itin lieknos moterys dažnai savo išvaizda nėra patenkintos.

Kaip žinia, merginos ir moterys kur kas dažniau koreguoja savo mitybą, nei didina fizinį aktyvumą [13,14]. Neteisingai sudarytų, nepagrįstų ar pernelyg drastiškų dietų pasekmė –

organizmo išsekimas, maistinių medžiagų trūkumas, įvairūs valgymo sutrikimai. 2007-2009 metų tyrimo duomenimis nustatyta, kad net 15-27 proc. Lietuvos paauglių mergaičių svoris nepakankamas [11]. Atsiranda hipotezių, kad tokiai moteriai pastojus, net ir maitinantis pavyzdinčiai, būsimam vaikui gali kilti įvairių sveikatos problemų: mažas gimimo svoris, įvairios lėtinės ligos suaugus, pirmalaikė mirtis [15-17]. Vadinasi, adekvati mityba svarbi ne tik pačios moters sveikatai, susirgimų lėtinėmis ligomis mažinimui, vykdant atsvario prevenciją, tačiau ir būsimos vaikų kartos gerovei užtikrinti.

Įdomu tai, kad atsvaris, būdingas senbuvėms didelės gerovės valstybėms, neaplenkia ir skurdesnių regionų. Nepaisant dažnai nepalankių mitybinių sąlygų, besivystančių šalių gyventojams minėti pokyčiai taip pat tampa aktualūs [18-20]. Lyginant San Paulo (Brazilija) 7-11 metų vaikus, augančius maisto stygiaus ir gerovės aplinkoje, nustatyta, kad nors abiejų grupių vaikai nesiskyrė KMI ir amžiumi, tačiau sunkesnėmis sąlygomis gyvenančių vaikų organizme nustatyta lėtesnė riebalų oksidacija, galinti lemti nutukimą suaugus [19]. Panašias maisto trūkumo *in utero* pasekmes nustato ir kiti autoriai [21-23]. Tiriant besivystančių šalių gyventojus, emigruojančius iš vargingų valstybių į išsivysčiusias, medžiagų apykaitos pokyčiai ypač ryškūs [24-26]. Pavyzdžiui, į Jungtines Amerikos valstijas emigravusių Majų (Meksika) gyventojų vaikams nustatyti svorio bei galūnių ilgio pokyčiai. Emigrantų vaikų galūnės buvo ilgesnės nei vietinių Meksikos majų. Autoriai teigia, kad tokius pokyčius lemia pagerėjusios gyvenimo sąlygos. Tačiau, neapsieinama ir be negatyvių reiškinių: migrantų gretose labai paplitęs atsvaris ir nutukimas, tuo tarpu jis visai nebūdingas Meksikos majams, matyt, dėl skurdžių vietos gyvenimo sąlygų [25]. Jungtinėse valstijose taip pat buvo atlikta keletas nacionalinio lygmens imigrantų studijų (50 valstijų). Studijos autoriai nustatė, kad azijiečių ir meksikiečių paaugliai, gimę valstijose, yra du kartus labiau linkę nutukti nei pirmosios emigrantų, gimusių svečioje šalyje, tačiau atsikrausčiusių gyventi į valstijas, kartos [26-28]. Autoriai paprastai šį reiškinį aiškina akulturacija – organizmo, „nepritaikyto“ gyventi teigiamo energinio balanso (t.y. netinkamos mitybos, nepakankamo fizinio aktyvumo bei didelio žalingų įpročių paplitimo) aplinkoje, adaptacija.

Verta atkreipti dėmesį, kad didelio lėtinių ligų paplitimo problema aktuali ne tik vyresnio ar senyvo amžiaus žmonėms. Pasaulyje sparčiai daugėja II tipo diabetu bei koronarine širdies liga sergančių vidutinio amžiaus suaugusiųjų [29], todėl poreikis ieškoti šios situacijos susiformavimo priežasčių ir būdų išibėgėjusiam procesui stabdyti didėja. Atsvario pasekmės ne tik sumažina darbingumą, sukelia diskomfortą, bet ir blogina gyvenimo kokybę. Dėl šių priežasčių lėtinių ligų priežiūrai telkiamos didžiulės lėšos. Vien tik JAV hospitalizacijoms kardiovaskulinėms ligoms gydyti, kasmet išleidžiama apie pusę trilijono JAV dolerių [30]. Tuo tarpu, Europos Sąjungai šios ligos kasmet kainuoja apie 169 milijardus eurų [31].

Vis dėl to, skirtingi atliktų tyrimų rezultatai ir hipotezių nepakankamumas verčia ieškoti naujų medžiagų apykaitos pokyčių priežasčių. Siekiant paaiškinti antsvorio formavimosi priežastinius mechanizmus ir sukurti efektyvias prevencines strategijas, telkiamos didžiulės mokslinės pastangos visame pasaulyje. Didelis antsvorio ir su antsvoriu susijusių susirgimų paplitimas dažnai aiškinamas sveikatos ir ligų raidos hipoteze (angl. *developmental origins of health and disease*), kuri teigia, kad lėtinių ligų patogenezėje didelis dėmesys turi būti skiriamas ne tik suaugusiųjų supantiems išorinės aplinkos veiksniams, bet ir kritiniais augimo momentais (pvz., embrioniniu laikotarpiu), organizmą supančiai aplinkai [32]. Įvairių maistinių medžiagų trūkumas prenataliniu laikotarpiu turi neigiamos įtakos palikuonio sveikatos būklei net ir po daugelio metų. Literatūroje dažnai aprašomi hormoniniai, kardiovaskuliniai, elgsenos pokyčiai, atsigriebimo augimas, tačiau egzistuoja ir tyrimų, teigiančių, kad mitybos sutrikdymas *in utero* lemia medžiagų apykaitos pokyčius, kurie gali būti perduodami ne tik pirmajai palikuonių kartai, bet ir ateities kartoms [33-37].

Įvairių epidemiologinių tyrimų su žmonėmis bei eksperimentų su gyvūnais, ieškančių ryšio tarp prenatalinės gerovės ir organizmo rizikos sirgti lėtinėmis ligomis suaugus, rezultatai nevienodi. Todėl juos būtina kritiškai įvertinti ir tinkamai apibendrinti. Tačiau šiuo metu dar negalima vienareikšmiai atsakyti, kokia yra antsvorio ar su juo susijusių lėtinių neinfekcinių ligų etiologija.

Šia apžvalga siekiama apibendrinti klasikines augimo programavimo *in utero* koncepcijas bei naujausius maistinių sąlygų iki nėštumo ir per nėštumą įtakos postnatalinei dukterinio organizmo gerovei tyrimus.

Magistrantės indėlis: magistrantė savarankiškai atliko reikiamos mokslinės literatūros paiešką, jos analizę, vykdė laboratorinių žiurkių svėrimo, skrodimo procedūras, atliko statistinę analizę, vadovaujama mokslinės vadovės ir konsultančių atliko duomenų interpretaciją.

1. AUGIMO PROGRAMAVIMO KONCEPCIJOS

Pandeminės antsvorio ir lėtinių ligų plitimo tendencijos kelia rimtą pavojų visuomenės sveikatai. Šių reiškinių gausėjimą ne visuomet pavyksta paaiškinti vien tik ydingu gyvenimo būdu ar paveldimumu. Mokslo pasaulyje jau atsiranda įrodymų, kad nesubalansuota mityba, fizinio aktyvumo stoka, ar igimtas polinkis – anaiptol ne vienintelės svorio didėjimo prielaidos. Vadinasi priežastingumo paieškoje turėtų būti kreipiamas dėmesys ir į tarpinį komponentą – aplinkos poveikį *in utero* organizmo raidai, pavyzdžiui, motinos mitybą. Besilaukiančios moters mitybos režimas yra labai svarbus normaliai gemalo raidai. Net ir nedidelis maitinimosi sutrikdymas gali lemti ne tik gemalo augimą, jo svorį, lytinį subrendimą, bet ir pirmalaikį reprodukcinės funkcijos senėjimą [38]. Be to, ženkliai pakitusios motinos mitybos sąlygos per nėštumą, vaisiaus ir naujagimystės laikotarpiu, lemia lėtesnę palikuonių raidą, keičia pagrindinių maistinių medžiagų (baltymų, riebalų angliavandenių, mineralinių medžiagų ir vitaminų) metabolizmą [39-45]. Šiuo metu jau yra įrodyta, kad maistinių medžiagų stygius ankstyvuojų gyvenimo laikotarpiu gali keisti augimo trajektoriją, būti antsvorio priežastimi suaugus bei didinti riziką sirgti įvairiomis lėtinėmis ligomis [46]. Literatūroje gausu duomenų apie neadekvačios intrauterinės aplinkos sukeltus ląstelių epigenetinius pokyčius, lemiančius kardiovaskulinės sistemos, angliavandenių apykaitos, svorio reguliavimo mechanizmų persitvarkymo reakcijas, pritaikančias organizmą gyventi reiklios aplinkos sąlygomis [47, 48].

Medžiagų apykaitos pokyčių pasekmė – „taupiojo fenotipo“ susiformavimas (angl. *thrifty phenotype*). Ši hipotezė sako, kad motinos mityba gali turėti ilgalaikių pasekmių kūdikio medžiagų apykaitai. Dėl maistinių medžiagų stokos *in utero* lėtėja vaisiaus augimas ir taip prisitaikoma gyventi aplinkoje, kurioje, gali trūkti mitybinių resursų [49]. Tai reiškia, kad organizmas yra „užprogramuojamas“ veikti tausojančiu režimu, suteikiančiu pranašumą išlikti nepritekliaus sąlygomis [50]. Kitaip tariant, dar *in utero* vaisius yra išmokomas taupyti maistines medžiagas ir kuo daugiau jų sukaupti, pasiruošiant tikėtina „badmečio“ pasikartojimo situacijai. Toks adaptacinis medžiagų apykaitos reguliavimas mokslo pasaulyje dar vadinamas „augimo programavimu“. Hipotezių, kad tam tikros medžiagų apykaitos reakcijos gali būti paveikiamos motininės mitybos atsirado jau XX a. pradžioje. Tačiau, pirmasis detaliau įsigilinti į šį reiškinį ryžosi Jungtinės Karalystės mokslininkas D.J. Barker (1992). Šis tyrėjas pasiūlė „vaisiaus kilmės“ hipotezę, teigiančią, kad nepakankama vaisiaus mityba lemia organizmo „taupymo“ režimo įjungimą, vėliau predisponuojantį į nutukimo, diabeto, kardiovaskulinių ligų patogenezę [51]. Teorija buvo mokslo pasaulio priimta ir 1995 m. pervadinta į „Barker‘io hipotezę“. Nuo to laiko, išsivysčiusiose, o vėliau ir žemesnio pragyvenimo lygio šalyse šiuo

klausimu intensyviai vykdomi įvairūs moksliniai tyrimai, vertingi, siekiant išsiaiškinti vaisiaus mitybos reikšmę ateities ligų formavimuisi.

Tuo tarpu į klausimą, kokie reiškiniai lemia tokius intensyvius ir ilgalaikius metabolinius pokyčius, vis dar nėra vienareikšmio atsakymo. Augimo ir raidos proceso metu organizmas gerai prisitaiko prie nepalankių aplinkos poveikių, todėl, net ir gaudamas mažai maistinių medžiagų, jis geba prisitaikyti taupiai jas naudoti bei efektyviai kaupti. Dėl to, kūdikio medžiagų apykaita sulėtėja, pakinta augimo trajektorija. Pasak kai kurių teoretikų, ši adaptacija nėra vienkartinė. Reaguodamos į žalojančią dirgiklį (maisto trūkumą), *in utero* ląstelės „įsimena“ ir perduoda šią patirtį dukterinėms. Minėti pokyčiai pasireiškia molekuliniam lygmenyje (per DNR metilinimą (metilo grupės įterpimą prie DNR fragmento, kuriame iš eilės pasikartoja citozino bazės) ar chromatinio pokyčius (chromatinas - baltymų kompleksas, suteikiantis DNR atraminę funkciją, tad pažeidimo atveju paveikiama DNR išsivyniojimo galimybė ir tam tikras genas gali būti inaktyvuojamas). Įprastai minėtos genetinės modifikacijos, pažeidimai ar inaktyvacija neapsiriboja tik keliomis ląstelių kartomis, o yra perduodami ateities kartoms (ankstyvoji evoliucija) [52]. Tokie pokyčiai gali lemti neįprastą organizmo jautrumą įprastiems aplinkos veiksniams, pvz.: teigiamo energinio balanso sąlygomis *in utero* maisto medžiagų stoką patyręs organizmas suaugęs greičiau nutunka. M. Siervo su bendraautoriais (2009) nuomone, pirmą kartą žmogus labai priklausė nuo gamtos veiksnių. Vadinas, netgi išmokęs kultivuoti žemę, dažnai kęsdavo nepriteklius. Autoriai mano, kad dažnai badavusio žmogaus genus reguliuojantys mechanizmai skatino riebalų atsidėjimą ir todėl organizmui buvo lengviau išgyventi bado ar nepalankaus sezono laikotarpį [53]. Panašiai teigia ir A. Griffiths (1999) bei A. Joss-Moore su bendraautoriais (2010). Anot šių mokslininkų, paveldimi fenotipo ar genų raiškos pokyčiai, sukelti mitybos ribojimo, yra adaptacinė organizmo reakcija, įgalinanti maisto medžiagų tausojimą [47, 54]. Kitaip tariant, epigenetinės modifikacijos sumažina natūralios atrankos įtaką: vietoj netinkamų genų pašalinimo, jie galimybių ribose pakeičiami ir ši informacija perduodama ateities kartoms. Tuo tarpu, moderniaisiais laikais, sėslaus gyvenimo būdo sąlygomis, šios apsauginės reakcijos gali turėti daugiau nepageidaujamų nei „išlikimą užtikrinančių“ pasekmių suaugusiam organizmui. Dažnai nepakankama motinos mityba lemia augimo sulėtėjimą *in utero* ir, atitinkamai, mažą naujagimio svorį [55]. Vadinas, gimimo svoris gali būti laikomas vienu iš intrauterinės gerovės žymenų, signalizuojančių ne tik naujagimystės periodo sutrikimus, bet ir tolesnio gyvenimo sveikatos problemas [56]. Kohortiniu tyrimu Indijoje nustatyta, kad mažo svorio (mažiau nei 2,5 kg) naujagimiai dažniau serga koronarine širdies liga (KŠL). Ši rizika didėja, jei motinos svoris per nėštumą buvo nepakankamas (mažiau nei 45 kg) [57]. Panašiai teigiama ir 1950-1959 gimusiųjų Anglijos gyventojų tyrime (N=11000) nustatyta, kad pakankamos materialinės gerovės sąlygomis gimusių naujagimių svoris atvirkščiai proporcingas

rizikai susirgti KŠL ir infarktu [58, 59]. Ryšys tarp gimimo svorio ir rizikos sirgti lėtinėmis ligomis vis dar tiriamas, tačiau naujausios studijos rodo, kad gimimo svoris, ko gero, tėra sulėtėjusio *in utero* augimo pasekmė, o didžiausią reikšmę kardiovaskulinių ligų atsiradimui turi vaisiaus augimo tempas per nėštumą [60]. Šie gausūs duomenys (N=15000) paremia taupiojo fenotipo hipotezę, teigiančią, kad augimo sulėtėjimas *in utero* yra reikšmingas ŠKL susiformavimui suaugus. Kūdikio augimo greičio *in utero*, vaikystės bei paauglystės metabolinės gerovės reikšmę ateities lėtinių ligų patogenezei aprašo ir Japonų mokslininkai. Kohortinė 5000 dalyvių studija paremia aukščiau minėtas atvirkščio proporcingumo sąsajas [61]. Analogiškas išvadas daro ir Lietuvos mokslininkai. E. Jakimavičienė, K. Bartkutė ir kt. (2012) teigia, kad netinkama motinos mityba, žalingi įpročiai ar kiti veiksniai kritiniu augimo laikotarpiu (*in utero*) gali lemti „taupiojo fenotipo“ susiformavimą ir mažą gimimo svorį, galintį tapti daugelio lėtinių ligų priežastimi [62].

Intrauterinis augimo sulėtėjimas nevienodai pavojingas skirtingų lyčių vaikams. Manoma, kad berniukų organizmas yra labilesnis, be to jie labiau pažeidžiami netinkamos motinos dietos. Keliamos hipotezės, kad berniukus maitinanti placenta funkcionuoja efektyviau, todėl vaisius auga greičiau, tačiau turi mažesnę adaptacinę potencialą. Todėl metabolinį stresą per nėštumą patyrę berniukai labiau rizikuoja gimti mažesnio svorio, o suaugę sirgti ŠKL ir kitomis lėtinėmis ligomis. Rizika sirgti minėtomis ligomis gali būti nustatoma ir iš placentos skersmens. Ištyrus hipertenzija sergančius pagyvenusius vyrus (Suomijoje) nustatytas aukšto kraujospūdžio ryšys su mažuoju placentos skersmeniu (paprastai moksliniams tyrimams matuojami du placentos ilgio parametrai: maksimalus („paviršiaus“) ir mažasis – ties dešiniaisiais placentos kraštais). Tyrimai rodo, kad iš placentos parametrų didžiausią ryšį su lėtinių ligų rizika turi būtent mažasis, o ne maksimalus placentos skersmuo. Didelės minėto parametro vertės taip pat aiškinamos adaptacija – maisto trūkumo sąlygomis placenta padidėjo, siekdama patenkinti mitybinius poreikius. Tuo tarpu moterų, sergančių hipertenzija, motininės placentos paviršiaus plotas sumažėjo. Be to, skirtingai nuo berniukų, jautresnių maistinių medžiagų trūkumui, mergaičių rizika sirgti lėtinėmis kardiovaskulinėmis ligomis priklauso nuo motinos ūgio [63]. Jungtinės karalystės mokslininkai taip pat nagrinėjo tarpukario metu gimusių asmenų kohortą, siekdami nustatyti placentos rodiklių ir aukšto kraujospūdžio tarpusavio ryšį. Nustatyta, kad rizika sirgti hipertenzija gali būti susijusi tiek su didelėmis, tiek su nepakankamomis placentos ploto vertėmis. Jie nustatė, kad kūdikio, kurio motina maitinosi nevisaverčiai, placentos paviršiaus plotas padidėja tik tuo atveju, jei ji pakankamai gerai maitinosi dar iki nėštumo ir placenta turi kompensacinį potencialą paviršiaus plotui padidinti. Tuo tarpu iki nėštumo maisto nepriteklias išsekintos moters organizmas to padaryti neišgali, todėl stebimas ženkliai sumažėjęs placentos plotas ir mažasis skersmuo, taip pat keliantis hipertenzijos riziką [64]. Jau

minėta Barker'io hipotezė aiškina ir sutrikusios gliukozės tolerancijos ryšį su ankstyvaisiais gyvenimo įvykiais. Remiantis šia prielaida, maistinių medžiagų stoka ankstyvaisiais gyvenimo etapais sukelia nuolatinį pokyčių gliukozės apykaitoje, lemiančius II tipo diabeto ir metabolinio sindromo išsivystymą suaugusiam žmogui. Manoma, kad dėl pokyčių endokrininėje sistemoje sumažėja kasos β -ląstelių funkcinis pajėgumas (sumažėja insulino sekrecija) ir vystosi rezistentiškumas insulinui [20, 65-68]. Plačiau lydimieji prenatalinio maistinių medžiagų trūkumo reiškiniai aptariami kituose skyriuose.

Itin įdomūs, tačiau reti moksliniai tyrimai ir teorinės apžvalgos, aiškinančios mitybos iki nėštumo įtaką embriono raidai ir jo sveikatos būklei suaugus. Žmogus kaip ir daugelis kitų gyvūnų didžiąją dalį energijos reikalingos reprodukcijai sukaupia dar iki apvaisinimo. Motinos riebalų atsargos esti tam tikra garantija, apsaugos principas „apdraudžiantis“ nuo galimos žalos, kad nepritekliaus sąlygomis dalį trūkstamų energinių resursų kompensuos motinos organizmas [69-70]. Šis argumentas yra viena iš kritikos Barkerio hipotezei priežasčių. Mokslininkai kritikuoja Barkerio hipotezę kaip pernelyg supaprastintą evoliuciniu požiūriu ir neatkreipiančią pakankamai dėmesio į dar iki nėštumo įgytą motinos potencialą aprūpinti embrioną maisto medžiagomis [71]. Nedidelis mitybos ribojimas per nėštumą nebūtinai lemia taupiojo fenotipo susiformavimą ir lėtinių ligų atsiradimą suaugus. Nėštumo laikas yra palyginti trumpas ir gera motinos fizinė būklė dalinai subalansuoja maisto trūkumo per nėštumą pasekmes [72]. Didžiausios problemos kyla būtent tada, kai motinos metabolinis potencialas yra nepakankamas kūdikio poreikiams užtikrinti, t.y. kaip savo apžvalgoje teigia Jungtinės Karalystės mokslininkas J.Wells, „nepasiteisina ilgalaikė motinos mitybos strategija, turėjusi aprūpinti palikuonį būtinomis maisto medžiagomis net ir nepritekliaus atveju“ [71]. Taip nutinka motinai laikantis dietos, badaujant, alinant organizmą pernelyg intensyvia fizine veikla ir kitais būdais stokojant maistinių medžiagų. Jei maisto stokojusi motina nepersileidžia ar nepagimdo negyvo naujagimio, – įvyksta „geriausia įmanoma pasekmė iš akivaizdžiai blogai prasidėjusios situacijos“, plastiškas embriono organizmas kiek įmanoma prisitaiko ir gimsta mažo gimimo svorio naujagimis [73]. Kaip žinia, mažas gimimo svoris susijęs su daugelio lėtinių ligų raida suaugus [55-59]. Tačiau, net ir normalaus svorio naujagimis, gimęs maistinių medžiagų stokojusiai moteriai gali būti lėtinių ligų išsivystymo rizikos grupėje. Ypač, jei postnatalinėmis sąlygomis susiduria su pasyviu gyvenimo būdu, persivalgymo kultūra. Ši teorija paaiškina, kodėl antsvorio ir lėtinių ligų paplitimas toks didelis besivystančiose šalyse. Mitybos nevisavertiškumo sąlygomis motinos organizmas negali užtikrinti embriono maistinių medžiagų poreikio, o „skolintis iš savęs“ gali tik labai ribotai, kadangi motinos organizmas yra išsekintas nepriteklių ir neturi pakankamai atsargų. Šis reiškinys ypač ryškus analizuojant paauglių nėštumus. Dalį metabolinio potencialo paauglės organizmas išnaudoja savo augimui ir raidai, tad, nepakankamai

maitinuisis iki nėštumo (reikėtų prisiminti įvairias paauglių tarpe paplitusias dietas ir dailaus, itin liekno kūno kultą) tinkamos embriono raidos užtikrinimas tampa itin sunkia užduotimi dėl ženkliai sumažėjusio organizmo plastiškumo potencialo [69]. Yra įrodyta, kad motinos ar net močiutės svoris iki nėštumo didele dalimi lemia kūdikio fizinius parametrus [74-76]. Ko gero, ryškiausias nevisavertės motinos mitybos žymuo: nepakankamas svoris iki nėštumo, arba, jei nevisavertė mityba regione susiklosčiusi istoriškai – ūgis ir kiti kūno parametrai. Mažas motinos svoris didina riziką persileisti, pagimdyti mažo svorio naujagimį ir didina riziką sirgti lėtinėmis ligomis suaugus [15-17, 57, 77-80].

Vadinasi, vaiko gerovei svarbi ne tik motinos mityba per nėštumą, tačiau ypač iki nėštumo, kadangi sukauptieji motinos energiniai resursai tampa pagrindu naujo organizmo raidai ir apsauginiu veiksmu nepritekliaus sąlygomis. Vis dėl to, nepakankamos mitybos iki nėštumo pasekmių tyrimai – labai reti ir išvados dažniausiai daromos teoriniu lygmeniu, todėl būtini nauji validūs moksliniai tyrimai šiems dėsningumams apibendrinti.

2. AUGIMO PROGRAMAVIMO PADARINIAI

2.1. Hormoniniai pokyčiai

Kaip minėta ankstesniuose skyriuose, motinos mitybos nepakankamumas gali užprogramuoti vaisiaus polinkį sirgti daugeliu medžiagų apykaitos ligų. Nepalanki intrauterinė aplinka gali modifikuoti organizmo savireguliacijos mechanizmus ir, turėti poveikį įvairių organų sistemų medžiagų apykaitai. Yra manoma, kad sutrikusi savireguliacija gali tapti antsvorio ir diabeto atsiradimo priežastimi.

Nepaisant to, kad rezistenciją insulinui, vienam pagrindinių hormonų gliukozės apykaitoje, lemia senėjimas, nutukimas, fizinio aktyvumo stoka ir kiti veiksniai, šiuo metu yra laikomasi nuomonės, kad susirgti cukriniu diabetu turi įtakos ir paveldimas polinkis. Jau kelis dešimtmečius intensyviai vykdomi tyrimai, ieškantys ryšio tarp prenatalinio “bado” ir insulino metabolizmo sutrikimų. Paprastai diabetą sukelia kasos β -ląstelių nepakankamumo ir insulino rezistencijos kombinacija. Mokslo pasaulyje dažnai remiamasi „taupiojo fenotipo“ hipoteze ir iš jos sekančiomis prielaidomis, skelbiančiomis, kad insulino rezistencija gali būti užsitęsusio vaisiaus atsako į maistinių medžiagų stygių pasekmė [66]. Dėl maistinių medžiagų trūkumo sutrinka kasos Langerhanso salelių kraujotaka ir nervinių signalų raida bei atsiranda rezistencija insulinui [65]. Individui augant, β -ląstelės nesugeba patenkinti augančių insulino poreikių ir, išsekus kasos kompensaciniam pajėgumui, ilgainiui susergama diabetu. Neseniai Nigerijoje atliktas tyrimas taip pat patvirtina šią prielaidą. Šeštojo XX amžiaus dešimtmečio pilietinio karo metu *in utero* badavę palikuonys, sulaukę keturiasdešimties metų, dažniau sirgo antro tipo diabetu nei normaliai besimaitinusių motinų vaikai [20]. Šiuo metu neabejojama, kad mažas gimimo svoris taip pat gali būti diabeto suaugus indikatoriumi. Tačiau reikėtų prisiminti, kad svarbus ne tik pats mažo gimimo svorio faktas, o jį įtakojantys veiksniai, t.y. prenatalinis augimo sulėtėjimas. Įdomu ir tai, kad insulino rezistencijai atsirasti nebūtina turėti antsvorio - insulino rezistencijos išsivystymas *in utero* metabolinį stresą patyrusiam individui nėra priklausomas nuo kūno svorio ar riebalų struktūros [81-83].

Tačiau insulinas nėra vienintelis hormonas, tariamai esąs svorio augimo po intrauterinio badavimo kaltininku. Glaudžiai su kūno svorio hormonine reguliacija organizme susijęs ir riebalinio audinio hormonas leptinas. Leptinas reguliuoja neuroendokrinines ir imunines organizmo funkcijas, tarp jų: augimą *in utero* bei adaptaciją postnataliniam gyvenimui [84]. Leptino signalizuoja CNS apie organizmo energinių resursų būklę ir skatina specifines adaptacines reakcijas, kurios paleidžia “tausojančią, kaupiančią” medžiagų apykaitos režimą, pvz.:

pavalgius juntamas sotumo jausmas [85]. Šiuo metu teigiama, kad, pagrindinė evoliucijos eigoje susiformavusi leptino rolė esanti ne pranešti apie sotumą (išvengti antsvorio), bet signalizuoti apie maisto medžiagų trūkumą (išlaikyti adekvačias riebalų atsargas organizme) [86].

Nutukusiųjų kraujo plazmoje stebima didelė leptino koncentracija, kuri stipriai koreliuoja su kūno riebalų kiekiu [87]. Taip yra todėl, kad nutukę žmonės tampa nejautrūs (rezistentiški) leptinui: didelės riebalų sankaupos pagamina daug leptino ir organizmas nustoja į jį reaguoti [41]. Vis dėl to, nėra visiškai aišku, ar leptinas yra tik „paleidžiantysis“ ar tikrasis veiksnys tolesnėje *in utero* maisto stygių patyrusių embrionų nutukimo patogenezėje [45, 84, 85]. Santykinė rezistencija leptinui gali atsirasti dar iki gimimo. Lietuvos mokslininkai tyrė, mažų pagal gestacijos amžių vaikų kontingentą, taip pat skelbia panašias išvadas. Šie vaikai išlieka liesesni ir mažesni už normalaus svorio vaikus, būdami vienerių ir dvejų metų amžiaus, tačiau vėliau ima prarastą svorį „atsigriebti“ ir auga statistiškai reikšmingai greičiau iki pat šeštųjų gyvenimo metų. Be spartaus KMI prieaugio vaikams stebėtas ir polinkis į centrinį riebalinio audinio pasiskirstymą. Daroma prielaida, kad prenataliniu laikotarpiu sutrinka riebalinio audinio raida ir atsiranda rezistentiškumas leptinui, lemiantis polinkį į nutukimą bei kitas lėtines ligas [88]. Kitu tyrimu taip pat gauti panašūs rezultatai. Labai mažo gimimo svorio vaikų augimas atsilieka nuo normalaus gimimo svorio vaikų ūgio, svorio ir kūno masės indekso rodiklių iki penktųjų gyvenimo metų [89]. Matyti, kad mažo gimimo svorio atokieji reiškiniai turi daugialypį poveikį vaiko sveikatos būklei, o nepakankamas gimimo svoris gali turėti įtakos ne tik sveikatos būklei vaikystėje, tačiau ir lėtinių ligų ar antsvorio susiformavimui vyresniame amžiuje.

2.2. „Atsigriebimo fenomenas“ ir antsvoris

Laštelių apykaitos pokyčiai gali atkelti vartus normos ribas viršijančio kūno svorio didėjimui, kuris, kaip minėta anksčiau, atsakingas už daugelio ligų raidą. Prenataliai metabolinį stresą patyręs organizmas, gimęs ir gyvenęs mitybinio priteklaus sąlygomis gali kur kas greičiau priaugti svorio nei normaliai besivystęs. Studijos rodo, kad *in utero* metabolinį stresą patyrę palikuonys gimsta mažesni, tačiau auga greičiau ir jau netrukus yra sunkesni ir ilgesni už kontrolinius [23, 45, 84, 90-92]. Tai vadinamasis „augimo atsigriebimas“ (angl. *catch-up growth*), t.y. didelis augimo greitis, viršijantis tam tikram amžiui ar brandumui nustatytas statistines normos ribas [93, 94]. Tokį terminą pasiūlė mokslininkų grupė: A. Prader, J. Tanner ir G. von Harnack (1963). Atsigriebimo fenomeno tikslas – pagreitinti dėl *in utero* augimo sulėtėjimo atsiliekančio organizmo raidą ir pasivyti bendraamžius, t.y. pasiekti amžiui būdingus augimo parametrus. J. Williams apžvalgoje jis skiriamas nuo kompensacinio augimo, kadangi

atlyginama potenciali, o ne reali žala. Be to, atsigriebiantis augimas stebimas visame kūne, o ne viename organe [95].

Autoriai mano, kad organizmas stipraus dirgiklio (maisto stygiaus) paveiktas, prisitaiko ir keičia įvairius medžiagų apykaitos procesus ir pasiruošia kaupti maisto atsargas. Tačiau skurdžios mitybinės aplinkos sąlygomis to neužtenka normaliems kūno parametrams užtikrinti. Todėl paprastai *in utero* maistinių medžiagų stokojęs palikuonis gimsta mažesnio svorio, tačiau pakliuvęs į palankias postnatalines sąlygas greitai „atsigriebia“ trūkstamą svorį. Literatūros duomenys rodo, kad „augimo atsigriebimas“ prasideda žindymo laikotarpiu, kai maisto ribotos motininės patelės turi pakankamai pieno palikuonims žindyti (žindomo pieno kiekis prilygsta kontrolinei grupei) [23]. Nyderlanduose vykdyto tyrimo duomenimis, apie 85 proc. mažo gimimo svorio naujagimių per pirmus dvejus metus patyrė „augimo atsigriebimą“ [90].

Metabolinį stresą patyrusio palikuonio kūno svoris didėja daug greičiau už normaliai augusiojo, todėl tolesniais brendimo etapais svorių skirtumas tarp kontrolinių ir eksperimentinių palikuonių tik didėja pastarųjų naudai [23, 84, 45, 91, 92], o tolesnis riebalinės masės didėjimas, deja, tęsiasi net ir pasivijus bendraamžius. Kitas dažnas „atsigriebimo fenomeno“ komponentas – hiperinsulinemija. Lipogenezė *de novo* ir hiperinsulinemija veikia kartu ankstyvosiose „atsigriebimo“ stadijose [96]. Be to, „augimo atsigriebimo“ metu, gliukozė iš griaučių raumenų yra perskirstoma į riebalinį audinį ir skatina tolesnę lipogenezę *de novo*. Toks biocheminių procesų modifikavimas ankstyvuojų gyvenimo laikotarpiu, galbūt, gali lemti suaugusiojo medžiagų apykaitos pokyčius ir dalyvauti lėtinių ligų patogenezėje. Neinfekcinių ligų rizika dar didesnė, jei susiduriama su antsvorio rizikos veiksniais - hipodinamija ar neadekvačia mityba. Literatūros duomenys taip pat rodo, kad net ir tais atvejais, kai „atsigriebimo fenomeno“ nestebima, palikuonys pasižymi padidėjusiu jautrumu insulinui [91]. Galima manyti, kad, jautrumas insulinui, išsekus organizmo kompensacinėms galimybėms, pasireikš insulino rezistencija.

Tačiau, sumažėjęs funkcinis organizmo pajėgumas ir rezistentiškumas insulinui nebūtinai gali lemti antsvorį ar nutukimą. Įvairiose pasaulio šalyse vykdomi tyrimai neretai gauna skirtingus postnatalinio gyvenimo svarbos *in utero* maistinių medžiagų trūkumo pasekmėms įvertinti rezultatus. Jau atsiranda hipotezių, kad jei po gimimo palikuonis nesusidurs su antsvorį predisponuojančiais veiksniais, jis ir liks normalių kūno parametrų. Šį teiginį iliustruoja Gambijoje (Afrika) vykdyto kohortinio tyrimo duomenys. S. Moore ir bendraautorai (2001) lygino vaikų, gimusių bado ir aukštos mitybinės gerovės sąlygomis, antropometrinius duomenis bei kardiovaskulinių ligų rizikos veiksnius, tačiau skirtumo tarp grupių nerado. Ryšio nebuvimas aiškinamas tuo, kad *in utero* maistinių medžiagų stokoję palikuonys ir toliau gyveno nepritekliaus ir reiklios aplinkos sąlygomis, todėl užaugo neturėdami antsvorio [97]. Panašūs

rezultatai aprašomi ir Rusijos mokslininkų atliktame tyrime, kai palikuonims, kurių motinos maitinosi nepakankamai, ne visuomet pasireiškia svorio pokyčiai, tačiau gali atsirasti kitokio pobūdžio sveikatos problemų. L. Khoroshinina bei N. Zhavoronkova (2008) teigia, kad vaikystėje ilgai ir sunkiai badavusios mergaitės, vyresniame amžiuje susirgo diabetu anksčiau, nors jų svoris buvo nepadidėjęs [98]. Vadinasi, patologinių procesų raidai reikalingi „klasikiniai“ antsvorio atsiradimo veiksniai: didelė paros raciono energinė vertė ir mažas fizinis aktyvumas. Tokiu atveju organizmas dar *in utero* „paruoštas“ kaupti maisto medžiagas susiduria su sunkumais gyventi didelio energinių medžiagų kiekio sąlygomis ir, išsekus organizmo adaptacijos galimybėms, vystosi susirgimai.

Mityba per nėštumą lemia ne tik suaugusiojo svorį, tačiau ir kūno riebalų struktūrą. Yra atlikta tyrimų, įrodančių, kad *in utero* metabolinį stresą patyrę kūdikiai suaugę dažniau būna nutukę (ypač būdingas centrinio tipo nutukimas) [21]. Įdomu ir tai, kad ankstyvajame amžiuje „užprogramuotas“ riebalų kaupimasis juosmens srityje nepriklausomai nuo antsvorio didina riziką sirgti su mityba susijusiomis ligomis [22,23]. Pakinta net ir normalaus svorio naujagimių, stokojusių maisto medžiagų ankstyvuoju gyvenimo laikotarpiu, kūno riebalų struktūra ir stebimas riebalinio audinio atsidėjimas juosmens srityje.

Be to, svarbus ne tik pats maisto stygiaus faktas bei jo trukmė, tačiau ir laikotarpis, kuriuo organizmas patiria metabolinį stresą. Olandijoje antrojo pasaulinio karo metu (1944 m.), Vokietijai nustojus tiekti prekes į Nyderlandus, šalį ištiko žiemos badmetis (angl. *Dutch hunger winter*) ir daugelis nėščių moterų negalėjo normaliai maitintis. Po beveik 20-ties metų, atliekant kohortinį tyrimą, buvo nustatyta, kad ankstyvuoju ir viduriniu nėštumo laikotarpiu *in utero* metabolinį stresą patyrę vyrai buvo du kartus labiau linkę nutukti nei nepatyrę prenatalinio maisto deficito bendraamžiai. Toks ryšys aiškintas maistinių medžiagų stygiaus įtaka pagumburio apetito ir augimo centrų diferenciacijai. Tuo tarpu vėlyvuoju nėštumo periodu badavusiems palikuonims suaugus, padidėjusios rizikos nutukti nenustatyta. [99]. Matyt, ne tik nėštumo, bet ir ankstyvuoju postnataliniu periodu besitęsiosios maisto stygiaus sąlygos paveikė riebalinio audinio raidą. Besivystantis organizmas ir jo organai yra itin jautrūs augimo ir brendimo kritiniais laikotarpiais. Pavyzdžiui, kasa yra pažeidžiamiausia β -ląstelių proliferacijos metu, tuo tarpu inkstai – nefrogenezės. Jei per nėštumą patiriamas maistinių medžiagų stygius - susidaro mažiau organo ląstelių. Todėl galima teigti, kad kritiniu metu suveikęs stresorius gali pakeisti normalų organizmo sistemų funkcionavimą. Pavyzdžiui, mokslinėje literatūroje teigiama, kad sumažėjęs nefronų skaičius sietinas su aukšto kraujospūdžio raida suaugus [100].

2.3. Kardiovaskulinės sistemos pokyčiai

Susilpnėjęs prenatalinis augimo greitis kartu su augimo akceleracija vaikystės laikotarpiu ~50 proc. didina rizika sirgti kardiovaskulinėmis ligomis suaugus [101]. Šio dėsningumo priežastys – nevisai aiškios. Pasaulyje vykdoma daugybė tyrimų šia tema. Kardiovaskulinių (KV) ligų ryšį su ankstyvojo gyvenimo įvykiais sieja ir Lietuvos mokslininkai. Paulauskienė S. ir kt. (2011) teigia, kad vaikystėje pasireiškiantis „atsigriebimo fenomenas“ gali turėti įtakos hipertenzijos atsiradimui. Vadinasi, kritiniai augimo periodai turi reikšmės hipertenzijos raidai [102].

Pastaruoju metu literatūroje gausu duomenų, kad KV sistemos ligų raidos patogenezėje labai svarbi placenta. K. Godfrey (2002), Šefylde (Sheffield), Anglijoje, vykdė tyrimą ir nustatė „U“ formos ryšį tarp placentos ir palikuonių gimimo svorio santykio bei mirtingumo nuo ŠK ligų. Nustatyta, kad mažiausia kardialinės kilmės mirties rizika yra tada, kai placenta sveria apie 20 proc. naujagimio kūno svorio, ir didėja, kai nukrypstama nuo 20 proc. ribos. [103]. Kitų autorių nuomone, vaisiaus širdies raida glaudžiai siejasi su placentos kraujotakos raida. Mokslinės studijos rodo, kad placenta „jautri“ motinos dietai ir kūno sudėčiai. Tyrimuose taip pat nustatyta, kad mažesnio svorio moterys gimdo mažesnius vaikus [104]. Mao J. su bendraautoriais (2010) studijoje su pelėmis nustatė, kad pelių placentos genų raiška yra labai adaptyvi ir „prisiderina“ prie motinos dietos. Įdomu tai, kad šioje studijoje stebėti ir žmonių tyrimams prieštaraujantys (žr. Eriksson, Kajantie ir kt. (2010) lyčių skirtumai: skirtingai anksčiau aprašytam tyrimui, pateles maitinusi placenta jautresnė mitybos sutrikimams nei patinėlius [105].

Įdomios ir studijos, kuriose aprašoma tam tikrų maisto produktų vartojimo per nėštumą įtaka suaugusio vaiko sveikatai. Jungtinėje Karalystėje buvo tiriamos nėščiosios, vartojusios daug baltymų turinčio maisto (mėsos ir žuvies) bei vengusios angliavandenių turinčių produktų. Po 30 metų tirti suaugę šių moterų vaikai. Mėsai pirmenybę teikusių moterų vaikams nustatytas padidėjęs sistolinis kraujo spaudimas. Tuo tarpu, tiems vaikams, kurių mamos valgė daug žuvies nustatytas padidėjęs diastolinis kraujo spaudimas [106]. Paminėtina, kad gauti rezultatai nepriklauso nuo motinos kraujospūdžio, kūno svorio bei rūkymo per nėštumą. Vadinasi, nesubalansuota dieta taip pat gali būti metabolinio streso ir ateities susirgimų priežastimi. Dar vienu analogiškos metodikos tyrimu ieškota ryšio tarp nesubalansuotos dietos ir hiperkortizolemijos suaugus. Nustatyta, kad motinų, vartojusių daug mėsos ir stokojusių angliavandenių, suaugusių vaikų kraujo plazmoje viršijamas kortizolio kiekis [107]. Tai gali būti viena iš ankstyvajame gyvenime „užprogramuotos“ hipertenzijos priežasčių.

Žinoma, nereikėtų tiesmukai interpretuoti nėščiosios mitybos reikšmės suaugusiojo medžiagų apykaitai. Kaip minėta ankstesniuose skyriuose, suaugusiojo svoris ir lėtinių ligų rizika didele dalimi priklauso nuo dar iki nėštumo sukaupto energinio potencialo bei postnatalinės gyvensenos: mitybos visavertiškumo, gyvenimo būdo bei aplinkos sąlygų. Paminėtina, kad tyrimų sistemiskai apibendrinančių ir įvertinančių maistinių medžiagų trūkumo iki gimimo bei vaikystės ir suaugusiojo gyvenimo būdo rizikos veiksnių indėlį lėtinių ligų patogenezėi, stokojama, kartais gaunami prieštaringi rezultatai, todėl juos būtina vertinti kritiškai.

2.4. Kiti organizmo pokyčiai

A. Brown su bendraautorais (2000) tyrė per nėštumą badavusias moteris. Autoriai badą sieja net su elgesio sutrikimų atsiradimu jau suaugusiems palikuonims. Nagrinėdami „Olandų badmečio“ metu maistinių medžiagų stokojusius žmones, mokslininkų grupė atrado ryšį tarp vidurinioju ir/ar vėlyvuju nėštumo laikotarpiu patirto metabolinio streso ir šizofrenijos raidos [108]. Kiti autoriai, tyrė Amsterdame praėjusio amžiaus 5-jame dešimtmetyje badavusius asmenis, sergančius obstrukcinėmis plaučių ligomis, taip pat nustatė ryšį tarp motinos badavimo ankstyvuju bei vidurinioju nėštumo laikotarpiais ir žalos plaučiams [109]. Badavimas *in utero* gali turėti poveikį reprodukciniam pajėgumui. Painter R.C. su bendraautorais, tyrė Danijos badmečiu *in utero* maistinių medžiagų stokojusius suaugusiuosius, teigia, kad tokios moterys yra vaisingesnės. Be to, jos anksčiau pradeda gimdyti vaikus, jų gimdo daugiau, dažniau gimdo dvynius, o nevaisingumo atvejai pasitaiko retai. Tuo tarpu, vyrų vaisingumo pokyčių autoriai nenustatė [110].

Dėl metodinių ir etinių problemų, vykdant tyrimus su žmonėmis, dažnai augimo programavimo tyrimuose naudojami laboratoriniai gyvūnai. Tyrimai su laboratoriniais gyvūnais leidžia per trumpą laiką nustatyti „badavimo“ laikotarpio įtaką sutrikimams atsirasti, jiems įvertinti ir priežastingumo hipotezėms kelti. Tokie tyrimai leidžia užtikrinti standartizuotas jų laikymo sąlygas, nuolatinę stebėjimą ir maksimaliai sumažinti trikdančių veiksnių įtaką.

3. EKSPERIMENTAI SU GYVŪNAIS

3.1. Gyvūnų modelių pasirinkimo prielaidos

Ekspperimentai su gyvūnais leidžia atlikti tam tikro dirgiklio poveikio gyvam organizmui analizę bei įvertinti sveikatos riziką, tai pat – numatyti žmogaus organizmo veiklos mechanizmus. Tyrimai su žmonėmis sudėtingi dėl daugybės etinių klausimų: tiriamasis turi dalyvauti studijoje laisva valia, būti adekvačiai informuotas, tyrimo nauda turi būti didesnę už galimą žalą ir kita. Kartais šiuos aspektus užtikrinti labai sunku arba netgi neįmanoma, tuo tarpu gyvūnų tyrimai pasižymi kitokio pobūdžio reikalavimais. Be to, tokie eksperimentai yra kur kas pigesni (gyvūnas trumpiau gyvena, trumpesnė nėštumo trukmė, greičiau auga palikuonys, greičiau galima diagnozuoti ligas). Grauzikas, sveriantis 50-60 g, per dieną užauga apie 5-6 g (apie 10 proc. kūno svorio). Toks intensyvus augimas išlieka iki kol žiurkė pasiekia apie 200-300 g svorį [111]. Paminėtina ir tai, kad laboratorinių gyvūnų tyrimai atliekami standartizuotomis sąlygomis, tuo tarpu žmogus yra veikiamas daugybės išorinių ir vidinių veiksnių, galinčių iškreipti tyrimo rezultatus.

Kai kuriais atvejais (pavyzdžiui, jau minėtas kohortinis „Olandų bado žiemos“ tyrimas) atliekami kohortiniai žmonių tyrimai, tačiau jie reikalauja itin daug laiko ir materialųjų resursų. Todėl pasaulyje gausėja studijų su laboratoriniais gyvūnais, siekiant santykinai nebrangiai ir greitai išsiaiškinti išorinių faktorių poveikį žinduolio organizmui. Mokslinėse studijose renkamiesi įvairūs gyvūnai: žiurkės, pelės, kiek rečiau – triušiai ar paršeliai. Biomedicininiams tyrimams dažniausiai naudojamos pelės, tačiau, atliekant specifinius tyrimus (tiriant mitybą, elgseną, toksines medžiagų savybes), geriausiai tinka žiurkės [112]. Šie gyvūnai tinkami naudoti vietoje kitų modelių, kurie yra ne tokie adaptyvūs ir gerokai brangesni. *Wistar* linijos žiurkės yra viena iš populiariausių šiuo metu biomedicininiuose tyrimuose naudojamų žiurkių padermių.

Mitybos ribojimo įtakos organizmo sveikatos būklei studijose šiuos grauzikus mokslininkai naudoja jau nuo XX amžiaus [111]. Mokslo pasaulyje jau beveik šimtmetį skiriamas ypatingas dėmesys studijoms, tiriančioms maistinių medžiagų, mineralų bei vitaminų įtaką organizmo augimui [113].

3.2. Prenatalinio augimo programavimo pasekmių tyrimai

Hipotezės, kad motinos mityba gali turėti įtakos ne tik naujagimio morfologiniams parametrams, sveikatos būklei, bet ir lemti kūno masės pokyčius suaugus, atsirado neseniai. Tačiau pirmieji bandymai aiškintis „atsigriebimo fenomeną“ vykdyti dar 1914 m. (oficialiai šis pavadinimas atsirado tik septintajame praeito amžiaus dešimtmetyje). JAV mokslininkai T. Osborne ir L. Mendel (1914) vykdė eksperimentą su suaugusiomis žiurkėmis ir nustatė, kad nepakankamai maistingai šerti graužikai, pilnavertės dietos sąlygomis, kur kas greičiau priauga svorio nei normaliai šertos gentainės [113]. Vadinasi po trumpalaikio mitybos ribojimo, organizmas bando gražinti individą į jo amžiui būdingą augimo taką. Mokslinis interesas šiuo klausimu kuriam laikui nuslūgo, bet panašaus pobūdžio tyrimai tęsiasi ir mūsų dienomis. Ypač įdomūs ir aktualūs eksperimentai su gyvūnais, kuriuose maisto trūkumas taikomas *in utero* organizmui. D. Alexe ir kt. (2006) tyrimais su gyvūnais nustatyta, kad per nėštumą tiek maistinių medžiagų perteklius, tiek jų trūkumas, lemia reikšmingai didesnę nei kontrolinių individų svorį, metabolinius susirgimus ir kitų patologinių būklių raidą suaugusiam gyvūnui [84, 91]. Be to, vykdomi eksperimentai su naminiiais gyvuliais, siekiant išsiaiškinti, ar motinos mitybos gerinimas gali padidinti kaimenės reprodukcijos efektyvumą. Tyrimais nustatyta, kad, siekiant sumažinti paršelių mirtingumą, paršavedėms turi būti užtikrintas ne mažesnis kaip 80 proc. pašaro davynys. Be to, nėštumo pabaigoje vienu kilogramu padidinus ėdalo normą - šiek tiek padidėja naujagimių paršelių svoris. Tačiau paršavedės mityba didžiausią reikšmę įgyja po palikuonių atjunkymo. Nustatyta, kad mitybinė motinos gerovė, atgaunant jėgas po nėštumo bei laktacijos, užtikrina didesnę kitų kartų embrionų išgyvenamumą. Laktacijos metu, sumažėjus apetitui, kiaulė netenka daug svorio, todėl būtina išlaikyti *ad libitum* kiaulės šėrimo sąlygas [114]. Mitybos per nėštumą svarbą aiškina ir K. Thornburg (2010). Jo nuomone, avių, ganytų prastose, skurdžiose ganyklose vietoj įprastų, placentos ir ėriuko gimimo svoris padidėja. Autorius daro išvadą, kad mitybos ribojimas nėštumo viduriniu metu suintensyvina placentos augimą [30].

3.2.1. Motinos mitybos ribojimo per nėštumą laipsniai

Kaip minėta anksčiau, laboratorijos sąlygomis atliekama daug tyrimų, siekiant išsiaiškinti, kokio laipsnio mitybos ribojimas gali turėti žalojantį poveikį palikuoniui. Laborie C. ir kt. (2011) savo studijoje tyrė motinines žiurkes, kurioms nuo 2 nėštumo savaitės iki atjunkymo buvo 50 proc. ribota maisto ir nustatė, kad jų palikuonys (patinai) buvo lengvesni už kontrolinius

ką tik gimę, atjunkymo metu bei 8 mėnesių amžiaus. Kartu autoriai tyrė ir palikuonių antinksčius. Tyrimais buvo nustatytas normalus antinksčių svoris, tačiau rasti ultrastruktūriniai jų pokyčiai bei sumažėjusi katecholaminų koncentracija kraujo plazmoje. Autoriai daro išvadą, kad maistinių medžiagų stygius nėštumo ar laktacijos metu gali lemti suaugusių patinų arterinių kraujospūdį [115]. Kitoje studijoje suaugusių žiurkių palikuonių svorių skirtumų mokslininkai nenustatė, tačiau rado kūno riebalų struktūros pakitimų. Suzuki M. ir kt. ištyrė *in utero* maisto medžiagų stygių patyrusių palikuonių kūno riebalų pasiskirstymą nustatė, kad 280 dienų amžiaus palikuonių pilvo riebalų kiekis buvo didesnis nei kontrolinių [23]. Egzistuoja ir radikalesnių mitybos ribojimo tyrimų. Nėščių žiurkių paros maisto raciono davinį sumažinus 70 proc., palikuonys gimsta mažesnio kūno svorio. Tačiau graužikams augant, stebimas spartus vyriškos lyties palikuonių svorio augimas, greitai pavejantis ir pralenkiantis kontrolinius patinus. Paminėtina ir tai, kad šių žiurkių kraujo plazmoje nustatyta didesnė leptino koncentracija nei kontrolinių [116]. Tuo tarpu, JAV mokslininkai nustatė, kad net ir 50 proc. sumažinus motininių patelių maisto davinį per nėštumą, palikuonims nevisuomet atsiranda gliukozės metabolizmo pokyčių. Garg M. ir kt. (2009) teigia, kad moteriškos lyties palikuones skatinant būti fiziškai aktyvias, sumažėja rezistentiškumo insulinui išsivystymo rizika [67]. Vadinasi, kaip ir minėta ankstesniuose skyreliuose, *in utero* badavęs organizmas rizikuoja nutukti tik patekęs į teigiamo energinio balanso sąlygas.

Poveikiu organizmui pasižymi ne tik kiekybinis, tačiau ir kokybinis paros raciono energinės vertės sumažinimas, kadangi baltymų, riebalų ar angliavandenių trūkumas dietoje skirtingai veikia palikuonių sveikatos būklę.

3.2.2. Baltymų trūkumo motinos dietoje reikšmė augančiam organizmui

Literatūroje gausiai aprašomi tyrimai, auginant žiurkes neadekvataus baltymų kiekio sąlygomis. Tokie tyrimai vertingi, siekiant nustatyti baltymų vartojimo ankstyvuojų gyvenimo laikotarpiu reikšmę rizikai sirgti diabetu bei kitomis metabolinėmis ligomis. Motinines žiurkes šeriant mažai baltymų turinčiu pašaru (50 proc. mažiau nei kontrolinės) slopina embriono augimą *in utero*. Negana to, baltymų maiste stokojusių motinų žindomi palikuonys lėčiau auga. Įdomi ir ilgalaikė perspektyva: tokioms žiurkėms suaugus, dažniau nustatomas aukštas kraujospūdis [117]. Padidėjusi hipertenzijos rizika stebima ir kitose metodiškai panašiose studijose. L. Brawley su bendraautoriais padidėjusį kraujospūdį aiškina sumažėjusia kraujagyslių tonusu (išsiplėtimu) [118], o C. Petry (2001) teigia, kad metabolinį stresą *in utero* patyrę suaugę palikuonys gali būti rezistentiški insulinui bei sirgti diabetu [119]. Tuo tarpu sumažėjusi

jautrumą insulinui R.Thompson su bendraautorais (2010) aiškina epigenetinio reguliavimo sutrikimais, pavyzdžiui, kasos salelių DNR pokyčiais [68].

Įdomu ir tai, kad prenatalinė baltymų stoka lemia ne tik polinkį sirgti lėtinėmis ligomis suaugus, bet ir apetito kontrolę bei maisto pasirinkimą: subrendę palikuonys dažniau renkasi riebų, tukinantį maistą (lyginant su daug angliavandenių ar baltymų turinčiu maistu). Tokios žiurkės greičiau išalksta ir lėčiau pasisotina, todėl suėda daugiau maisto. [120]. Analogiškus rezultatus gavo ir Prancūzijos mokslininkai [121]. Literatūroje apetito padidėjimas (hiperfagija) aiškinamas medžiagų apykaitos sutrikimais. Hiperfagija dažnai siejama su leptino rezistencijos atsiradimu, kai hormono koncentracija kraujyje didelė, tačiau organizmas ir toliau funkcionuoja „tausojančiu režimu“. A. Yura ir kt. (2005) studijose su pelėmis nustatė koreliaciją tarp „badavimo“ per nėštumą ir palikuonių nutukimo bei hiperinsulinemijos ir hiperleptinemijos [45]. Kita vertus, tam tikrais baltymų stokos atvejais žalos organizmui galima išvengti. K.A. Lillycrop ir kt. (2005) eksperimentuose su nėščiomis pelėmis nustatė, kad folio rūgštis gali būti apsauginiu veiksmu, siekiant išvengti medžiagų apykaitos pokyčių. Sumažinus baltymų kiekį paros ėdalo davinyje 50 proc., sutrinka embriono specifinių kepenų genų epigenetinė reguliacija (DNR metilinimas), tuo tarpu, pelių, maitintų analogiškoms sąlygomis, tačiau praturtinus dietą folio rūgštimi, palikuonims epigenetinių pokyčių nenustatyta [122].

3.2.3. Angliavandenių trūkumo motinos dietoje reikšmė augančiam organizmui

Šiuo metu žinoma, kad angliavandenių stoka nėščių žiurkių paros maisto racione taip pat gali sukelti nepageidaujamų pasekmių embriono raidai. K. Koski ir kiti (1986) nustatė, kad mažai angliavandenių turinčiu ėdalu šertoms nėščioms žiurkėms įvykdavo savaiminiai persileidimai [123]. Tuo tarpu, esant saikingam angliavandenių deficitui dietoje, palikuonys gimsta mažesnio svorio ir yra rezistentiški insulinui [124]. Todėl galima manyti, kad motinų, patyrusių angliavandenių deficitą per nėštumą, reprodukcinė funkcija yra silpna, o jų palikuonių medžiagų apykaita sutrikdyta.

3.2.4. Riebalų trūkumo motinos dietoje reikšmė augančiam organizmui

Riebalinės kilmės medžiagų, ypač riebiųjų rūgščių, stoka maisto racione taip pat gali sukelti nepageidaujamas organizmo reakcijas. JAV mokslininkas J.T. Brenna (2011) tyrė šių medžiagų poreikį primatams, pelėms, žiurkėms ir kitiems gyvūnams. Autorius nustatė, kad žiurkių, šertų grūdais ar aliejais, kuriuose gausu linolo ($\omega 6$), tačiau labai mažai linoleno ($\omega 3$)

riebiųjų rūgščių, palikuonys pasižymi regos, kognityviniais ir elgsenos sutrikimais [44]. Be to, autorius teigia, kad dėl $\omega 3$ riebiųjų rūgščių stokos sutrinka refleksinis atsakas, kuris matomas elektroretinogramose [125]. H. Francès ir bendraautoriai (1995), lyginę $\omega 3$ turtingu ėdalų šertais ir stokojusias šių rūgščių žiurkes, nustatė, kad graužikams sutrinka erdvinis mąstymas, jie lėčiau įsitema informaciją net skatinami ar gąsdinami, taip pat lėčiau randa išėjimą iš labirinto [126]. Be to, tokios žiurkės elgiasi labai stereotipiškai ir mažiau domisi aplinka [125], tačiau, jų gynybinės funkcijos nesusilpnėja.

3.2.5. Mineralinių medžiagų ir vitaminų trūkumo reikšmė augančiam organizmui

Jau 1922 m. gauti pirmieji duomenys, kad suaugusioms žiurkėms, maitintoms vitamino E stokojančiu pašaru sutrinka lytinis ciklas, o užsimezgęs nėštumas rezorbuojasi [127]. Mineralinių medžiagų ir vitaminų stygiaus poveikį organizmui *in utero* plačiai išnagrinėjo L. Venu ir kiti (2004). Tris mėnesius šėrę motinines žiurkes 50 proc. sumažinto mineralinių medžiagų kiekio maistu, autoriai nustatė padidėjusią palikuonių kūno riebalų masę bei kraujo plazmos triacilglicerolių koncentraciją [42]. Žalos organizmui neišvengta ir vitaminų stokos atveju. Ištyrę per nėštumą vitaminų deficitą patyrusių palikuonių kepenis, autoriai rado sumažėjusią antioksidacinių fermentų kiekį bei suintensyvėjusią lipidų peroksidaciją. Mokslininkų nuomone, tokius pokyčius lėmė oksidacinis stresas [43]

Mineralinės medžiagos gali sukelti ir apetito pokyčius. Kai kurie mokslininkai (Nakashima Y., 2011) apetito svyravimus aiškina ne baltymų, kaip minėta anksčiau, o mineralinių medžiagų trūkumu. Jie nustatė, kad žiurkės, kurių maiste trūko cinko, suėdė mažiau pašaro ir todėl jų kraujo plazmoje sumažėjo insulino [128]. Cinko stygius per nėštumą įtakoja ne tik palikuonių apetito svyravimus. I.J. Padmavathi ir kt. (2009) nustatė, kad kraujo plazmoje sumažėjus insulino koncentracijai, cinko trūkumas sukėlė ne tik insulino sekrecijos, bet ir kūno sudėties pokyčius. Autoriai teigia, kad cinko trūkumą patyrę palikuonys iki 6-ojo gyvenimo mėnesio buvo lengvesni už kontrolinius, tačiau vėliau ėmė didėti kūno riebalų kiekis bei mažėti liesos kūno masės. Be to, moteriškos lyties palikuonims nustatyta sumažėjusi insulino sekrecija [129]. Ta pati mokslininkų grupė vertino *in utero* magnio stokos (30 proc. RPN (rekomenduojamos paros normos) ilgalaikį poveikį palikuonių antsvoriui, gliukozės tolerancijai, insulino sekrecijai bei kai kuriems biocheminiams parametrams. Autoriai nustatė, kad magnio (analogiškai kaip ir cinko stokos atveju) stokojusių palikuonių kūno riebalų kiekis padidėjo, o liesa kūno masė, atitinkamai, sumažėjo. Be to, autoriai nustatė insulino bei leptino sekrecijos pokyčių, tačiau gliukozės tolerancijos ir jautrumo insulinui rodikliai išliko normos ribose [130].

Chromo įtaką kūno masei tyrę I.J. Padmavathi su bendraautorais (2010) nustatė, kad tris mėnesius iki nėštumo šėrus motinines žiurkes mažai chromo turinčiu pašaru (45 proc. RPN), abiejų lyčių palikuonims ženkliai padidėja kūno svoris ir riebalų masė (ypač juosmens srityje). Autorių nuomone, tokius kūno masės pokyčius lemia pakitęs riebalų metabolizmas [92].

3.3. Medžiagų apykaitos pokyčių skirtumai tarp lyčių

Laboratorinių tyrimų rezultatai dažnai yra nevienodi skirtingų lyčių palikuonims. Kaip minėta ankstesniuose skyreliuose, moteriškos ir vyriškos lyties palikuonis maitinanti placenta pasižymi skirtingu adaptaciniu potencialu. Jau prieš 20 metų atlikta nemažai tyrimų, kuriuose motinos “badavimas” lemia kitokią poveikį skirtingos lyties palikuonims (patelėms nei patinėliams). Palikuonių badavimas *in utero* sukelia žiurkių energijos apykaitos pasikeitimus. N. Theys su bendraautorais (2009) teigia, kad žiurkių, šertų sumažinto baltymų kiekio dieta, vyriškos lyties palikuonims nustatyti kasos salelių mitochondrijų funkcijų sutrikimai (sumažėjo ATP gamyba) [131]. Kitų autorių studijose taip pat nustatyti skirtingi pokyčiai lytims. Pavyzdžiui, patinai svorio priauga dažniau ir daugiau, be to jiems poodyje ar juosmens srityje kaupiasi riebalai. Tokius pokyčius R.M. Anguita ir bendraautorai (1993) sieja su sumažėjusia trijodtironino koncentracija kraujo plazmoje. Tuo tarpu patelėms taip pat ženkliai kaupiasi riebalai, tačiau sumažėja rudojo riebalinio audinio, svarbaus energijos apykaitai, silpsta viduląsteliniam kvėpavime dalyvaujančių fermentų aktyvumas [132]. Kiti autoriai, pvz.: Jones A.P. su bendraautorais (1992), nurodo kitokias motininio “badavimo” pasekmes lytims. Jie teigia, kad nors vyriškos lyties palikuonys gimsta normalaus svorio, tačiau suaugę jo priauga daugiau dėl jau minėtos hiperfagijos. Tuo tarpu patelės nepersiėda ir jų svoris išlieka normalus [133]. Gali būti, kad vyriškos lyties palikuonių organizmas yra labilesnis, labiau pasiduoda metabolinio streso poveikiui ir greičiau įgyja rezistentiškumą kūno svorį reguliuojantiems hormonams. A. Jones su bendraautorais (1984) tęsė studiją į metodiką įterpdamas peršėrimo elementą. Iškart po atjunkymo metabolinį stresą *in utero* patyrusios žiurkės buvo šertos standartiniu, mažai riebalų ir daug angliavandenių turinčiu ėdalų, ir priaugo daugiau svorio nei kontrolinės. Praėjus keliems mėnesiams (140 d. amžiaus), žiurkės imtos šerti kaloringu, riebalų turtingu pašaru, ir gauti analogiški rezultatai – eksperimentiniu režimu šertos žiurkės svorio priaugo greičiau nei kontrolinės [134].

3.4. Medžiagų apykaitos pokyčių išliekamumas keliose palikuonių kartose

Daugėja tyrimų, patvirtinančių, kad „taupusis fenotipas“ gali būti perduodamas iš kartos į kartą. Tačiau, šią hipotezę patikrinti praktikoje ryžtasi nedaug mokslininkų. Meksikos mokslininkai atliko kelių žiurkių kartų tyrimą, įrodantį, kad net antroje, per nėštumą maistinių medžiagų deficitą patyrusių žiurkių palikuonių, kartoje, stebimi insulino metabolizmo pokyčiai. Patinėjams pasireiškė padidėjęs rezistentiškumas insulinui, tuo tarpu patelės buvo daug jautresnės šiam hormonui. Palyginimui, pirmojoje kartoje maistinių medžiagų *in utero* stokojusių embrionų jautrumas insulinui buvo padidėjęs [33]. Reikia paminėti, kad hiperjautrumas insulinui išsekina kasos ląstelių pajėgumą reguliuoti organizmo medžiagų apykaitą ir vėlesniame gyvenime pasireiškia insulino rezistencija. Įdomu ir tai, kad vyriškos lyties žiurkėms rezistencija pasireiškia anksčiau, o patelėms senyvo amžiaus [135, 136].

Matyti, kad įvairios studijos randa skirtingas motinos dietos nevisavertiškumo pasekmes palikuonims. Per nėštumą badavę palikuonys kur kas dažniau sveria daugiau už kontrolinius, pakinta jų riebalų struktūra, stebimi vienokie ar kitokie hormonų lygio kraujyje pokyčiai. Maistinių medžiagų nepakankamumas laktacijos metu paprastai nebūna susijęs su svorio reguliacijos problemomis suaugus. Pažymėtina, kad beveik visos studijos nustatė organizmo insulino apykaitos sutrikimus. Matyti, kad prenataliai „badavę“ palikuonys auga turėdami sveikatos problemų, kurios gali turėti pasekmių tolesnei raidai ir gerovei.

Nors literatūroje nestokojama duomenų apie įvairių toksinių medžiagų įtaką palikuonių organizmui bei pokyčių išliekamumą tolimesnėse palikuonių kartose, tačiau mokslinių studijų apie būtent nevisavertės mitybos lemtų medžiagų apykaitos pokyčių perdavimą kitoms palikuonių kartoms labai trūksta. E. Zambrano ir bendraautorė (2005) tyrimas yra unikalus tuo, kad tai vienas iš vos kelių eksperimentų ieškojusių pokyčių pagal „placią programą“: svorio, medžiagų apykaitos ar elgsenos skirtumų tarp eksperimentinių grupių ne tik pirmojoje, tačiau ir antrojoje maisto medžiagų ribojimą patyrusių žiurkių palikuonių kartoje. Be to, ši mokslininkų grupė atskyrė poveikį organizmui pagal kritinius augimo laikotarpius: nėštumo arba laktacijos. Vis dėl to, pagrįstų bandymų gilintis į pakitusio požymio išliekamumą kitose kartose atsirado dar praeitame šimtmetyje. R. Stewart su bendraautoriais (1975) tyrė žiurkių, patyrusių baltymų deficitą iki nėštumo ir per nėštumą net iki dvilykotos palikuonių kartos. Nustatytas ne tik didesnis mažo gimimo svorio palikuonių paplitimas, tačiau ir kūno svorio, ilgio, lytinės brandos parametrų atsilikimas lyginant su visavertės mitybos sąlygomis augintomis žiurkėmis. Taip pat tyrimu nustatyti atskirų organų masės pokyčiai lyginant su kontrolinėmis žiurkėmis. Baltymų stokojusių žiurkių palikuonių smegenys, hipofizė, skydliaukė, antinksčiai, sėklidės, užkrūčio liauka ir akys buvo didesnės nei kontrolinių, kasa – vienodo dydžio, o inkstai mažesni nei

tinkamai besimaitinusių motinų palikuonių [37]. Paminėtina, kad pastarajame tyrime porinti maisto ribotos patelės ir patinai, todėl nėra visiškai aiškus išskirtinai patelės indėlis į lėtinių neinfekcinių ligų patogenezę suaugusiam palikuoniui. Be to, maistinių medžiagų ribojimas tęsiasi ir postnataliai.

Įvairiose studijose stebėti kūno svorio skirtumai pirmojoje ir antrojoje žiurkių kartoje, tarp visaverčiai besimaitinusių ir puse rekomenduojamos normos ar netgi daugiau sumažinto baltymų kiekio dieta maitintų žiurkių palikuonių. Pavyzdžiui, E. Zambrano ir kt. (2005) tyrė 4 žiurkių grupes: kontrolines, per nėštumą ribotas baltymų (50 proc.), laktacijos metu ribotas baltymų bei nėštumo ir laktacijos metų ribotas baltymų žiurkes [33]; D. Benyshek ir kt. (2004) tyrė kontrolines ir baltymų ribotas žiurkes (60 proc.), tačiau po atjunkymo jų maisto riboti palikuoniai maitinti normalia arba riebalų turtinga dieta [35]. 70 proc. baltymų ribotas ir kontrolines žiurkes tyrinėjo A. Pinheiro (2008) ir kt. [34], o D. Benyshek su bendraautoriais (2006) atliko tyrimą, kuriame baltymų kiekį motininėms žiurkėms ribojo 60 proc. o jų palikuonis lygino su normaliai šertų žiurkių palikuonimis net iki trečios palikuonių kartos [36].

Pirmosios kartos palikuonių medžiagų apykaitos pokyčiai. Anot E. Zambrano ir kt. (2005) lyginant su kontrolinėmis palikuonėmis nėštumo ir laktacijos metu bei tik laktacijos metu badavusių žiurkių palikuonės svėrė apie 20 proc. mažiau įvairiais gyvenimo laikotarpiais: 21, 100, 270-ąją gyvenimo dieną. Be to, laktacijos metu maistinių medžiagų stokojusios palikuonės svėrė mažiau už kitas eksperimentines grupes (21, 270 ir 365 gyvenimo dieną). D. Benyshek ir kt. (2004) nustatė, kad baltymų nepakankamumą *in utero* patyrusi palikuonių grupė gimė mažesnio svorio nei kontroliniai palikuonys. Įdomu tai, kad kitoje metodiškai panašioje studijoje skirtumų tarp baltymų sumažintu pašaru šertų ir normaliai maitintų žiurkių palikuonų gimimo svorių autoriai nerado. 70-ąją gyvenimo dieną svorio skirtumų tarp grupių nebuvo, tačiau abi *in utero* baltymų stoką patyrusios palikuonių grupės pasižymėjo sumažėjusiu jautrumu insulinui nepriklausomai nuo postnatalinės dietos. Vėlesnis, D. Benyshek ir bendraautorių (2006) tyrimas rodo panašius rezultatus – motininio mitybos ribojimo pasekmė - sumažėjusi insulino sekrecija.

Mokslininkai sekė ir maisto suvartojimo skirtumus tarp eksperimentinių grupių. Matuotas skirtumas tarp patiekto ir likusio pašaro kiekio bei dalintas iš žiurkių, gyvenusių narvelyje skaičiaus. Paminėtina, kad nėštumo ir žindymo metu bei tik žindymo metu badavusių žiurkių palikuonės patelės suėdė apie 15 proc. mažiau ėdalo nei kontrolinės. Vis dėl to, paskaičiavus ėdalo kiekį, tenkantį kūno svoriui, paaiškėjo, kad maisto suvartojimo skirtumų tarp grupių nėra [33].

A. Pinheiro su bendraautoriais (2008) teigia, kad pirmojoje metabolinį stresą patyrusių palikuonių kartoje nustatyti padidėję kūno svorio ir riebalų masės parametrai, be to, šie palikuonys augo greičiau už kontrolinius. Taip pat reikšmingas baltymų trūkumas *in utero* turi

įtakos gliukozės apykaitai (nežymiai padidėjusi glikemija), kas gali lemti rezistentiškumo insulinui atsiradimą antrojoje palikuonių kartoje.

Antrosios kartos palikuonių medžiagų apykaitos pokyčiai. D. Benyshek ir bendraautorai (2004) nustatė, kad metabolinį stresą patyrusių žiurkių palikuonių, maitintų riebalų turtingu pašaru palikuonys gimė mažesnio svorio už kontrolinius antros kartos palikuonis. E. Zambrano ir kt. (2005) tyrimas prideda, kad tik per nėštumą badavusių žiurkių moteriškos lyties palikuonių gimimo svoris buvo didesnis už badavusių nėštumo ir laktacijos metu. Analogiška situacija stebima ir tolesniais tyrimo mėnesiais – mitybos sutrikdymas išskirtinai nėštumo laikotarpiu lemia didesnę nei pirmos kartos palikuonių svorį 21, 100 ir 270-ąją palikuonių gyvenimo dieną. Tuo tarpu, skirtumų tarp antros kartos vyriškos lyties palikuonių gimimo svorio nerandama. 100-ąją gyvenimo dieną laktacijos ar per nėštumą metabolinį stresą patyrę palikuonys svėrė mažiau už kontrolinius palikuonis. Per nėštumą badavusių žiurkių palikuonys svėrė daugiau už tik laktacijos metu maisto stokojusių patelių palikuonis [33]. D. Benyshek ir bendraautorių (2004) tyrimas prideda, kad jautrumas insulinui buvo sumažėjęs visose metabolinį stresą patyrusių motininių žiurkių antros kartos palikuonių grupėse [35]. Vėlesnis, D. Benyshek ir bendraautorių (2006) tyrimas rodo panašius rezultatus – insulino rezistenciją antrojoje palikuonių kartoje [36].

A. Pinheiro su bendraautoriais (2008) teigia, kad antros kartos baltymų trūkumą patyrusių žiurkių palikuonys turi padidėjusią kūno masę (patinėliai), be to abiem lytims stebėtas padidėjęs kūno riebalų kiekis ir intensyvesni nei pirmojoje kartoje medžiagų apykaitos pokyčiai. *In utero* metabolinį stresą patyrusiems palikuonims nustatyta hiperleptinemija, hiperglikemija ir hiperinsulinemija, kas leidžia numanyti rezistentiškumą insulinui ir organizmo kūno svorio reguliacijos pokyčius.

Trečiosios kartos palikuonių medžiagų apykaitos pokyčiai. Trečiosios kartos palikuonims pakinta gliukozės apykaita [36]. Metabolinį stresą patyrusioms patelėms stebimas didesnis gliukozės kiekis kraujyje nei kontrolinėms patelėms. Tuo tarpu patinams nustatyta sumažėjusi gliukozės koncentracija kraujyje lyginant su kontrolinėmis žiurkėmis. Vis dėl to, atlikus gliukozės tolerancijos mėginį (30 ir 120 minučių) paaiškėjo, kad nors ir trečios kartos žiurkių insulino-gliukozės indeksas yra didesnis nei kontrolės, tačiau šis rodiklis didžiausias antrojoje baltymų stoką *in utero* patyrusių palikuonių kartoje. Vadinasi, trečiojoje kartoje medžiagų apykaitos pokyčiai ima normalizuotis.

Vis dėl to, labai stokojama tyrimų su eksperimentiniais gyvūnais, aiškinančių mitybos iki nėštumo įtaką palikuonių sveikatai bei kitoms palikuonių kartoms. Mokslo pasaulyje analizuojant šį klausimą remiamasi teorinėmis apžvalgomis ir retrospektyviniais žmonių tyrimais, tačiau tyrimų su eksperimentiniais gyvūnais nėra atlikta.

3.5. *In utero* mitybos ribojimo sukelti palikuonių elgsenos pokyčiai

Literatūroje aprašomi ir metabolinį stresą patyrusių žiurkių palikuonių smegenų fiziologijos tyrimai. Nustatyta, kad maisto stygius (50 proc.) per nėštumą neigiamai veikia pagumburį ir sukelia vyriškos lyties (moteriškos lyties palikuonėms patologinių pokyčių nenustatyta) palikuonių erdvinio mąstymo bei atminties sutrikimus [137], o vitamino B nepakankamumas taip pat gali sukelti palikuonių elgsenos ir orientavimosi aplinkoje pokyčius [138]. Tuo tarpu, Meksikos mokslininkai, atlikę prenatalinį baltymų stygių patyrusių žiurkių palikuonių miego tyrimus, nustatė, kad graužikams sutrumpėja gilaus miego bei greitų akių judesių miego (REM) stadijos, o išskirtiniais atvejais REM stadija išvis išnyksta [139]. Net ir jauniems baltymų stygių *in utero* patyrusiems palikuonims stebimi elgsenos pokyčiai iki pat dvyliktos palikuonių kartos. Nustatyti padidėjusio dirglumo, jautrumo aplinkos garsams pokyčiai, aplinkos pažinimo sutrikimai bei trumpalaikiai galvos drebuliai. Tokiems palikuonims suaugus stebėti elgsenos ir mokymosi sunkumai: sunku pritraukti ir išlaikyti tokių žiurkių dėmesį. Tačiau itin stresinėse situacijose gyvūnai reagavo normaliai: elgėsi aktyviai, stengėsi ištrūkti iš pavojingų situacijų, garsiai cypė. Analizuojant baltymų stygių iki nėštumo ir per nėštumą patyrusių palikuonis galima pasakyti, kad mitybos ribojimą patyrusių žiurkių palikuonys buvo mažesni už kontrolinius, netvarkingi (nesirūpina kailiuku, nesiprausia), dažnai pernelyg jaudrūs [37].

3.6. Medžiagų apykaitos pokyčiai dėl mitybos ribojimo ir organizmo senėjimas

Įdomūs, tačiau reti, eksperimentai, kuriuose aprašoma metabolinį stresą *in utero* patyrusių gyvūnų sveikatos būklė senstant. Anot L. Bellinger su bendraautorais (2006) prenatalinis augimo programavimas turi įtakos brandaus amžiaus žiurkių aktyvumui: judėjimo, pasaulio pažinimo ir maitinimosi funkcijoms. Minėti mokslininkai teigia, kad 9 mėnesių amžiaus žiurkių grupių svoriai nesiskiria, tuo tarpu 18 mėnesių amžiaus patinams, patyrusiems baltymų deficitą viso arba viduriniojo nėštumo laikotarpiu nustatyti kūno riebalų struktūros pakitimai. Jie sukauptė daugiau riebalinio audinio juosmens srityje bei mažiau poodyje. Be to, eksperimentinių grupių gyvūnai turėjo statistiškai reikšmingai mažiau poodinių riebalų nei kontroliniai. Vadinasi, senėjimo proceso metu *in utero* maisto ribojimą patyrusių palikuonių riebalų struktūra ženkliai keičiasi ir iš poodžio yra perskirstoma į juosmens sritį. Deja, tyrime neužsimenama apie poodinių riebalų pasiskirstymo tolygumą. Įdomu ir tai, kad patelės sukauptė daugiau riebalų juosmens srityje už patinėlius [140]. Be to, yra nustatyta, kad tokių žiurkių palikuonys pasižymi

mažesniu išgyvenamumu už kontrolinius gyvūnus vyresniame amžiuje. Mokslininkai skirtingą eksperimentinių gyvūnų gyvenimo trukmę aiškina *in utero* sutrikusia ląstelių proliferacija [141]. Vadinasi, motinos mityba per nėštumą ar netgi iki nėštumo, gali būti veiksniumi, galinčiu įtakoti organizmo fiziologinius pokyčius, kurie vėliau, predisponuojant tam tikroms gyvensenos, aplinkos, fizinio aktyvumo sąlygoms gali tapti lemiančiais veiksniais įvairių lėtinių ligų raidai [24].

4. APIBENDRINIMAS

Mitybos ribojimas per nėštumą ir iki nėštumo gali turėti įvairių pasekmių individo sveikatai. Literatūroje aprašoma daug badavimo per nėštumą pasekmių embriono raidai bei lėtinių ligų išsivystymo rizikai suaugus. Matyti, kad įvairių medžiagų apykaitos sutrikimų tikimybė yra kitokia skirtingais kritiniais augimo etapais ir yra ryškiausia kraštutinėmis sąlygomis: maitinantis nevisaverčiai arba atvirkščiai – per gausiai, atsigriebiant svorį vaikystėje arba atvirkščiai – kai svorio prieaugis nepakankamas. Ne visos studijos stebėjusios maisto medžiagų ribojimo motinai pasekmes kūdikiui gauna tapačius rezultatus: mažo gimimo svorio naujagimių gimimą, atsigriebimo augimo pasireiškimą, atokiausias pasekmes: hormoninius organizmo pokyčius, galinčius lemti lėtines neinfekcines ligas: diabetą, kardiovaskulines ligas, netgi elgsenos sutrikimus. Dalis studijų papildoma viena kitos išvada, tačiau kitos gauna ir prieštarungus rezultatus. Atliktas mokslines studijas reikia vertinti kritiškai, juolab, kad daugeliu aspektų *in utero* augimo sulėtėjimo pasekmės nepakankamai ištirtos. Vadinasi, epigenetiniai pokyčiai – nevienareikšmiai ir atsivoriui bei lėtinėms ligoms išsivystyti reikia papildomų sąlygų: pasyvaus gyvenimo būdo, neadekvačios, nevisavertės mitybos. Paminėtinas ir kitas epigenetinių pokyčių atsiradimo variantas: motinos energinis išsekimas dar iki apvaisinimo - netinkamos dietos lemtas metabolinio kapitalo sumažėjimas, neužtikrinantis adekvačių maistinių medžiagų atsargų embriono augimui ir raidai. Informacijos apie mitybos ribojimo iki nėštumo pasekmes organizmui labai trūksta, ypač perspektyvių tyrimų su laboratoriniais gyvūnais. Juolab, kad dažniausiai remiamasi hipotetinėmis teorijomis bei retrospektyviniais besivystančių šalių populiacijų tyrimais. Be to, šis klausimas beveik nenagrinėtas organizmo senėjimo kontekste. Pažymėtina ir tai, kad tėra vos keletas studijų aprašančių *in utero* organizmo mitybos ribojimo pasekmių išliekamumą keliose palikuonių kartose.

Mitybos nevisavertiškumo iki nėštumo ir per nėštumą lemti epigenetiniai pokyčiai, greitosios ir atokiosios jų pasekmės bei išliekamumas kelių kartų palikuonims - viso pasaulio mokslininkų tyrimo objektas, siekiant nustatyti galimas pasaulinės nutukimo epidemijos priežastis ir profilaktikos priemones kovojant su ja.

5. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas: Įvertinti mitybos iki nėštumo ir per nėštumą įtaką žiurkių palikuonių fizinei būklei.

Uždaviniai:

1. Nustatyti žiurkių palikuonių svorio kitimo tendencijas ir palyginti tarp pirmos ir antros palikuonių kartų.
2. Įvertinti morfologinius pirmos ir antros kartos palikuonių išvaizdos ir elgsenos pokyčius.

6. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

Trumpas žiurkės apibūdinimas

Laboratorinė *Wistar* linijos žiurkė gyvena 1,5-3 metus, patelės vaisingos būna 12-18 mėnesių, rujoja kas 4-5 dienos, jų nėštumas trunka apie 3 savaites. Žiurkės gali atsivesti 6-12 jauniklių vadoje. Palikuonys, atsižvelgiant į lytį atskiriami po 1-1,5 mėnesio. Vados vaikai lytiškai subręsta 2 mėnesių, o veisimui tinka nuo 3 mėnesių. Žiurkės yra kaprofagai, neturi tulžies pūslės ir prakaito liaukų. Be to, šiems graužikams būdinga labai silpnai išreikšta kasa.

Medžiaga ir metodai

Tyrimas pradėtas 2009 metais ir tęsiamas iki šiol (2012 m). Tyrimui naudota 12 *Wistar* linijos motininių žiurkių patelių (10 - 12 savaičių amžiaus, sveriančių 220 ± 20 g) ir 121 palikuonis. Patelės laikomos Biochemijos Instituto vivariumo patalpose, specializuotoje aplinkoje (šviesa įjungta nuo 08:00 iki 16:00, temperatūra 20 - 24 laipsniai šilumos, santykinė oro drėgmė siekia 60 proc).



Visos patelės laikytos specialiai pritaikytuose narvuose, po vieną narvelyje (užtikrinant ne mažesnę kaip 350 cm^2 plotą) bei šertos eksperimentinių gyvūnėlių mitybos poreikius atitinkančiu pašaru.

Visos procedūros buvo suderintos su Valstybine maisto ir veterinarijos inspekcija bei gautas leidimas atlikti eksperimentus su gyvūnais (Nr. 0211).

Motininių žiurkių karta

Žiurkės maitintos maistu (vienkartinė vienos žiurkės paros maisto dozė 20 gramų per parą), kurio sudėtyje yra sveikų grūdų, sėklų, džiovintų vaisių ir daržovių, pūstų kviečių, žirnių bei kukurūzų dribsnių, žemės riešutų, ekstrudotų krocketų (kukurūzų, kviečių, daržovių), 100 gramų pašaro maistinė vertė: 12,3 proc. baltymų, 4,8 proc. riebalų, 5,2 proc. ląstelienos, 0,43 proc. kalcio, 0,31 proc. fosforo, 5250 TV vitamino A, 590 TV vitamino D3, 50 mg Vitamino E.

Žiurkių maitinimas vyko nustatytomis eksperimento sąlygomis:

1. **I eksperimentinės grupės (EG) (N=5)** žiurkės buvo 50 proc. ribotos maisto 1 mėnesį iki nėštumo ir per visą nėštumo laikotarpį (žiurkės nėštumas trunka apie 21 dieną), t.y. gavo pusę nustatytos maisto normos (10 g/p.).
2. **II eksperimentinės grupės (EG) (N=5)** žiurkės buvo 50 proc. ribotos maisto 1 mėnesį iki nėštumo, t.y. gavo pusę mūsų nustatytos maisto normos (10 g/p.), o per nėštumą buvo maitintos taip, kaip ir kontrolinės (20 g/p.).
3. **Kontrolinė grupė (N=2)** – buvo maitinama *ad libitum* (apie 20 g/p).

Toliau sąvokos, apibūdinančios eksperimentinės grupės mitybos pobūdį bus naudojamos pramaišiu, nes reiškia tą patį. Iki nėštumo ir per nėštumą metabolinį stresą patyrusių žiurkių palikuonys bus vadinami I eksperimentine grupe (**I EG**), o tik iki nėštumo mitybos ribojimą patyrusių žiurkių palikuonys – II eksperimentine grupe (**II EG**).

Pašaras buvo pateikiamas *petri* lėkštelėse. Visoms žiurkėms vanduo buvo prieinamas *ad libitum*. Praėjus mėnesiui po nustatytų eksperimentinių maitinimo sąlygų taikymo, patelės nakčiai buvo paliekamos kartu su patiniais.

Nėštumas žiurkei nustatomas rujos metu, kai gimdos gleivinė yra estruso stadijos. Kitos dienos rytą mikroskopu (naudojant 40 kartų padidinimą) buvo analizuoti makšties tepinėliai, t.y. nustatyta estralinio ciklo estruso stadija ir ieškota spermatozoidų. Estruso stadijai ir spermatozoidams aptikti kiekviena žiurkė buvo tikrinta 3 kartus per savaitę. Diena, kai patelės makšties tepinėlyje aptikta spermatozoidų, laikyta 0, kita diena – pirmoji nėštumo diena. Po gimdymo, iki nėštumo ir per nėštumą badavusios žiurkės pradėtos šerti normaliai (20g/p).



Pirmoji palikuonių karta

Po 6 savaičių palikuonys atskirti pagal lytį, patalpinti į atskirus narvus (po 2-3 gyvūnus narvelyje, pagal V. Šimkevičienę ir O. Rukšėną (2001)), sverti vieną kartą per savaitę [112].

Visi palikuonys sverti tą pačią dieną (pirmadienį) kalibruotomis svarstyklėmis. Iš viso pirmosios kartos palikuonys sverti 20 savaičių.

Palikuonys stebėti norint nustatyti išskirtinius morfologinius požymius, vertinta metabolinį stresą patyrusių ir nepatyrusių žiurkių palikuonių išvaizda, elgsena ir kiti metabolinio streso požymiai: domėjimasis aplinka, bailumas, agresyvumas, nervingumas. Aptikti išskirtiniai

požymiai aprašyti, o vizualūs metabolinio streso patyrusių ir nepatyrusių žiurkių skirtumai (kailio, akių, uodegos būklė) fotografuoti.

Motininės patelės kaip ir 20 savaičių sverti vyriškos lyties palikuonys užmigdyti naudojant ketaminą. Tuo tarpu, pirmos kartos patelės porintos su sveikais (eksperimente nedalyvavusiais) patiniais. Joms taikyta ta pati apvaisinimo procedūra kaip ir motininėms patelėms. Žiurkės, kurios neapsivaisino tolesniame tyrime nenaudotos.

Dauguma žiurkių gimė normaliai, palikuonys gimė spontaniškai, buvo žindyti motinų. Viena iš II EG žiurkių nugaišo gimdydama, todėl kartu žuvo ir 5 palikuonys.

Antroji palikuonių karta

Po gimdymo, žiurkės kartu su palikuonimis buvo laikytos 1,5 mėn, vėliau užmigdytos naudojant ketaminą. Nuo 1,5 mėn. palikuonys sverti reguliariai (kartą per savaitę), tą pačią dieną, tomis pačiomis svarstyklėmis (iš viso 20 savaičių).

Taip pat stebėta, filmuota bei fotografuota metabolinį stresą patyrusių ir nepatyrusių žiurkių palikuonių elgsena (domėjimasis aplinka, bailumas, agresyvumas, nervingumas), aprašyti bei fotografuoti vizualūs kailio, akių, uodegos pokyčiai.

Statistinė analizė

Sudaryti svorio kitimo grafikai, sekti svorio pokyčiai. Statistinei reikšmingumo analizei taikyta vienfaktorinė dispersinė analizė, naudojant LSD post-hoc kriterijų (kadangi jis besirenkamas dažniausiai tokio tipo tyrimuose) ir Pearson chi kvadratas bei tikslusis Fišerio testas. Skirtumas laikytas statistiškai reikšmingu, kai $p < 0,05$.

7. REZULTATAI

7.1. Pirmos kartos palikuonys

7.1.1. Nėštumo išeitys

1 lentelė. Pirmos kartos žiurkių palikuonių išgyvenamumas ir pasiskirstymas pagal lytį

Žiurkių grupė	Apvaisinimo sėkmė (+/-)	Gimusių palikuonių skaičius	Neišgyvenusių palikuonių skaičius	Išgyvenusių palikuonių skaičius		
				Patinai	Patelės	Viso
Pirmoji eksperimentinė grupė						
Nr. 1	+/-					
Nr. 2	+/-					
Nr. 3	+	6	2		4	4
Nr. 4	+	5	5			
Nr. 5	+	6		3	3	6
Nr. 6	-					
Viso	50 proc.	17	7	3	7	10 (59 proc.)
Antroji eksperimentinė grupė						
Nr. 1	+	4	4			
Nr. 2	+/-					
Nr. 3	+	10	2	5	3	8
Nr. 4	+	9	5	3	1	4
Nr. 5	+/-					
Nr. 6	+/-					
Viso	50 proc.	23	11	8	4	12 (52 proc.)
Kontrolinė grupė						
Nr. 1	+	9	5	2	2	4
Nr. 2	+	10	1	6	3	9
Viso	100 proc.	19	6	8	5	13 (68 proc.)

+/- makštyje rasta spermatozoidų, tačiau patelė nepastėjo.

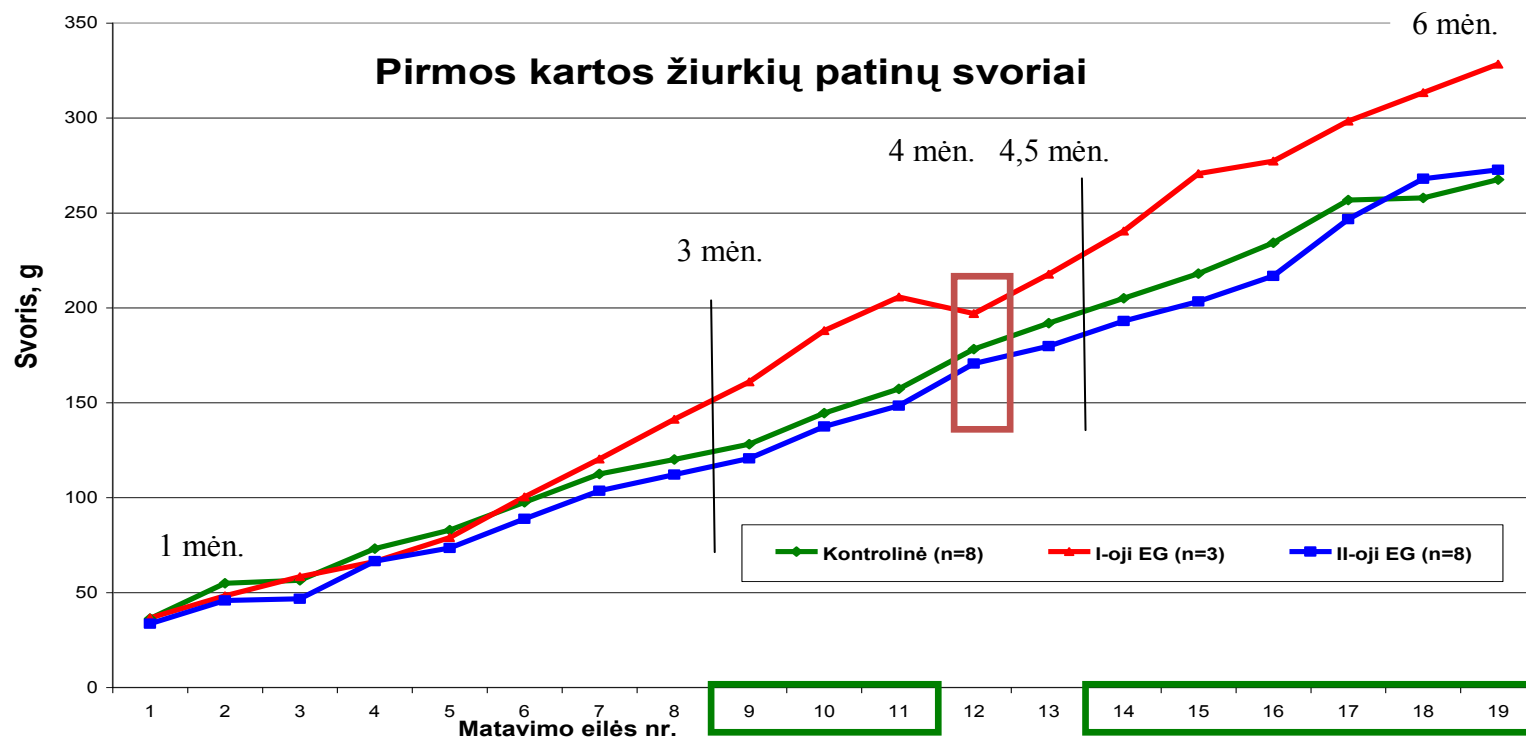
Pirmosios eksperimentinės grupės patelės poravosi nenoriai. Tik pusė patelių buvo sėkmingai apvaisintos ir pastėjo (3 iš 6). Priešingai II EG žiurkėms, iki nėštumo ir per nėštumą metabolinį stresą patyrusios patelės susilaukė negausių vadų (N=6, N=5, N=6). Tik vienos

žiurkės palikuonys išgyveno visi (6 iš 6). Kitų dviejų žiurkių vadose neišgyveno 2 (30 proc.) ir 5 palikuonys (100 proc.). Nustatyta, kad šioje grupėje dažniau susilaukta patelių (3 patinėliai ir 7 patelės). Bendras vados išgyvenamumas šioje eksperimentinėje grupėje siekė 59 proc.

Antroje eksperimentinėje grupėje taip pat kaip ir kitoje metabolinį stresą patyrusių žiurkių palikuonių grupėje patelės poravosi nenoriai. Tik pusė patelių buvo sėkmingai apvaisintos ir pastojo (3 iš 6). Vienos patelės vada neišgyveno – visi palikuonys buvo suėsti. Kitos dvi patelės susilaukė gausių vadų: 10 ir 9 palikuonių. Šiose vadose neišgyveno 2 ir 5 palikuonys (20 ir 56 proc. atitinkamai). Bendras vados išgyvenamumas šioje eksperimentinėje grupėje siekė 52 proc. Palikuonių lyties pasiskirstymas panašus į kontrolinės grupės: susilaukta 8 patinėlių ir du kartus mažiau – 4 patelių.

Matyti, kad kontrolinėje žiurkių grupėje apvaisinimas vyko sklandžiai: abi patelės pastojo sėkmingai. Motininės žiurkės gimdė sklandžiai ir susilaukė didelių palikuonių vadų: 9 ir 10. Vis dėl to, 6 palikuonys (32 proc.) neišgyveno. Kontrolinėje grupėje susilaukta daugiau patinų nei patelių: 8 ir 5 atitinkamai. Bendras vados išgyvenamumas šioje grupėje siekė 68 proc.

7.1.2. Svorio kitimas

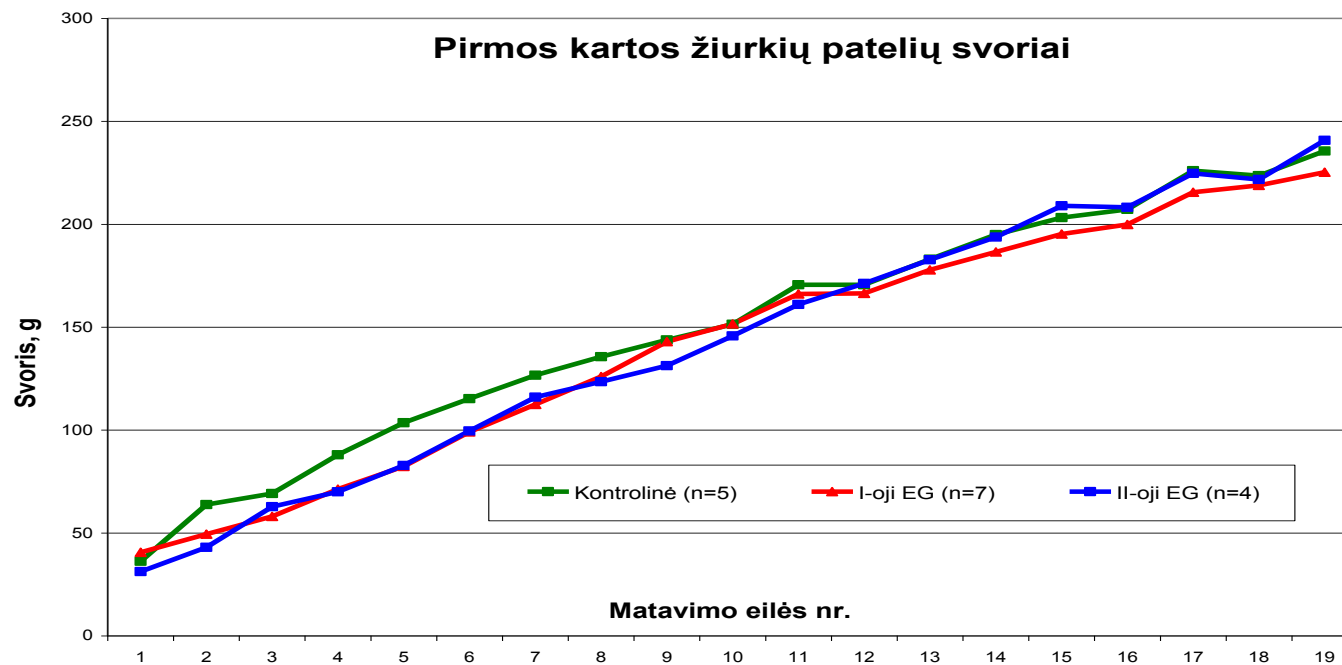


1 pav. Pirmos kartos žiurkių palikuonių (patinų) svorio dinamika

- pažymimi trumpi laiko intervalai, kurių metu statistiškai reikšmingo svorio skirtumo tarp grupių nerasta.
- statistiškai reikšmingas skirtumas tarp I ir kontrolinės grupių.

Pirmos kartos palikuonys pradėti sverti po atjunkymo, apie 1-1,5 mėnesio amžiaus. Matyti, kad iki 3 gyvenimo mėnesio palikuonys augo tapačiai ir nė viena grupė nesiskyrė nuo kitos savo svoriu ($p > 0,05$). II EG palikuonys nesiskyrė nuo kontrolinių per visą tyrimo laikotarpį ($p > 0,05$). Tuo tarpu, I EG palikuonys svėrė statistiškai reikšmingai daugiau už II EG ir kontrolinę žiurkių grupes 3-4 ir 4,5-6 gyvenimo mėnesiais ($p < 0,05$). 4 mėn. amžiaus patinai vieną matavimo savaitę nesiskyrė tarpusavyje (12 savaitė). 13 matavimo savaitę I EG svoris supanašėjo su kontroline grupe, tačiau

statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo II EG žiurkių. Nuo 14 matavimo savaitės (4,5 gyvenimo mėnuo) iki pat tyrimo pabaigos I EG palikuonių svoris buvo statistiškai reikšmingai didesnis už kontrolinių ir II EG žiurkių svorį.



2 pav. Pirmos kartos žiurkių palikuonių (patelių) svorio dinamika

Per visą tyrimo laikotarpį skirtingų eksperimentinių žiurkių grupių moteriškos lyties palikuonių svoris tarpusavyje nesiskyrė ($p > 0,05$).

7.2. Antros kartos palikuonys

7.2.1. Nėštumo išeitys

2 lentelė. Antros kartos žiurkių palikuonių išgyvenamumas ir pasiskirstymas pagal lytį

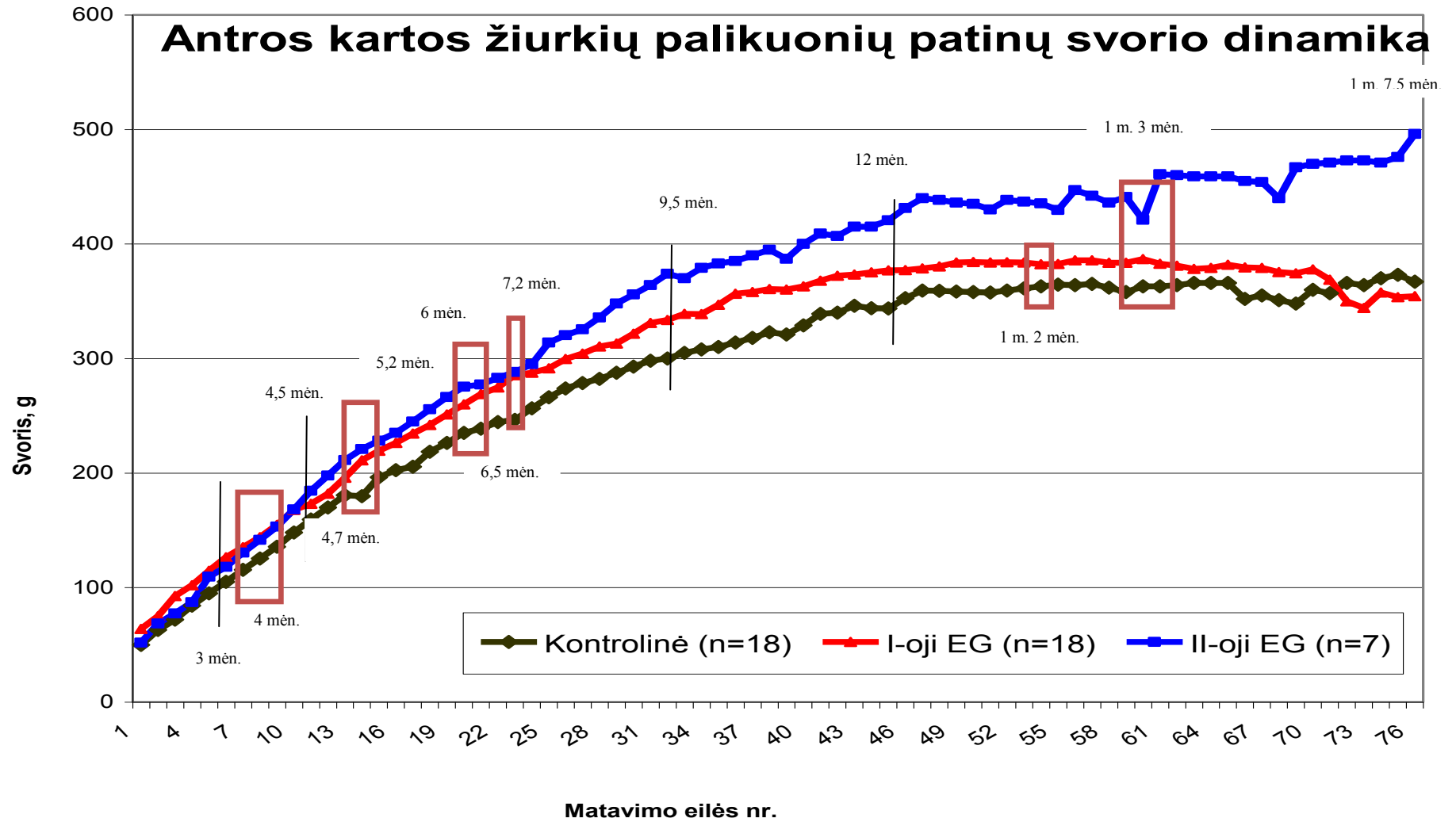
Žiurkių grupė	Apvaisinimo sėkmė (+/-)	Gimusių palikuonių skaičius	Neišgyvenusių palikuonių skaičius	Išgyvenusių palikuonių skaičius		
				Patinai	Patelės	Viso
I-oji eksperimentinė grupė						
Nr. 1	+	8		4	4	
Nr. 2	+	6		4	2	
Nr. 3	+	9		4	5	
Nr. 4	+	3			3	
Nr. 5	+	5		4	1	
Nr. 6	+	5		2	3	
Nr. 7	-					
Viso	86 proc.	36		18	18	36 (100 proc.)
II-oji eksperimentinė grupė						
Nr. 1	+	13	5	2	6	8
Nr. 2	+	6		2	4	6
Nr. 3	+	3		3		
Nr. 4	+	-	5	Nugaišo gimdydama		
Viso	100 proc.	22	10	7	10	17 (77 proc.)
Kontrolinė grupė						
Nr. 1	+	5	1	1	3	4
Nr. 2	+	7		4	3	7
Nr. 3	+	11	2	6	3	9
Nr. 4	+	7		3	4	7
Nr. 5	+	6		4	2	6
Viso	100 proc.	36	3	18	15	33 (92 proc.)

I-ojoje EG patelės poravosi sėkmingai. Apvaisinti nepavyko tik 1 iš 7 žiurkių. Palikuonių vados buvo vidutinio arba nedidelio dydžio, bei išgyveno visi palikuonys. Stebimas ir įdomus lyties pasiskirstymas vadoje: patinėliai vadoje gimdavo taip pat dažnai kaip ir patelės. Bendras vados išgyvenamumas buvo labai aukštas ir siekė 100 proc.

II-ojoje EG patelės poravosi sėkmingai. Visos 4 patelės buvo sėkmingai apvaisintos. Vis dėl to, viena patelė nugaišo gimdydama, todėl žuvo 5 jaunikliai. Viena patelė susilaukė itin didelės 13 palikuonių vados, tačiau daugiau nei trečdalis jų neišgyveno (5 iš 13). Patelė, atsivedusi nedidelio dydžio vadą (6), sėkmingai užaugino visus palikuonis. Skirtingai prieš tai minėtiems dėsniumams, matyti, kad šioje grupėje patelės gimsta dažniau už patinėlius (10 patelių ir 7 patinėliai). Bendras vados išgyvenamumas siekė 77 proc.

Matyti, kad kontrolinėje žiurkių grupėje apvaisinimas vyko sklandžiai: visos 5 patelės pastojo sėkmingai. Motininės patelės gimdė sklandžiai ir susilaukė vidutinio dydžio vadų. Vis dėl to, 3 palikuonys (8 proc.) neišgyveno. Kontrolinėje grupėje taip pat kaip ir pirmojoje palikuonių kartoje susilaukta daugiau patinų nei patelių: 18 patinų ir 15 patelių. Bendras palikuonių išgyvenamumas antros kartos palikuonių kontrolinėje grupėje siekė 92 proc.

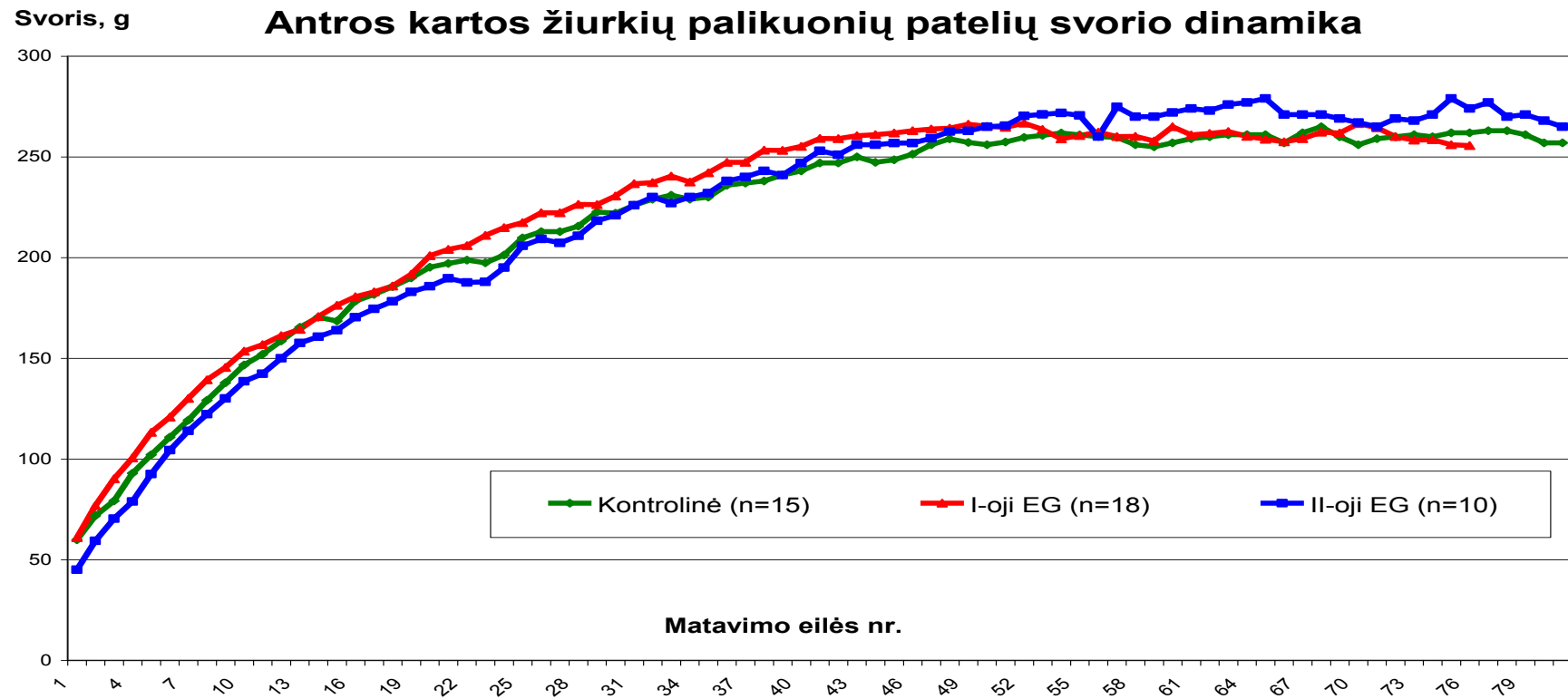
7.2.2. Svorio kitimas



3 pav. Antros kartos žiurkių palikuonių (patinų) svorio dinamika

□ - pažymimi trumpi laiko intervalai, kurių metu statistiškai reikšmingo svorio skirtumo tarp grupių nerasta

Antros kartos palikuonys pradėti sverti po atjunkymo, apie 1-1,5 mėnesio amžiaus. Iki 3 gyvenimo mėnesio I EG svėrė statistiškai reikšmingai daugiau nei kontrolinė žiurkių grupė. I-oji EG buvo sunkesnė už II-ąją 1,3,6 matavimo savaitėmis. Nuo 3 iki 4 gyvenimo mėnesio visos grupės augo tapačiai ir svorio skirtumų nebuvo nustatyta. 4-4,7 gyvenimo mėnesį daugiausiai svėrė II EG žiurkės. 4,7-5,2 gyvenimo mėnesį skirtumų tarp grupių nebuvo nustatyta. 5,2-6 gyvenimo mėnesį daugiausiai svėrė II grupės patinai. 23 matavimo savaitę I ir II grupės statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinės grupės. 7,2-9,5 gyvenimo mėnesį statistiškai reikšmingai sunkiausi išliko II grupės patinai. I grupės svoris statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės. I ir II grupės patinai šiuo laikotarpiu tarpusavyje nesiskyrė. 9,5 – 12 mėn. amžiaus II EG svėrė statistiškai reikšmingai daugiau nei I bei kontrolinė patinų grupės. Nuo vienerių metų amžiaus, kaip ir iki tol, sunkiausi – II EG patinai. Tačiau nuo šio amžiaus II EG palikuonių svoris ėmė statistiškai reikšmingai skirtis ne tik nuo kontrolinės, bet ir nuo I EG palikuonių. Šis skirtumas išlieka iki pat tyrimo pabaigos, išskyrus dvi datas: 1 m. 2 mėn amžiaus II EG žiurkių svoris skyrėsi nuo kontrolinių, tačiau ne nuo I EG žiurkių; 1 m. 3 mėn. amžiaus II EG žiurkės pradėjo dvesti. Prieš mirtį palikuonis netenka net iki pusės kūno svorio, todėl ženkliai paveikiama augimo kreivė (atsiranda staigūs kritimai).



4 pav. Antros kartos žiurkių palikuonių (patelių) svorio dinamika

Per visą tyrimo laikotarpį patelių svoris tarpusavyje nesiskyrė ($p > 0,05$).

7.3. Reprodukcijos parametrų palyginimas tarp pirmos ir antros palikuonių kartų

3 lentelė. Motininių žiurkių apvaisinimo sėkmės palyginimas tarp kartų

Grupė/Karta	I-oji karta (proc.)	II-oji karta (proc.)
I EG	50	86
II EG	50	100
Kontrolinė	100	100

4 lentelė. Žiurkių palikuonių išgyvenamumas tarp kartų

Grupė/Karta	I-oji karta (proc.)	II-oji karta (proc.)
I EG	59	100
II EG	52	77
Kontrolinė	68	92

5 lentelė. Lyties pasiskirstymas tarp metabolinį stresą patyrusių ir nepatyrusių individų

Grupė/Karta	I-oji karta (patinų-patelių santykis)	II-oji karta (patinų-patelių santykis)
Eksperimentinės grupės	1:1	1:1,2
Kontrolinė	1,6:1	1:0,9

3 lentelė rodo, kad pirmojoje motininių žiurkių kartoje eksperimentinės žiurkės poravosi gerokai sunkiau nei antrojoje: I EG žiurkės pastojo 50 proc. (1 karta) ir 86 proc. (2 karta). II EG atotrūkis dar didesnis ir nuo 50 proc. 1-ojoje palikuonių kartoje padidėja iki 100 proc. 2 palikuonių kartoje. Tuo tarpu kontrolinės žiurkės pastojo visais atvejais (100 proc). 4 lentelė analizuoja 1 ir 2 kartos palikuonių išgyvenamumą. Pirmojoje palikuonių kartoje nėra skirtumo tarp skirtingų žiurkių grupių išgyvenamumo ($p > 0,05$; $\chi^2 = 1,14$). Tuo tarpu, antrojoje žiurkių palikuonių kartoje skirtumas tarp žiurkių grupių išgyvenamumo statistiškai reikšmingas ($p > 0,05$; $\chi^2 = 21,64$)*. Lyginti skirtingas kartas tarpusavyje sudėtinga, kadangi stebimas net 68 proc. kontrolinių žiurkių mirtingumas pirmojoje palikuonių kartoje. Manoma, kad taip galėjo atsirasti dėl netinkamų pakratų: jei jie per smulkūs, patekę į jauniklio kvėpavimo takus, gali sukelti mirtį. Be to, skirtumas gali būti priskirtinas mažai pradinei kontrolinės grupės imčiai. Vis dėl to, reikėtų išskirti tendenciją, kad 1-ojoje kartoje žūdavo žymiai daugiau palikuonių nei antrojoje. Be to, mažiausiai individų yra būtent II EG.

*Taikytas tikslusis Fišerio testas, kadangi Pearson χ^2 kvadratui vykdyti buvo daugiau nei keli laukiami dažniai mažesni už 5.

Įdomus ir palikuonių pasiskirstymas pagal lytį (žr. 5 lentelę). Sujungus abi eksperimentines grupes į vieną, matyti, kad pirmojoje kartoje patinų ir patelių gimsta vienodai, tuo tarpu antrojoje eksperimentinių gyvūnėlių kartoje šis santykis penktadaliu didesnis patelių naudai. Kontrolinėje grupėje dažniau gimsta patinėliai: pirmojoje kartoje šis skirtumas yra maždaug 1,5 karto, tačiau antroje palikuonių kartoje šis skirtumas dešimtadaliu mažesnis. Nors reikšmingų skirtumų tarp grupių nenustatyta, tai galėjo lemti per mažos imtys.

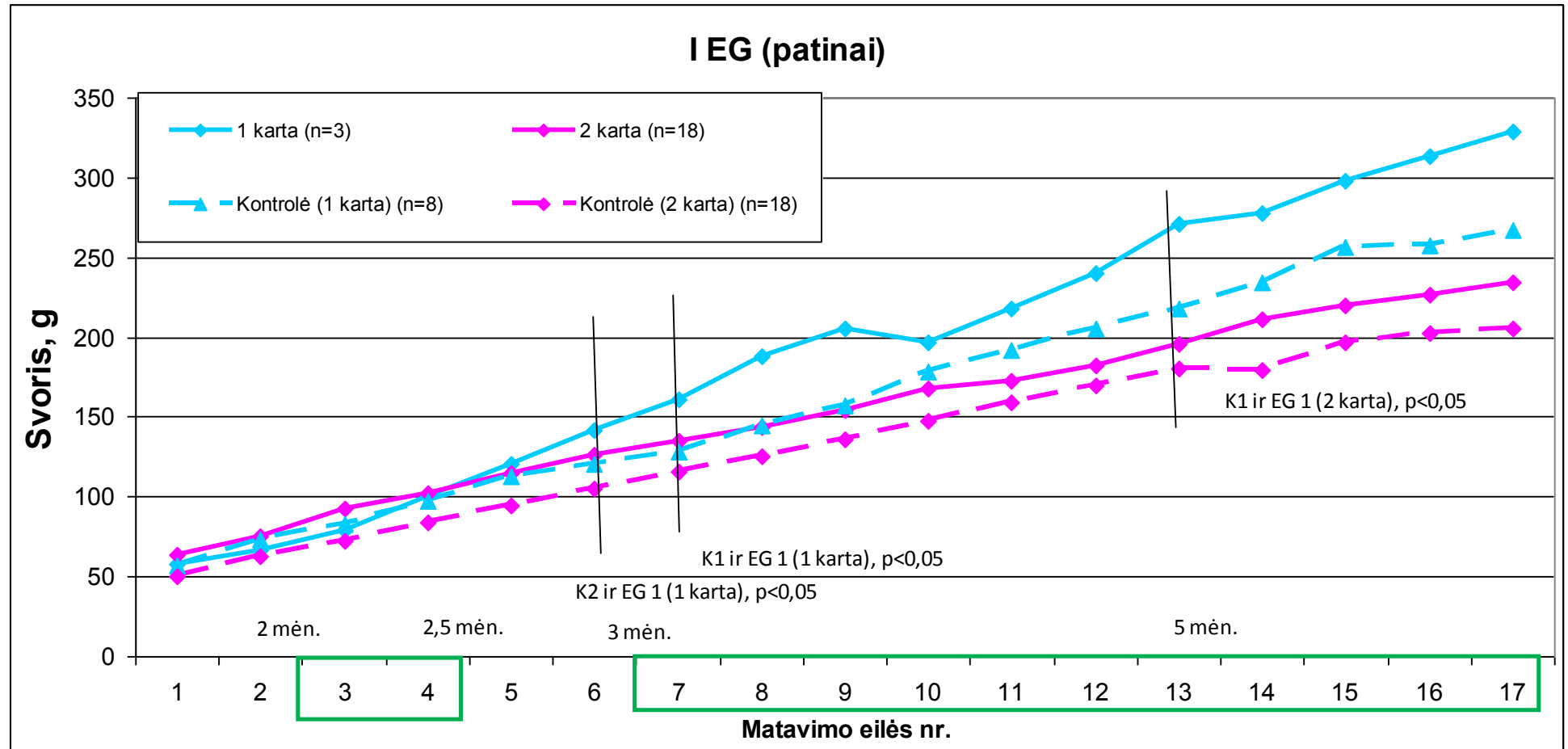
7.4. Svorio palyginimas tarp pirmos ir antros palikuonių kartų

Palyginimas tarp kartų nėra visiškai adekvatus, kadangi pirmos ir antros kartos palikuonys gimė ir augo priešingais sezoniniais laikais. Pirmosios kartos individai gimė žiemą - gruodžio mėnesį, todėl buvo sunkesni (šaltuoju metų sezonu gimę individai yra labiau linkę kaupti maistines medžiagas ir priaugti svorio) nei vasarą – šiltuoju sezonu (liepos mėnuo) gimę gentainiai (6 lentelė). Dėl šių metų laiko lemtų, svyravimų pirmosios kartos palikuonys visose grupėse (I EG, II EG ir kontrolinė grupė) yra sunkesni už antros kartos palikuonis. Vis dėl to, net įskaitant sezoniškumo faktorių, galima išvelgti tam tikras svorio pokyčių tendencijas tarp skirtingų individų kartų.

6 lentelė. Pirmos ir antros kartų palikuonių gimimo ir augimo sezoninis planas iki 6 mėnesių amžiaus

Sezonas Metų mėnuo/ Palikuonių karta	Žiema			Pavasaris			Vasara			Ruduo			Žiema
	Gruodis	Sausis	Vasaris	Kovas	Balandis	Gegužė	Birželis	Liepa	Rugpjūtis	Rugsėjis	Spalis	Lapkritis	Gruodis
1 karta	Gimė	Pradėta sverti					Baigta sverti						
2 karta								Gimė	Pradėta sverti				Svėrimas testas toliau

I-oji eksperimentinė grupė

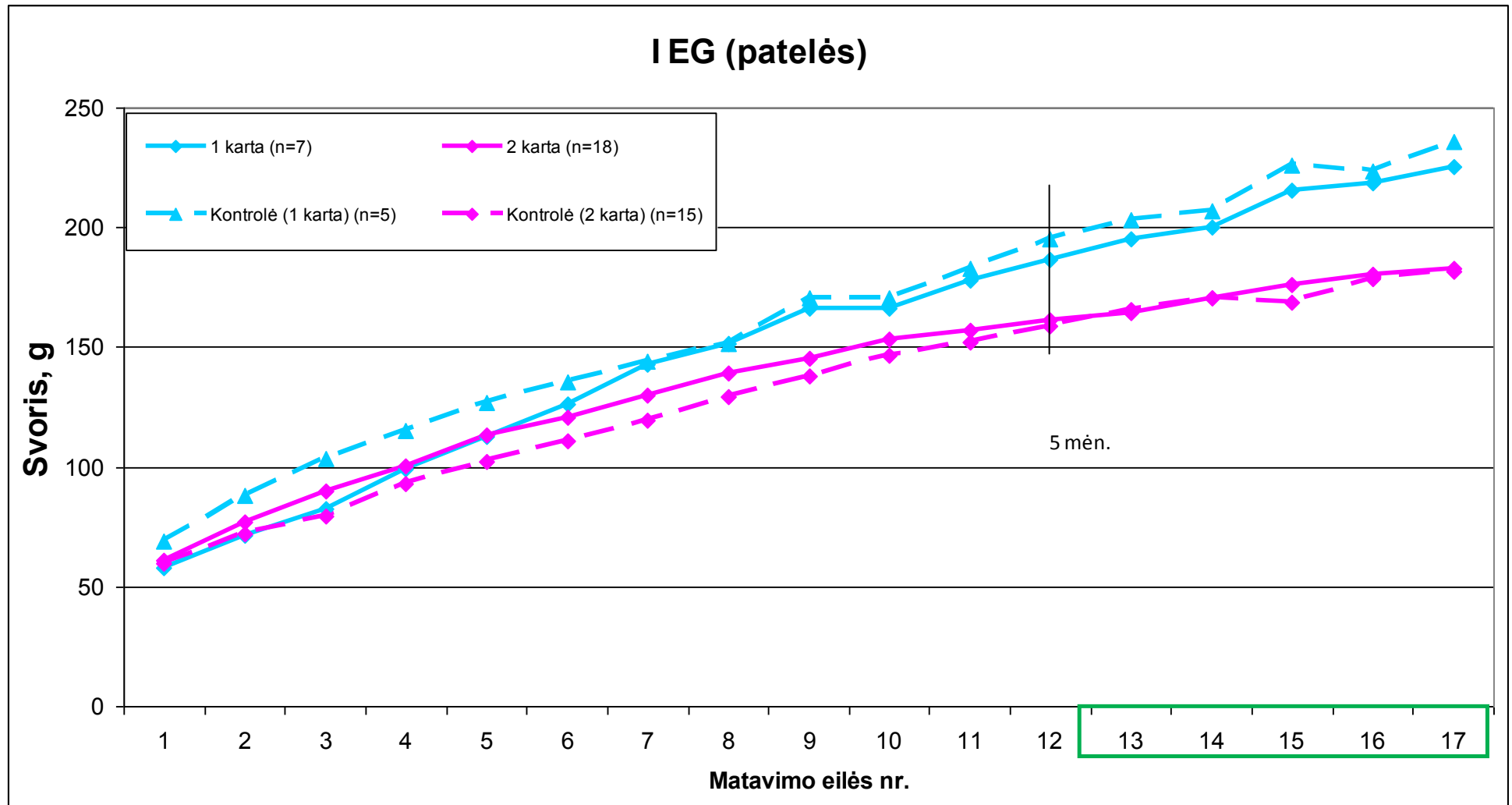


- statistiškai reikšmingas skirtumas tarp eksperimentinių grupių.

5 pav. I eksperimentinės grupės pirmosios ir antrosios kartų svorio palyginimas tarp patinėlių

Metabolinį stresą iki nėštumo ir per nėštumą patyrusių žiurkių vyriškos lyties 1 kartos palikuonys svėrė daugiau už antros kartos palikuonis. Matyti, kad statistiškai reikšmingas skirtumas tarp grupių atsirado 2-2,5 gyvenimo mėnesių ir tęsėsi nuo 3 gyvenimo mėnesio iki tyrimo pabaigos.

Mitybos iki nėštumo ir nėštumo metu įtakos svarbą palikuonių augimui patvirtina ir lyginimas su kontroline grupe. Matyti, kad 1 kartos 1 EG palikuonys statistiškai reikšmingai sunkesni ne tik už pirmos, bet ir antros kartos kontrolinę grupę ($p < 0,05$). Be to, nors ir 2 kartos 1 EG palikuonys nesiekia pirmos kartos kontrolinės grupės svorio, beveik visą laikotarpį iki šešių mėnesių amžiaus antros kartos 1 EG statistiškai reikšmingai skiriasi nuo antros kartos kontrolinės grupės.

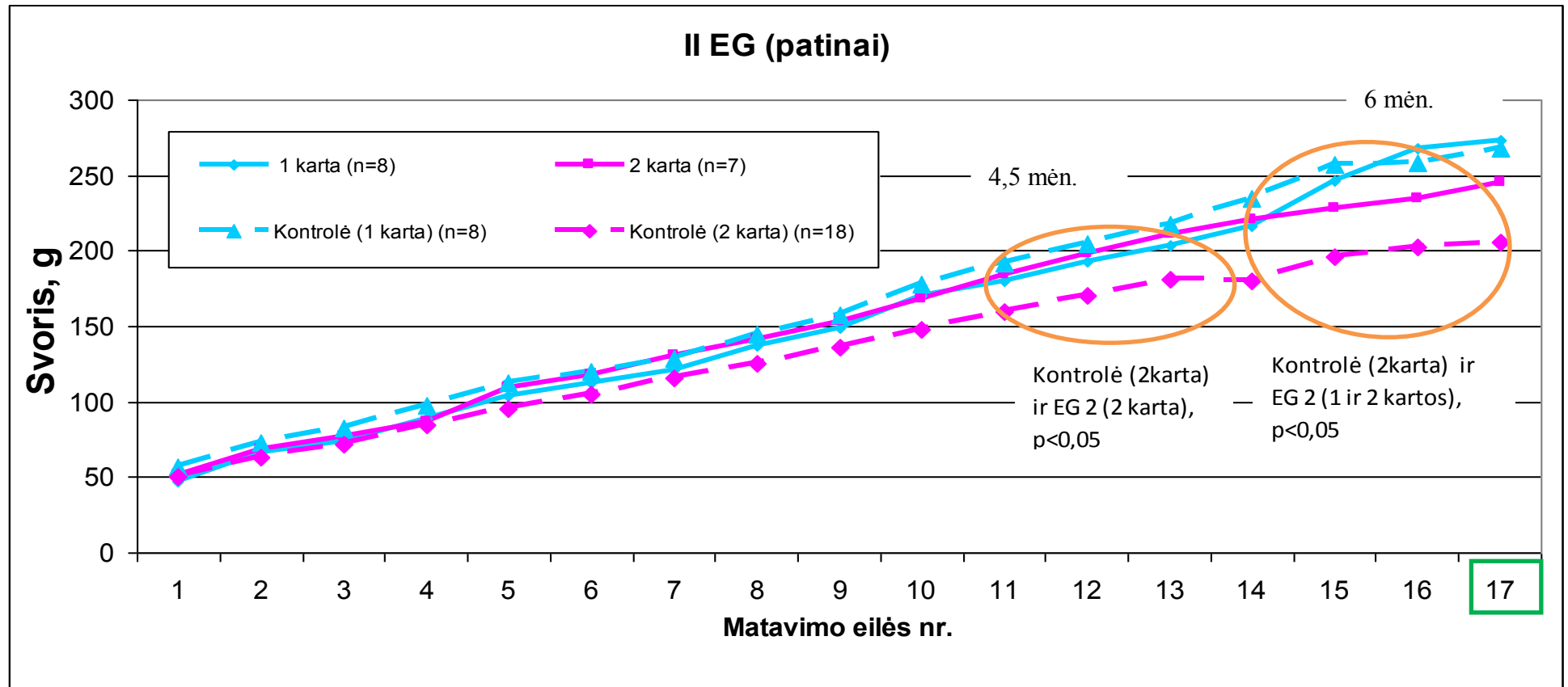


6 pav. I eksperimentinės grupės pirmosios ir antrosios kartų svorio palyginimas tarp patelių

- statistiškai reikšmingas skirtumas tarp eksperimentinių grupių.

Metabolinį stresą iki nėštumo ir per nėštumą patyrusių žiurkių moteriškos lyties 1 kartos palikuonės svėrė daugiau už II kartos palikuones nuo 5 gyvenimo mėnesio iki tyrimo pabaigos.

II-oji eksperimentinė grupė

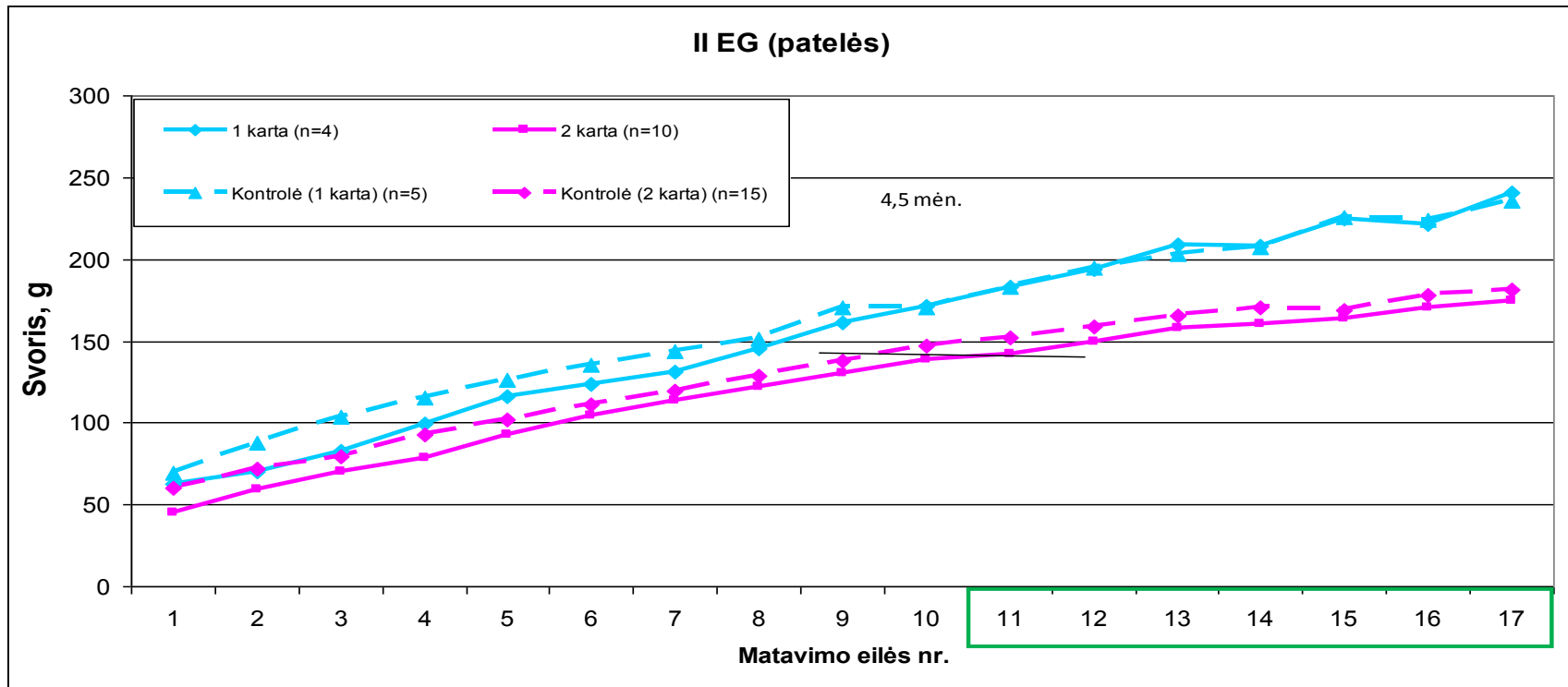


7 pav. II eksperimentinės grupės pirmosios ir antrosios kartų svorio palyginimas tarp patinėlių


- statistiškai reikšmingas skirtumas tarp eksperimentinių grupių.

Matyti, kad iki nėštumo metabolinį stresą patyrusių patelių kelių kartų palikuonys pradeda skirtis tarpusavyje tik nuo 6-ojo gyvenimo mėnesio. Tačiau nuo nors pirmojoje kartoje palikuonys auga tapačiai su kontroline grupe, antrojoje kartoje II EG įgauna svorio pranašumą, lyginant su kontroline grupe, jau nuo 4,5 gyvenimo mėnesio ($p < 0,05$).

Įdomu tai, kad apie penktąjį gyvenimo mėnesį II EG antros kartos palikuonys patinai statistiškai reikšmingai skiriasi ne tik nuo 2, tačiau ir nuo pirmos kartos (sunkesnės) kontrolinės grupės ($p < 0,05$).



8 pav. II eksperimentinės grupės pirmosios ir antrosios kartų svorio palyginimas tarp patelių

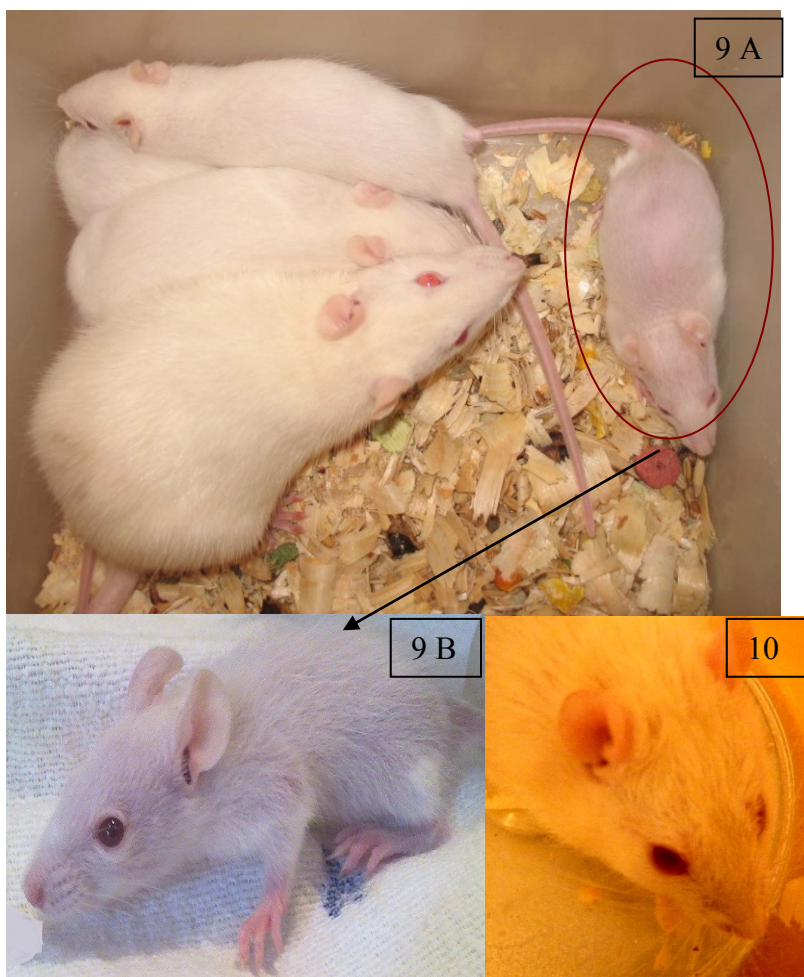
 - statistiškai reikšmingas skirtumas tarp eksperimentinių grupių.

Metabolinį stresą iki nėštumo patyrusių žiurkių moteriškos lyties pirmos kartos palikuonys svėrė daugiau už antros kartos palikuonis nuo 4,5 gyvenimo mėnesio.

7.5. Morfolginiai ir elgsenos pokyčiai

7 lentelėje ir 9-21 paveiksluose pateikiami morfolginiai ir funkciniai antros kartos palikuonių pokyčiai. Pirmojoje palikuonių kartoje toliau aprašomi ankstyvieji pokyčiai nepasireiškė, o po 6-ojo gyvenimo mėnesio nebuvo stebėti.

Tam tikri sveikatos žymenys gali būti stebimi jaunikliui sulaukus vos kelių savaičių. Tai nuplikimas (9, 10 pav.), nepakankamas svoris, nebūdinga elgsena.



9 A, 9 B pav. Eksperimentinės grupės II kartos jauniklio kailio išretėjimas

10 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio kailio išretėjimas snukio srityje

Tokių jauniklių pasitaikė tik eksperimentinėse grupėse. Vis dėl to, dažniausiai minėtomis savybėmis pasižymintys jaunikliai žūva dar labai jauno amžiaus ir toliau jų augimo įvertinti neįmanoma. Įvairios specifinės streso žymės eksperimente pradėtos nustatyti nuo 7 gyvenimo mėnesio. Vienas iš ryškiausių ir lengviausiai pastebimų streso požymių – kraujingas ašarojimas (lot. *chronodacryorrhoea*) (11 pav.), hematoporfirino žiedai apie akis (12 pav.). 7-9 gyvenimo mėnesį šis požymis pasireiškė 3 vyriškos ir 1 moteriškos lyties I-osios EG žiurkių antros kartos

palikuonims. Paprastai hematoporfirino žiedai apie akis išlieka keletą mėnesių, tačiau kai kuriais atvejais išlieka nuo nustatymo dienos iki pat tyrimo pabaigos, atkreipdami dėmesį į nuolat blogėjančią graužiko sveikatos būklę. Be to, 2 šios grupės palikuonys tapo vangūs, prarado susidomėjimą, vangiai reagavo į paėmimą į rankas, nešiojimą, svėrimo procedūrą (lengvą stresą). 10-12 gyvenimo mėnesį kraujingas ašarojimas pasireiškė 6 iki nėštumo badavusių patelių (II EG) palikuonims patinams ir 1 patelei.



11 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio kraujingas ašarojimas

12 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio hematoporfirino žiedai aplink akis

I grupės palikuonims nurodytu laikotarpiu atsirado ir edemos požymių: 2 patinams ištino snukis (13 pav.), 1 – susikaupė skystis sprando srityje (14 pav.). Edemos reiškiniai tęsėsi kelias savaites.



13 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio sutinęs snukis

14 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio sutinęs snukis ir sprandas

Be to, 3 šios grupės patinai taip pat tapo vangūs, o vienai patelei nuslinko sprando sritys bei snukio plaukai (10 pav.).

Dėl skysčio kaupimosi audiniuose nutarta atlikti visų grupių sprando bei pilvo apimčių ir kūno ilgio matavimus. Vis dėl to, skirtumų tarp šių parametrų skirtingose žiurkių grupėse neradome. Trims II EG patinams stebėtas vangumas, tuo tarpu I EG šis požymis nustatytas 5 patinams. Viena iš II EG patelių pradėjo demonstruoti kvėpavimo nepakankamumo požymius - garsiai, sunkiai alsuoti, dusti. Vėliau sekė ūmus ir sunkus viduriavimas. Visą minėtą laiką patelei stebėtas ir kraujingas ašarojimas. Numetusi beveik pusę kūno svorio po savaitės ši patelė nugaišo. Skrodimo metu nustatytas vidaus organų padidėjimas (15 pav.), kai kuriuose jų stebėtos kraujosrūvos.



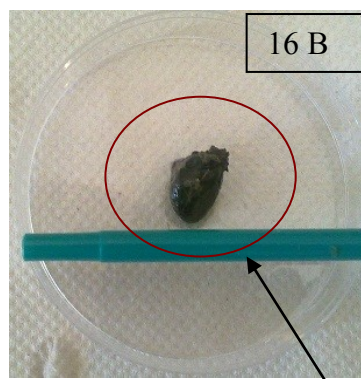
15 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio padidėję vidaus organai, yra nekrotinių židinių

Hematoporfirino žiedai apie akis šioje grupėje nustatyti 3 patinams ir 1 patelei. I EG 1 patinėliui nustatytas skysčio susikaupimas sprando srityje, žaizdelės bei nusikasmų žymės ant kaklo, kraujingas ašarojimas. Šis individas taip pat per kelias savaites nugaišo. Skrodimo metu nustatyta, kad vidaus organai padidėję. Dar dviems I EG patinėliams stebėtas audinių skysčio susikaupimas sprando srityje. Dviems II EG patelėms stebėti kontrastingi nuo anksčiau aprašytų elgsenos pokyčiai: jos tapo dirglesnėmis, agresyvesnėmis, stebėti hiperaktyvumo, neramumo reiškiniai.

16-17 gyvenimo mėnesį I EG palikuonims taip pat pasireiškė daug streso požymių. 1 patinėliui stebėtas skysčių kaupimasis sprando srityje, dviems – ištinęs snukis. Be to trims patinėliams stebėtas kraujingas ašarojimas, penkiems – perdėtas vangumas. 4 patelių kailio būklė

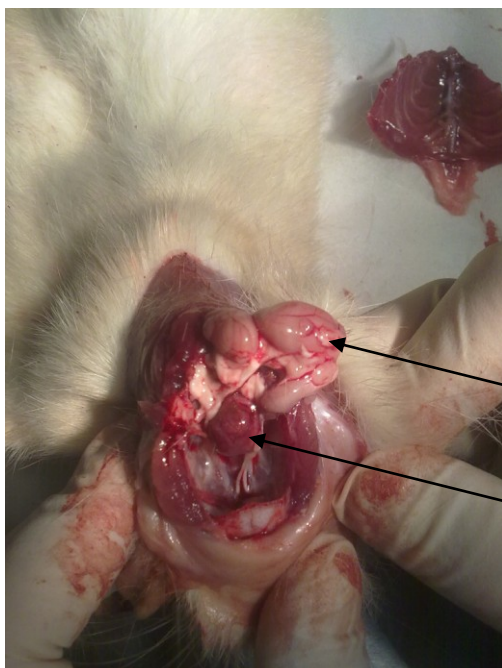
buvo nepatenkinama, atsirado nuplikimo židiniai įvairiose kūno vietose: sprando srityje, ant kojų, pilvo, nustatytas hiperaktyvumas (N=6) ir agresyvumas (N=1). Be to, kai kurių žiurkių kailis buvo difuziškai išretėjęs, netvarkingas, nes, matyt, jos rečiau prausėsi. II EG patinams taip pat pasireiškė kraujingas ašarojimas ir hematoporfirino žiedai (N=3), ištinęs sprandas (N=1), nustatytas perdėtas vangumas (N=3). Vienai patelei pasireiškė kvėpavimo nepakankamumo požymiai: jis sunko alsavo, duso. Šios grupės žiurkėms patelėms taip pat stebėtas nuplikimas (N=1), kraujingas ašarojimas (N=1). Šiuo laikotarpiu nugaišo 1 II EG patinėlis bei 1 kontrolinės grupės patelė. Išskrodus patelę išorinių vidaus organų pakitimų nenustatyta, tačiau aptikta kraujosrūva smegenyse. Palyginimui su eksperimentinėmis žiurkėmis užmigdytos ir skrostos 4 kontrolinės žiurkės (2 patelės ir 2 patinai). II EG patinui stebėti ženkliai padidėję vidaus organai (ypač kepenys), sunykę plaučiai, nekrotiniai vidaus organų pažeidimai, kraujosrūvos, padidėjusi širdis (16 A, B pav.). Pastaruoju atveju nustatytas ir vienas iš senatvės požymių – hipofizės padidėjimas (17 pav.).

17 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio hipertrofuota širdis



A. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio hipertrofuota širdis apie 2 kartus didesnė už normalią.

B. Normali (kontrolinės grupės) žiurkės širdis



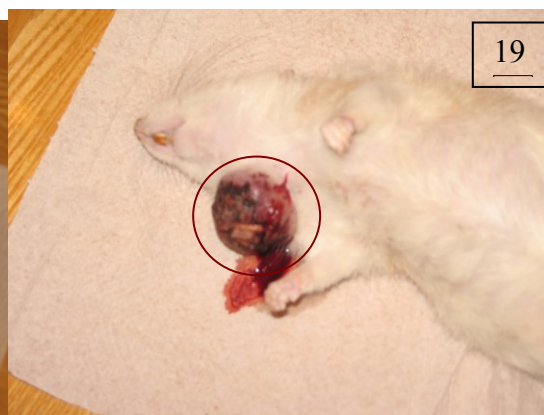
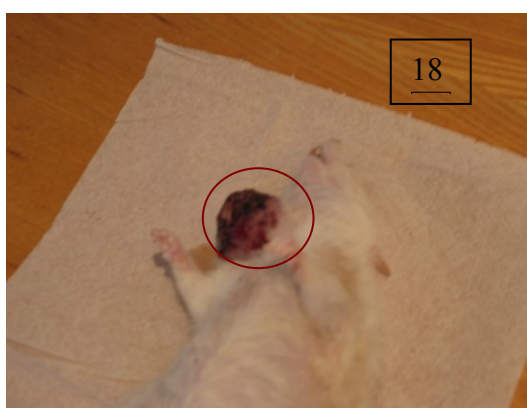
17 pav. Senatvės požymis - eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio padidėjusi hipofizė

Didieji smegenų pusrutuliai

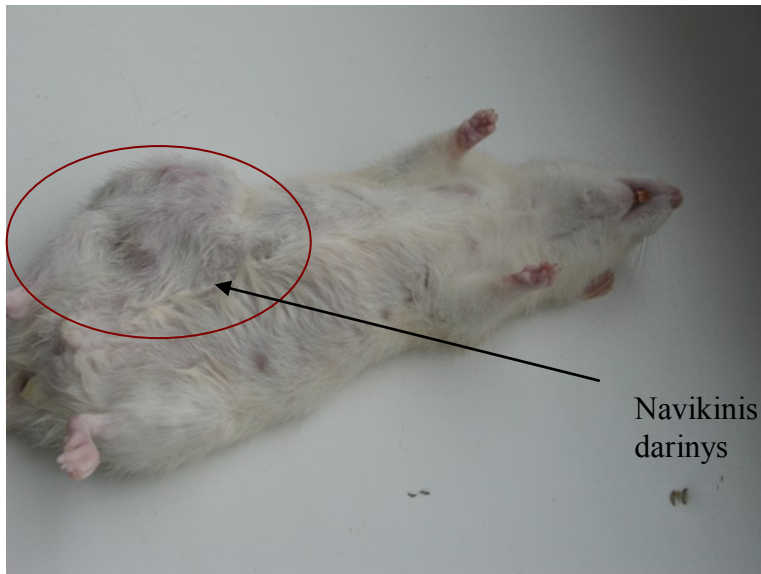
Hipofizė

18-20 gyvenimo mėnesiais taip pat stebėta nemažai metabolinio streso padarinių. I EG patinams pasireiškė kraujingas ašarojimas (N=2), skysčių kaupimasis snukio ir sprando srityse (N=3), perdėtas vangumas (N=3). Patelių grupėje pasireiškė nuplikimas (N=3) ir hiperaktyvumas (N=3). II EG metabolinio streso požymių minėtu laikotarpiu pasitaikė mažiau: nuplikusi tebuvo 1 patelė. Vangumas pasireiškė 3 patinams. Šiuo laikotarpiu stebėtos net 6 graužikų mirtys: 1 (kontrolinė gr.), 2 (I EG), 3 (II EG). Atlikus kontrolinio patino skrodimą, išorinių pakitimų nenustatyta. Analogiška situacija stebėta ir vieno iš I EG patinų: išskrodus palikuonį akivaizdžių organų sutrikimų nebuvo matyti. Vis dėl to, **kito (antrojo)** nugaišusio patino mirtį galėjo sukelti navikas kaklo srityje (18, 19 pav.). Tuo tarpu, II EG **patinėlio???** buvo ženkliai padidėję vidaus organai, stebėti nekrotiniai židiniai. Be to, atsirado navikinis darinys šlaunies srityje, galėjęs lemti palikuonio mirtį (20 pav.).

Vėlesniu tyrimo metu kai kuriems eksperimentinės grupės patinams stebėtas ir ženklus poodinio riebalinio audinio išvešėjimas (21 pav.) bei bėrimai nugaros srityje (22 pav.).



18, 19 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio navikinis darinys kaklo srityje



20 pav. Eksperimentinės grupės II kartos suaugėlio navikinis darinys šlaunies srityje



21 pav. Nutukimas: II kartos eksperimentinės grupės patino poodinio riebalinio audinio kiekio padidėjimas



22 pav. Bėrimo ir nusikasyimo žymės eksperimentinės grupės patino nugaros srityje

Gyvenimo mėnuo	Pirmieji streso požymiai			Kiti stebėti požymiai			Mirtis			Kitos pastabos
	I EG	II EG	Kontrolinė	I EG	II EG	Kontrolinė	I EG	II EG	Kontrolinė	
16-17	1 M – susikaupęs skystis sprando srityje 2 M – ištinęs snukis 3 M – kraujingas ašarojimas 4 F apiplikusios 1 F – kraujingos išmatos	1F – sunkiai alsuoja, viduriuoja, 3M, 1 F – Kraujingos ašaros 1 F - nuplikusi 1 M – ištinęs sprandas		5 M – vangūs 6 F – hiperaktyvios 1F - agresyvi	3M - vangūs			1M	4 (2 M ir 2 F) paskerstos tyrimui 1 F nudvėsė	K-Išorinių pakitimų nenustatyta; nugaišusi kontrolinė žiurkė: Kraujosrūva smegenyse, vidaus organai normalios būklės II grupė- Ženkliai padidėję vidaus organai (ypač kepenys), sunykę plaučiai, padidėjusi hipofizė, kraujosrūvos, nekrotiniai židiniai.
18-20	3 F - nuplikusios 2 M - kraujingas ašarojimas 3 M – ištinęs snukis, sprando sritis 1 M - navikinis darinys kaklo srityje	1 F – nuplikusi I M – navikinis darinys šlaunies srityje		3 M - vangūs 3 F - hiperaktyvios	3 M - vangūs		2 M	3 M	1 M nudvėsė	Kontrolinė grupė- Išorinių pakitimų nenustatyta; I grupė – vienam patinui išorinių pakitimų nenustatyta; tačiau kitas nugaišo dėl navikinio darinio kaklo srityje. II grupė – padidėję vidaus organai, nekrotiniai židiniai. Nugaišo dėl navikinio darinio šlaunies srityje.

8. REZULTATŲ APTARIMAS

Mokslinėje spaudoje skelbiama nemažai tyrimų, aprašančių nevisavertės mitybos per nėštumą lemtus medžiagų apykaitos pokyčius [23, 33-37, 45, 55, 84, 91]. Tačiau pakitusių metabolinių parametru išliekamumas keliose palikuonių kartose tiriamas labai retai, o mitybos išskirtinai iki nėštumo, įtaka palikuonių fizinei būklei mokslinėje literatūroje dažniausiai aprašoma tik hipotetiniu lygmeniu. Mūsų studija tyrė mitybos sąlygų iki nėštumo ir per nėštumą įtaką žiurkių palikuonių svoriui ir rizikai nutukti, jų elgsenai, kitiems morfologiniams metabolinio streso žymenims atsirasti įvairiais gyvenimo periodais: jauname, brandžiame amžiuje bei senatvėje.

Negausūs ir nedrąsiai skelbiami literatūros duomenys rodo, kad apvaisinimo sėkmės ir bendro jauniklių vados išgyvenamumo parametrai antroje palikuonių kartoje linkę normalizuotis, t.y. didėti, tačiau vis tiek yra blogesni nei kontrolinių individų [33]. Mes savo tyrime susidūrėme su trikdančiais veiksniais, todėl objektyviai įvertinti pirmos ir antros kartos palikuonių vados išgyvenamumo negalime, tačiau atrodo, kad antroje palikuonių kartoje palikuonių išgyvenamumas didesnis, be to, beveik visos palikuonės patelės sėkmingai apvaisinamos. Įdomu tai, kad tiek pirmoje, tiek antroje palikuonių kartose mažiausiai jauniklių susilaukia tos patelės, kurios „badavo“ iki nėštumo ir jų palikuonys dažniau gaišdavo. Mūsų tyrime pastebėta ir dar viena įdomi tendencija – antroje palikuonių kartoje iki nėštumo ir per nėštumą badavusių žiurkių vados yra nedidelės ir išgyvena visi individai, todėl jų bendras išgyvenamumo rodiklis lenkia netgi kontrolinę palikuonių grupę. Ko gero, stiprus ir ilgai trukęs metabolinis stresas lemia metabolinio kapitalo padalijimą mažesniai individų skaičiui, siekiant užtikrinti, kad kuo daugiau jų išgyventų. Mes netyrėme palikuonių gimimo svorio: tai metodiškai sudėtinga procedūra, kadangi motinos yra linkusios suėsti jauniklius, kuriuos liečia žmogaus rankos. Visgi, kitų mokslininkų duomenys rodo, kad mitybos ribojimą *in utero* patyrę palikuonys beveik visais atvejais gimsta mažesnio svorio tiek pirmoje, tiek antroje palikuonių kartoje [33-37]. Nepaisant mažo gimimo svorio, maisto medžiagų stokojusių motinų palikuonys gali nepriaugtą svorį atsigriebti ir turi insulino tolerancijos sutrikimų [23, 34, 45, 84, 90-92]. Literatūros duomenys taip pat rodo, kad net ir tais atvejais, kai „atsigriebimo fenomeno“ nestebima, palikuonys pasižymi padidėjusiu jautrumu insulinui [91]. Vadinas, esminiai augimo „perprogramavimo“ padariniai gali pasireikšti ne svorio ar kitų fizinių parametru pavidalu, tačiau ligų ir susirgimų (hipertenzija, diabetas, kitos lėtinės ligos) simptomatika, priešlaikiniu senėjimu, ankstyva mirtimi.

Mūsų tyrimas nerodo žiurkių, kurioms buvo ribota mityba, moteriškos lyties palikuonių svorio skirtumo. Gali būti, kad jų organizmas adaptyvesnis ir sugeba kompensuoti maisto ribojimo sukkelto streso poveikį medžiagų apykaitai. Panašiai teigia ir kiti autoriai [33-37]. Tuo tarpu, kitos studijos retkarčiais randa *in utero* metabolinį stresą patyrusių palikuonių patelių kūno svorio ir ilgio skirtumus. Nustatyta, kad žiurkių, kurioms buvo ribotas maistas pirmos kartos palikuonės patelės gimimo metu svėrė mažiau ir buvo trumpesnės už kontrolines palikuones, tuo tarpu antrojoje kartoje pranoko kontrolines palikuones [34]. E. Zambrano ir kt. (2005) nustatė, kad įtakos palikuonių patelių svoriui turi maistinių medžiagų ribojimo ekspozicijos laikotarpis. Itin didelę reikšmę svoriui suaugus turi maistinių medžiagų ribojimas žindymo metu. Mokslininkai nustatė, kad nėštumo ir žindymo arba tik žindymo metu maistinių medžiagų stokojusių žiurkių palikuonės patelės 21, 100 ir 270-ąją gyvenimo dienomis sveria apie 20 proc. mažiau už kontrolines. Tai rodo, kad maistinių medžiagų ribojimo per nėštumą sukeltas metabolinis deficitas gali būti iš dalies atkurtas žindymo metu. Tačiau, ribojant mitybą laktacijos laikotarpiu, ši galimybė dingsta. Be to, paminėtina, kad panaši situacija stebima ir antrojoje palikuonių kartoje. Kitų autorių duomenys rodo, kad maisto stokojusių žiurkių palikuonių vadose atsigriebimo augimas prasideda žindymo laikotarpiu, kai maisto ribotos motininės patelės turi pakankamai pieno palikuonims žindyti [23]. Laktacijos pradžioje maisto ribotų žiurkių palikuonių grupėse pieno kiekis mažesnis, jis nepakankamai maistingas, todėl jauniklis vistiek negali papildyti trūkstamų maistinių medžiagų atsargų iki tokio lygio, kad pavytų bendraamžių fizinius parametrus. Tačiau, kaip minėta, adaptyvesnis patelių organizmas maistinių medžiagų deficitą sugeba padengti ir prisivyti sveikus bendraamžius. Vis dėl to, kiti kelių palikuonių kartų tyrimai palikuonių patelių svorio, kūno ilgio ar insulino metabolizmo pokyčių (lyginant su kontrolinėmis patelėmis) suaugusiame amžiuje nenustato [34, 35].

Kaip minėta, mitybos ribojimo pasekmės gali būti susijusios su lytimi (patelių organizmas – adaptyvesnis), o intensyviausi svorio pokyčiai išryškėti ne pirmajai, o vėlesnėms palikuonių kartoms. Mūsų tyrime pirmojoje palikuonių kartoje I EG patinėliai jau nuo 3 gyvenimo mėnesio iki pat stebėjimo pabaigos (6 gyvenimo mėnesio) ženkliai sunkesni už kitas grupes, o antrojoje palikuonių kartoje taip pat išsaugo svorio pranašumo tendenciją lyginant su kontroline grupe iki lyginimo laikotarpio pabaigos, sutampančio su efektyviausio reprodukcinio laikotarpio pradžia (6 gyvenimo mėnuo). Po to jų svoris normalizuojasi ir būna tapatus kontrolinės grupės svoriui. Kitų autorių duomenimis per nėštumą maisto ribotų žiurkių palikuonys patinai taip pat sveria daugiau už kitas grupes, jei nėra ribojami maisto laktacijos laikotarpiu [33-35]. Vis dėl to, svorio ir kitų organizmo parametrų pokyčiai tarp patinėlių yra nustatomi ne visada. D. Benyshek ir kt. (2004) nenustatė eksperimentinių (maisto trūkumas iki nėštumo) ir kontrolinės grupių svorio skirtumų (išskyrus postnataliai peršeriant eksperimentines

grupės, tokiu atveju, jos apie penktadaliu sunkesnės). Panašius rezultatus gauna E. Zambrano ir kt. (2005). Tik per nėštumą maisto ribotų žiurkių antros kartos palikuonys patinėliai sveria daugiau už sumažinta pašaro norma laktacijos metu maitintus žiurkių palikuonis, tačiau mažiau sveria už kontrolinius palikuonis [33]. Vis dėl to, kiti autoriai teigia, kad metabolinį stresą patyrusio palikuonio kūno svoris paprastai didėja daug greičiau už normaliai augusiojo, todėl tolesniais brendimo etapais svorių skirtumas tarp kontrolinių ir eksperimentinių palikuonių tik didėja pastarųjų naudai [23, 84, 45, 91, 92], tačiau tolesnis riebalinės masės didėjimas, deja, tęsiasi net ir pasivijus bendraamžius. Analogiškas išvadas galima padaryti ir iš mūsų duomenų. Iki nėštumo ir per nėštumą maisto stokojusių patelių pirmos kartos palikuonys sunkesni už kontrolinius pirmos ir antros kartos individus ir iki nėštumo maisto stokojusius palikuonis iki 6 gyvenimo mėnesio. Antrojoje kartoje stebimas svorio pranašumas lyginant su kontroline grupe, tačiau po šeštojo gyvenimo mėnesio jų svoris normalizuojasi ir tampa tapatus kontrolinei grupei. Be to, nepaisant adekvataus svorio fakto, šiems individams dažniau nei kontrolinėje grupėje pasireiškė išvaizdos ir elgsenos pokyčiai, signalizuojantis priešlaikinį senėjimą ir galiausiai mirtį. Mūsų tyrimui antrina ir kitų autorių duomenys. A. Pinheiro su bendraautoriais (2008) teigia, kad antros kartos baltymų trūkumą patyrusių žiurkių vyriškos lyties palikuonys sunkesni, tačiau padidėjęs kūno riebalų kiekis ir intensyvesni nei pirmojoje kartoje medžiagų apykaitos pokyčiai stebėti abiem lytims. Be to, *in utero* metabolinį stresą patyrusiems palikuonims nustatyta hiperleptinemija, hiperglikemija ir hiperinsulinemija, kas leidžia numanyti rezistentiškumą insulinui ir organizmo kūno svorio reguliacijos pokyčius [34]. Kiek kitokia situacija su iki nėštumo metabolinį stresą patyrusių žiurkių palikuonimis. Pirmojoje palikuonių kartoje ženklų svorio pokyčių nenustatyta, tačiau antrojoje palikuonių kartoje šios grupės individai gerokai lenkė kitas grupes savo svoriu vos sulaukę ankstyvos lytinės brandos (apie 4 gyvenimo mėnuo) iki pat tyrimo pabaigos. Šios grupės tiriamosios žiurkės pirmosios pradėjo mirti bei demonstruoti patologinius išvaizdos, elgsenos ir bendros fiziologinės būklės pokyčius. Kaip minėta, literatūroje mitybos per nėštumą lemtas augimo atsigriebimas yra aprašomas neretai, tuo tarpu, mitybos iki nėštumo indėlis į individo augimo programavimą lieka neaiškus. Kaip jau minėta, pregestacinę maistinių medžiagų ribojimo ekspoziciją tyrė vos keletas mokslininkų grupių. Validžių duomenų apie mitybos iki nėštumo įtaką palikuonių svoriui stokojama, todėl mūsų rezultatų nėra su kuo palyginti, tačiau net ir negaunant patikimų skirtumų tarp grupių, nereikėtų rezultatų vertinti pernelyg kritiškai ir atmesti svorio padidėjimo tendencijos, kadangi šioje grupėje buvo itin mažos imtys (gimė mažiau palikuonių). Ko gero, iki nėštumo atsiradęs stresorius galėjo sukelti epigenetinius medžiagų apykaitos pokyčius, kurie pasireiškė tik antrai palikuonių kartai. Iki nėštumo „užprogramuotas“ kaupti maisto medžiagas organizmas tą darė ir nėštumo bei postnatalinio gyvenimo metu. Vadinasi, gali būti taip, kad būtent motinos

palikuoniui teikiamas metabolinis potencialas, susiformavęs dar iki nėštumo, gali turėti pagrindinį vaidmenį ligoms ir sutrikimams vystytis antrojoje palikuonių kartoje. Panašias išvadas daro ir Zambrano ir kt. (2005), interpretuodami *in utero* mitybos ribojimo pasekmes: „užprogramuota“ predispozicija efektyviai susidoroti su nepakankamomis mitybinėmis sąlygomis tampa kliūtimi teigiamo energinio balanso sąlygomis [33].

Kelias palikuonių kartas tarpusavyje lyginti ryžtasi nedaug mokslininkų (dėl sezono įtakos graužikų augimui, kitų trikdančių veiksnių), tačiau nustatyta, kad antros kartos vyriškos lyties palikuonys (įskaitant ir kontrolinius) yra sunkesni už pirmos kartos palikuonis apie 15-20 proc. [34]. Tuo tarpu, mūsų studija nustatė atvirkščią tendenciją: antros kartos palikuonys sveria mažiau negu pirmos kartos palikuonys. Gali būti, kad A.Pinheiro su bendraautoriais (2008) tyrime palikuonys gimė priešingais sezonais nei mūsų tyrime (jame 1 karta gimė žiemos mėnesiais ir augo pavasarį, o antroji gimė vasarą). Mūsų studijoje 1 kartos 1 EG palikuonys statistiškai reikšmingai sunkesni ne tik už pirmos, bet ir antros kartos kontrolinę grupę ($p < 0,05$), kas tik dar kartą įrodo tendencijos validumą. Be to, nors ir antros kartos 1 EG palikuonys nesiekia pirmos kartos kontrolinės grupės svorio, beveik visą laikotarpį iki šešių mėnesių amžiaus antros kartos 1 EG statistiškai reikšmingai skiriasi nuo antros kartos kontrolinės grupės. Tuo tarpu apie penktąjį gyvenimo mėnesį, II EG antros kartos palikuonys patinai statistiškai reikšmingai skiriasi ne tik nuo antros, tačiau ir nuo pirmos kartos (sunkesnės) kontrolinės grupės ($p < 0,05$). Vadinasi, augimo programavimo mechanizmai skiriasi priklausomai nuo ekspozicijos laikotarpio ir lyties, tačiau, ko gero, svorio skirtumai yra tik vienas iš nedaugelio, tačiau ne pagrindinis mitybos ribojimo lemtas medžiagų apykaitos pokytis.

Kaip žinia, anksčiau minėti moksliniai tyrimai pagrindinį dėmesį teikė ne svorio, o hormoniniams palikuonių medžiagų apykaitos pokyčiams. Prenataliai maisto ribotų žiurkių palikuonys patinai dažnai būna rezistentiški insulinui ir patelėms minėtas reiškinys pasireiškia rečiau. Insulino metabolizmo pokyčiai (rezistencija arba hiperjautrumas), hiperleptinemija ar net ir nežymi glikemija gali tapti padidėjusio svorio, pasikeitusios kūno riebalų struktūros ir sumažėjusios gyvenimo trukmės priežastimi [33-36]. Minėti pokyčiai kur kas intensyvesni antrojoje, nei pirmojoje palikuonių kartoje: kūno masės padidėjimas bei riebalų atsidedimas juosmens srityje didesnis nei pirmoje palikuonių kartoje [34].

Senėjimo procesai maistinių medžiagų ribojimą patyrusių laboratorinių gyvūnų kontekste mokslinėje literatūroje analizuojami tik vienos palikuonių kartos lygmenyje. Net ir nesiskiriant svoriams tarp kontrolinių ir maistinių medžiagų ribojimą patyrusių grupių palikuonių, stebima pakitusi riebalinio audinio topografija - didesnis riebalų atsidedimas juosmens [140, 141]. Nors mūsų studija netyrė kūno riebalų atsidedimo objektyviai (pavieniai suriebėjimo atvejai eksperimentinėse grupėse ir buvo nustatyti), tačiau stebėta nemažai kitų, literatūroje

neakcentuojamų, priešlaikinio senėjimo žymenų: padidėjęs kūno svoris bei trumpesnė gyvenimo trukmė: antros kartos II EG palikuonys pradėjo dvėsti 1 metų ir 2 mėnesių amžiaus. Be to, patinams šie požymiai pasireiškėdavo kur kas dažniau nei patelėms. Skrodimo metu buvo matyti tipiniai priešlaikinio senėjimo požymiai: nekrozės židiniai reguliaciniuose organuose (širdyje, smegenyse, kepenyse, plaučiuose), kartais - padidėjusi hipofizė. Tuo tarpu pirmos eksperimentinės grupės palikuonys pradėjo dvėsti panašiu laiku kaip kontroliniai palikuonys (apie 1,5 metų amžiaus), tačiau skirtingai nuo kontrolinių individų (jiems išorinių pokyčių skrodimo metu nebuvo matyti), I EG žiurkėms nustatyti navikiniai procesai, nekrozės, kita patologija reguliaciniuose organuose.

Literatūroje pateikiama nemažai tyrimų, pasak kurių, mitybos nepakankamumas *in utero* gali lemti elgsenos sutrikimus suaugus [37, 137-139]. Mūsų duomenys rodo, kad mitybos ribojimą patyrę palikuonys dažnai būna vangūs, nereaguoja į aplinką, daug miega bei rečiau kovoja ar žaidžia tarpusavyje narvelio viduje. Tačiau pasitaiko ir hiperaktyvumo – moteriškos lyties palikuonės dirglios, negali nustygti vietoje. Įdomu tai, kad nors ir mūsų studijoje stebėta subjektyviai pailgėjusi eksperimentinių gyvūnėlių miego trukmė, literatūros duomenimis, tokiems graužikams sutrumpėja gilaus miego ir REM miego stadijos trukmė [139]. Tačiau abiem atvejais sunku pritraukti ir išlaikyti žiurkių dėmesį – jos dirginimą ignoruoja. Taip pat eksperimentinėse grupėse kur kas dažniau pasitaikė netvarkingų žiurkių: jos mažiau rūpinosi kailiuku, rečiau prausėsi. Pasitaikė nemažai nuplikimo atvejų. Vadinasi, medžiagų apykaitos pokyčiai gali lemti išvaizdos ir elgsenos sutrikimus, galinčius būti metabolinio streso žymeniu.

Įdomu tai, kad kitose studijose neaprašomas vienas pagrindinių metabolinio streso žymenų - kraujingas ašarojimas. Mūsų tyrime, eksperimentinėse grupėse šis reiškinys stebėtas gana dažnai, tuo tarpu kitose studijose jis nėra akcentuojamas. Analogiška situacija ir su audinių skysčio kaupimusi snukio bei sprando srityje. Kitose metodiškai panašiose studijose tokie pokyčiai neaprašomi, tuo tarpu mūsų tyrime tokie požymiai buvo dažni.

Apibendrinus galima teigti, kad mitybinė gerovė *in utero* turi didelę įtaką palikuonio metabolinio fenotipo susiformavimui. Motinos mitybos ribojimas per nėštumą ar iki nėštumo gali keisti postnatalinį augimą, elgseną, tapti morfologinių metabolinio streso požymių priežastimi priklausomai nuo lyties ir ekspozicijos laikotarpio.

Stokojant maisto medžiagų iki nėštumo ir per nėštumą ne tik nepasisavinamas nepakankamas motinos metabolinis potencialas, bet ir stokojama maisto medžiagų per nėštumą, todėl pasekmės matomos jau pirmojoje palikuonių kartoje (didesnis palikuonių svoris). Be to, didesnio nei kontrolinės grupės svorio tendencija šioje grupėje išlieka ir antrojoje palikuonių kartoje. Ko gero, reikšmingiausi pokyčiai šioje grupėje yra ne svorio pokytis, bet neadekvačios mitybos per nėštumą lemti elgsenos sutrikimai, ligos ir morfologiniai metabolinio streso

požymiai. Nors iki nėštumo ir per nėštumą badavusių žiurkių palikuonių gyvenimo trukmė panašėja į kontrolinės grupės, morfologiniai streso požymiai ir vidaus organų pakitimai jiems stebimi gana ankstyvame amžiuje ir pakankamai intensyviai.

Maisto ribojimas iki nėštumo lemia atokesnius, tačiau ypač ryškius svorio pokyčius ir sveikatos sutrikimus. Metabolinio kapitalo stoka motinai badaujant tik iki nėštumo, o per nėštumą užtikrinant vaisiaus metabolinę gerovę, lemia atokesnius, tačiau intensyvesnius nei pirmuoju atveju metabolinius pokyčius: antrojoje palikuonių kartoje gimsta mažiau palikuonių, svorio pranašumas prieš kitas grupes atsiranda vėliau, t.y. po visavertės lytinės brandos atsiradimo, jiems anksčiau ir intensyviau pasireiškia metabolinio streso simptomai. Be to, iki nėštumo badavusių žiurkių antros kartos palikuonys gyvena trumpiau už kitas grupes.

Vadinasi augimo programavimas kur kas sudėtingesnis procesas nei galvota iki šiol ir jo pasekmės dažnai gali būti nenumatomos. Mitybą ribojant iki nėštumo ir per nėštumą, organizmas užprogramuojamas veikti tausojančiu, maisto medžiagas kaupiančiu režimu ir nors antroje kartoje iki pasiekiant lytinę brandą svoris normalizuojasi, medžiagų apykaitos pokyčiai, ligos ir sutrikimai išlieka. Iki nėštumo patirtas metabolinis stresas lemia organizmo nepastovumą: metabolinio motininio potencialo tarsi stokojama, tačiau maisto medžiagų trūkumo augantis organizmas nejaučia. Ko gero, organizmas epigenetiniu lygiu gali išsaugoti informaciją apie galimas nepalankias aplinkos sąlygas, tačiau tikslus amžius ar net palikuonių karta bei priežastys, kodėl ir kada šia informacija gali būti pasinaudota reguliuojant augimą ir senėjimą – neaiškios.

Tyrimo ribotumai

Ši studija – viena iš nedaugelio eksperimentinių tyrimų, analizavusių įtaką augančio organizmo fizinei būklei ne tik nėštumo laikotarpiu, bet ir iki nėštumo. Be to, ieškota ūmių ir atokių pokyčių dvejose palikuonių kartose. Vis dėl to, eksperimentas turėtų būti tęsiamas, padidinant kontrolinę ir eksperimentines grupes ir taip visiškai atmetant atsitiktinumo faktorių.

Dėl ribotų finansinių galimybių, pirmos kartos palikuonys stebėti tik iki šeštojo gyvenimo mėnesio, tačiau jų sekimas turi būti vykdomas tapačiai antros kartos palikuonims iki pat gyvenimo pabaigos, taip užtikrinant visų svorio ir elgsenos pokyčių, bei lėtinių neinfekcinių ligų simptomų nustatymą.

Planuojama studiją tęsti padidinant eksperimentinių grupių ir jose esančių individų skaičių, tiriant alternatyvių mitybinių sąlygų iki nėštumo ar po nėštumo įtaką žiurkių palikuonių fizinei būklei.

IŠVADOS IR PASIŪLYMAI

1. Motinos mitybos ribojimas per nėštumą ar iki nėštumo gali keisti postnatalinį augimą, priklausomai nuo lyties ir mitybos ribojimo ekspozicijos laikotarpio.

- Svorio pokyčių tarp patelių nestebima. Tai gali lemti adaptyvesnis moteriškas organizmas, kuris geriau prisitaiko prie kintančių aplinkos sąlygų.
- Mitybos ribojimas iki nėštumo ir per nėštumą veikia palikuonio raidą ūmiai: pirmoje palikuonių kartoje reikšmingai daugiau už kitas grupes sveria iki nėštumo ir per nėštumą maisto medžiagų ribojimą patyrusių žiurkių vyriškos lyties palikuonys; antroje palikuonių kartoje stebima tendencija, kad iki nėštumo ir per nėštumą maisto stokojusios žiurkės sveria daugiau už kontrolinius individus;
- Motinos mitybos ribojimas tik iki nėštumo lemia ryškesnius atokiuosius metabolinio streso reiškinius: antroje palikuonių kartoje reikšmingai daugiau už kitas grupes sveria iki nėštumo mitybos ribojimą patyrusių žiurkių vyriškos lyties palikuonys, trumpesnė jų gyvenimo trukmė, ryškesnė lėtinių neinfekcinių ligų simptomatika.

2. Antroje palikuonių kartoje eksperimentinių grupių abiejų lyčių palikuonims stebimi morfologiniai medžiagų apykaitos pokyčiai: kraujingas ašarojimas, edemos sprando ir snukio srityje, nuplikimas, vangumas, kurie gali būti metabolinio streso indikatoriais, signalizuojančiais apie medžiagų apykaitos sutrikimą, lėtinių ligų riziką ir pirmalaidę mirtį.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: scientific background papers of the joint WHO/FAO expert consultation, Geneva, 28 January - 1 February 2002. Public Health Nutr 2004; 7(1A), Suppl. 1001
2. Obesity and overweight. WHO Fact sheet N°311 [interaktyvus] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> Naršyta 2012-02-07
3. Elisaia AJT, Barzel B, Wood-Bradley RJ, Henry SL, Cullen-McEwen LA, Bertram JF, Armitage JA. The role of maternal diet in programming obesity, hypertension and metabolic disease and its relevance to the Western Pacific population. Samoa Med J 2009; 1(1): 8-15
4. Prevalence of Overweight, Obesity, and Extreme Obesity Among Adults: United States, Trends 1976–1980 Through 2007–2008. Centers for disease control and prevention, 2010. [interaktyvus] naršyta 2011-05-17: <http://www.cdc.gov/nchs/fastats/overwt.htm>
5. Healthier together in the European Union. European Communities, 2007: 8-9
6. Grabauskas V, Petkevičienė J, Klumbienė J, Vaisvalavičius V. Antsvorio ir nutukimo dažnio priklausomybė nuo socialinių bei gyvensenos veiksnių (Lietuvos suaugusių žmonių gyvensenos tyrimas) Medicina (Kaunas) 2003; 39 (12): 1223-1230
7. Estimated overweight and obesity prevalence in males aged 15+. WHO global infobase, 2010
8. Higienos institutas, sveikatos informacijos centras, mirties priežastys, išankstiniai duomenys (2010)
9. Lissau I, Overpeck MD, Ruan WJ, Due P, Holstein BE, Hediger ML; Health Behaviour in School-aged Children Obesity Working Group. Body mass index and overweight in adolescents in 13 European countries, Israel, and the United States. Arch Pediatr Adolesc Med. 2004 Jan;158(1):27-33
10. Tutkuvienė J. Body mass index, prevalence of overweight and obesity in Lithuanian children and adolescents, 1985-2002. Collegium antropologicum 2007; 31(1): 109-121.
11. Tutkuvienė J. The prevalence of overweight and thinness among Lithuanian adolescents in relation with the changes of socioeconomic situation and nutritional habits. Quo vadis homo... societas humana? Vth International Anthropological Congress of Aleš Hrdlička, Praha, Czech republic, September 2-5 2009 : programme.
12. LSD, Rodiklių duomenų bazė, <http://db1.stat.gov.lt/statbank/default.asp?w=1280>

13. Jankauskienė R. Lietuvos gyventojų fizinio aktyvumo skatinimo strategija: kūno kultūra ar kūno kultas? *Medicina (Kaunas)* 2008; 44(5): 346-55.
14. Tutkuvienė J, Sakalauskaitė E. Kūno įvaizdis: veiksniai ir sąsajos su fizine būkle. *Laboratorinė medicina* 2009; 11(4): 215-22.
15. Frederick IO, Williams MA, Sales AE, Martin DP, Killien M. Pre-pregnancy body mass index, gestational weight gain, and other maternal characteristics in relation to infant birth weight. *Matern Child Health J* 2008; 12(5): 557-67.
16. Dubé MC, Morisset AS, Tchernof A, Weisnagel SJ. Impact of a Mother's Weight History on Her Offspring. *J Obstet Gynaecol Can* 2012; 34(1): 34-8.
17. Stammes Koepp UM, Frost Andersen L, Dahl-Joergensen K, Stigum H, Nass O, Nystad W. Maternal pre-pregnant body mass index, maternal weight change and offspring birthweight. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2012; 91(2): 243-9.
18. Varela-Silva MI, Frisancho AR, Bogin B, Chatkoff D, Smith PK, Dickinson F, Winham D. Behavioral, environmental, metabolic and intergenerational components of early life undernutrition leading to later obesity in developing nations and in minority groups in the U.S.A. *Coll Antropol* 2007; 31(1): 39-46
19. Hoffman DJ, Sawaya AL, Verreschi I, Tucker KL, Roberts SB. Why are nutritionally stunted children at increased risk of obesity? Studies of metabolic rate and fat oxidation in shantytown children from São Paulo, Brazil. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(3): 702-707
20. Hult M, Tornhammar P, Ueda P, Chima C, Bonamy AK, Ozumba B, Norman M. Hypertension, diabetes and overweight: looming legacies of the Biafran famine. *PLoS One* 2010; 5(10): e13582
21. Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P, Levy-Marchal C. Insulin Resistance Early in Adulthood in Subjects Born with Intrauterine Growth Retardation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(4): 1401-1406
22. Law CM, Barker DJ, Osmond C, Fall CH, Simmonds SJ. Early growth and abdominal fatness in adult life. *J Epidemiol Community Health* 1992; 46(3): 184-186
23. Suzuki M, Shibamura M, Kimura S. Effect of severe maternal dietary restriction on growth and intra-abdominal adipose tissue weights in offspring rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2010; 56(5): 293-298
24. Prentice AM, Moore SE. Early programming of adult diseases in resource poor countries. *Arch Dis Child* 2005; 90: 429-432
25. Smith PK, Bogin B, Varela-Silva MI, Loucky J. Economic and anthropological assessments of the health of children in Maya immigrant families in the US. *Econ Hum Biol* 2003; 1(2):145-160

26. Popkin BM, Udry JR. Adolescent obesity increases significantly in second and third generation U.S. immigrants: the National Longitudinal Study of Adolescent Health. *J Nutr* 1998; 128(4): 701-706
27. Gordon-Larsen P, Harris KM, Ward DS, Popkin BM; National Longitudinal Study of Adolescent Health. Acculturation and overweight-related behaviors among Hispanic immigrants to the US: the National Longitudinal Study of Adolescent Health. *Soc Sci Med* 2003; 57(11): 2023-34.
28. Kaplan MS, Hugué N, Newsom JT, McFarland BH. The association between length of residence and obesity among Hispanic immigrants. *Am J Prev Med* 2004; 27(4): 323-6.
29. Bibbins-Domingo K, Coxson P, Pletcher MJ, Lightwood J, Goldman L. Adolescent overweight and future adult coronary heart disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 2371–2379
30. Thornburg KL, O'Tierney PF, Louey S. Review: The placenta is a programming agent for cardiovascular disease. *Placenta* 2010; 31; Suppl:S54-59. Epub 2010 Feb 9
31. Leal J, Luengo-Fernandez R, Gray A, Petersen S, Rayner M. Economic burden of cardiovascular diseases in the enlarged European Union. *Eur Heart J* 2006; 27(13):1610-1619
32. Benyshek DC. The developmental origins of obesity and related health disorders--prenatal and perinatal factors. *Coll Antropol* 2007; 31(1): 11-7.
33. Zambrano E, Martínez-Samayoa PM, Bautista CJ, Deás M, Guillén L, Rodríguez-González GL, Guzmán C, Larrea F, Nathanielsz PW. Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F₂) of female offspring (F₁) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J Physiol* 2005; 566: 225-236
34. Pinheiro AR, Salvucci ID, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Protein restriction during gestation and/or lactation causes adverse transgenerational effects on biometry and glucose metabolism in F1 and F2 progenies of rats. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114(5): 381-92
35. Benyshek DC, Johnston CS, Martin JF. Post-natal diet determines insulin resistance in fetally malnourished, low birthweight rats (F1) but diet does not modify the insulin resistance of their offspring (F2). *Life Sci* 2004; 74(24): 3033-41
36. Benyshek DC, Johnston CS, Martin JF. Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia* 2006; 49(5): 1117-9
37. Stewart RJ, Preece RF, Sheppard HG. Twelve generations of marginal protein deficiency. *Br J Nutr* 1975; 33(2): 233-53

38. Guzmán C, Cabrera R, Cárdenas M, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *J Physiol* 2006; 572(1): 97-108
39. Zambrano E, Bautista CJ, Deas ML, Martinez-Samayoa PM, Gonzalez-Zamorano M, Ledesma H, Morales J, Larrea F, Nathanielsz PW. A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol* 2006; 571(1):221–230
40. Ellington SKL. In-vivo and in-vitro studies on the effects of maternal fasting during embryonic organogenesis in the rat. *J Reprod Fert* 1980; 60: 383-388
41. Wang J, Obici S, Morgan K, Barzilai N, Feng Z, Rossetti L. Overfeeding rapidly induces leptin and insulin resistance. *Diabetes* 2001; 50(12): 2786-2791
42. Venu L, Harishankar N, Krishna TP, Raghunath M. Does maternal dietary mineral restriction per se predispose the offspring to insulin resistance? *Eur J Endocrinol* 2004; 151(2): 287-294 A
43. Venu L, Harishankar N, Prasanna Krishna T, Raghunath M. Maternal dietary vitamin restriction increases body fat content but not insulin resistance in WNIN rat offspring up to 6 months of age. *Diabetologia* 2004; 47(9): 1493-1501 B
44. Brenna JT. Animal studies of the functional consequences of suboptimal polyunsaturated fatty acid status during pregnancy, lactation and early post-natal life. *Matern Child Nutr* 2011; 7(Suppl 2): 59-79
45. Yura S, Itoh H, Sagawa N, Yamamoto H, Masuzaki H, Nakao K, Kawamura M, Takemura M, Kakui K, Ogawa Y, Fujii S. Role of premature leptin surge in obesity resulting from intrauterine undernutrition. *Cell Metab* 2005; 1(6): 371-37
46. Kuzawa CW. Developmental origins of life history: growth, productivity, and reproduction. *Am J Hum Biol* 2007; 19(5): 654-661
47. Joss-Moore LA, Metcalfe DB, Albertine KH, McKnight RA, Lane RH. Epigenetics and fetal adaptation to perinatal events: diversity through fidelity. *J Anim Sci* 2010; 88(13 Suppl): E216-222. Epub 2009 Oct 23
48. Jousse C, Parry L, Lambert-Langlais S, Maurin AC, Averous J, Bruhat A, Carraro V, Tost J, Letteron P, Chen P, Jockers R, Launay JM, Mallet J, Fafournoux P. Perinatal undernutrition affects the methylation and expression of the leptin gene in adults: implication for the understanding of metabolic syndrome. *FASEB J* 2011 Jun 15. [Epub ahead of print]

49. Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG. Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends Ecol Evol* 2005; 20(10): 527-33.
50. McArdle HJ, Andersen HS, Jones H, Gambling L. Fetal programming: causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats - a review. *Placenta* 2006; 27 Suppl A:S56-60. Epub 2006 Mar 13
51. Barker DJ, Martyn CN. The maternal and fetal origins of cardiovascular disease. *J Epidemiol Community Health* 1992; 46(1): 8-11
52. Raulinaitis V. Epigenetika, epigenetinis paveldimumas ir jo svarba. *Biologinė psichiatrija ir psichofarmakologija* 2007; 9(1): 19-21
53. Siervo M, Wells JC, Cizza G. The contribution of psychosocial stress to the obesity epidemic: an evolutionary approach. *Horm Metab Res* 2009; 41(4): 261-270
54. Griffiths AJF, Gelbart WM, Miller JH, et al. *Modern Genetic Analysis*. New York: W. H. Freeman, 1999
55. Belkacemi L, Nelson DM, Desai M, Ross MG. Maternal undernutrition influences placental-fetal development. *Biol Reprod* 2010; 83(3): 325-331
56. Eriksson JG. The fetal origins hypothesis—10 years on. *BMJ* 2005; 330(7500): 1096-1097
57. Stein CE, Fall CH, Kumaran K, Osmond C, Cox V, Barker DJ. Fetal growth and coronary heart disease in south India. *Lancet* 1996; 348(9037): 1269-1273
58. Lawlor DA, Ronalds G, Clark H, Smith GD, Leon DA. Birth weight is inversely associated with incident coronary heart disease and stroke among individuals born in the 1950s: findings from the Aberdeen Children of the 1950s prospective cohort study. *Circulation* 2005; 112(10): 1414-8
59. Lawlor DA, Batty GD, Clark H, McIntyre S, Leon DA. Association of childhood intelligence with risk of coronary heart disease and stroke: findings from the Aberdeen Children of the 1950s cohort study. *Eur J Epidemiol* 2008; 23(10): 695-706.
60. Leon DA, Lithell HO, Vågerö D, Koupilová I, Mohsen R, Berglund L, Lithell UB, McKeigue PM. Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915-29. *BMJ* 1998; 317(7153): 241-5
61. Miura K, Nakagawa H, Tabata M, Morikawa Y, Nishijo M, Kagamimori S. Birth weight, childhood growth, and cardiovascular disease risk factors in Japanese aged 20 years. *Am J Epidemiol* 2001; 153(8): 783-9.

62. Jakimavičienė E, Bartkutė K, Morkūnienė R, Drašutienė G, Tutkuvienė J. Individuo sveikatos programavimas perinataliniu laikotarpiu. *Laboratorinė medicina* 2012; 13(4): 212-24
63. Eriksson JG, Kajantie E, Osmond C, Thornburg K, Barker DJ. Boys live dangerously in the womb. *Am J Hum Biol* 2010; 22(3): 330-5
64. Barker DJ, Thornburg KL, Osmond C, Kajantie E, Eriksson JG. The surface area of the placenta and hypertension in the offspring in later life. *Int J Dev Biol* 2010; 54(2-3): 525-30.
65. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 2001; 60: 5-20
66. Reusens B, Ozanne SE, Remacle C. Fetal determinants of type 2 diabetes. *Curr Drug Targets* 2007; 8(8): 935-41
67. Garg M, Thamocharan M, Oak SA, Pan G, Maclaren DC, Lee PW, Devaskar SU. Early exercise regimen improves insulin sensitivity in the intrauterine growth-restricted adult female rat offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296(2): E272-281
68. Thompson RF, Fazzari MJ, Niu H, Barzilai N, Simmons RA, Grealley JM. Experimental intrauterine growth restriction induces alterations in DNA methylation and gene expression in pancreatic islets of rats. *J Biol Chem* 2010; 285(20): 15111-15118
69. Wells JC. Maternal capital and the metabolic ghetto: An evolutionary perspective on the transgenerational basis of health inequalities. *Am J Hum Biol* 2010; 22(1): 1-17.
70. Ellison PT. Energetics and reproductive effort. *Am J Hum Biol* 2003; 15(3): 342-51.
71. Wells JC. The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother? *J Theor Biol* 2003; 221(1): 143-61.
72. Wells JC. Flaws in the theory of predictive adaptive responses. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18(9): 331-7.
73. Jones JH. Fetal programming: adaptive life-history tactics or making the best of a bad start? *Am J Hum Biol* 2005; 17(1): 22-33.
74. Griffiths LJ, Dezateux C, Cole TJ. Differential parental weight and height contributions to offspring birthweight and weight gain in infancy. *Int J Epidemiol* 2007; 36(1):104-7.
75. Emanuel I, Kimpo C, Mocerri V. The association of grandmaternal and maternal factors with maternal adult stature. *Int J Epidemiol* 2004; 33(6): 1243-8.
76. Leary S, Fall C, Osmond C, Lovel H, Campbell D, Eriksson J, Forrester T, Godfrey K, Hill J, Jie M, Law C, Newby R, Robinson S, Yajnik C. Geographical variation in relationships between parental body size and offspring phenotype at birth. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; 85(9): 1066-79.

77. Ferreira HS, Moura FA, Cabral CR Jr, Florêncio TM, Vieira RC, de Assunção ML. Short stature of mothers from an area endemic for undernutrition is associated with obesity, hypertension and stunted children: a population-based study in the semi-arid region of Alagoas, Northeast Brazil. *Br J Nutr* 2009; 101(8): 1239-45.
78. Kalk P, Guthmann F, Krause K, Relle K, Godes M, Gossing G, Halle H, Wauer R, Hocher B. Impact of maternal body mass index on neonatal outcome. *Eur J Med Res* 2009; 14(5): 216-22.
79. Han Z, Mulla S, Beyene J, Liao G, McDonald SD; Knowledge Synthesis Group. Maternal underweight and the risk of preterm birth and low birth weight: a systematic review and meta-analyses. *Int J Epidemiol* 2011; 40(1): 65-101.
80. Diouf I, Charles MA, Thiebaugeorges O, Forhan A, Kaminski M, Heude B; The EDEN Mother–Child Cohort Study Group. Maternal weight change before pregnancy in relation to birthweight and risks of adverse pregnancy outcomes. *Eur J Epidemiol* 2011; 26(10): 789-96.
81. Phipps K, Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Clark PM. Fetal growth and impaired glucose tolerance in men and women. *Diabetologia* 1993; 36(3): 225-228
82. Lithell HO, McKeigue PM, Berglund L, Mohsen R, Lithell UB, Leon DA. Relation of size at birth to non-insulin dependent diabetes and insulin concentrations in men aged 50-60 years. *BMJ* 1996; 312(7028): 406–410
83. Phillips DI, Barker DJ, Hales CN, Hirst S, Osmond C. Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia* 1994; 37(2): 150-154].
84. Alexe, Syridou G, Petridou ET. Determinants of early life leptin levels and later life degenerative outcomes. *Clin Med Res* 2006; 4(4): 326-335
85. McMillen IC, Muhlhausler BS, Duffield JA, Yuen BS. Prenatal programming of postnatal obesity: fetal nutrition and the regulation of leptin synthesis and secretion before birth. *Proc Nutr Soc* 2004; 63(3): 405-412
86. Oswal A, Yeo G. Leptin and the control of body weight: a review of its diverse central targets, signaling mechanisms, and role in the pathogenesis of obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18(2): 221-229
87. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334(5): 292-295
88. Valūnienė M, Danylaitė A, Kryžiūtė D, Ramanauskaitė G, Lašienė D, Lašas L, Verkauskienė R. Ponatalinis mažų ir atitinkančių gestacijos amžių vaikų augimas per pirmuosius šešerius gyvenimo metus. *Medicina (Kaunas)* 2009; 45(1): 51-60

89. Pilviniene R, Tutkuvienė J, Bakšienė DN. Height, weight and body mass index of preterm very low birth weight infants at the preschool age. *Medicina (Kaunas)* 2003; 39(11): 1110-20
90. Hokken-Koelega AC, De Ridder MA, Lemmen RJ, Den Hartog H, De Muinck Keizer-Schrama SM, Drop SL. Children born small for gestational age: do they catch up? *Pediatr Res* 1995; 38(2): 267-271
91. Lim K, Armitage JA, Stefanidis A, Oldfield BJ, Black MJ. Intrauterine Growth Restriction in the Absence of Postnatal 'Catch-Up' Growth Leads to Improved Whole Body Insulin Sensitivity in Rat Offspring. *Pediatr Res* 2011 Jun 23. [Epub ahead of print]
92. Padmavathi IJ, Rao KR, Venu L, Ganeshan M, Kumar KA, Rao ChN, Harishankar N, Ismail A, Raghunath M. Chronic maternal dietary chromium restriction modulates visceral adiposity: probable underlying mechanisms. *Diabetes* 2010; 59(1): 98-104
93. Prader A, Tanner JM, von Harnack G. Catch-up growth following illness or starvation. *J Pediatrics* 1963; 62: 646-659
94. Tosh DN, Fu Q, Callaway CW, McKnight RA, McMillen IC, Ross MG, Lane RH, Desai M. Epigenetics of programmed obesity: alteration in IUGR rat hepatic IGF1 mRNA expression and histone structure in rapid vs. delayed postnatal catch-up growth. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299(5): G1023-9
95. Williams JP. Catch-up growth. *J Embryol Exp Morphol* 1981; 65 Suppl: 89-101
96. Summermatter S, Marcelino H, Arsenijevic D, Buchala A, Aprikian O, Assimacopoulos-Jeannet F, Seydoux J, Montani JP, Solinas G, Dulloo AG. Adipose tissue plasticity during catch-up fat driven by thrifty metabolism: relevance for muscle-adipose glucose redistribution during catch-up growth. *Diabetes* 2009; 58(10): 2228-2237
97. Moore SE, Halsall I, Howarth D, Poskitt EM, Prentice AM. Glucose, insulin and lipid metabolism in rural Gambians exposed to early malnutrition. *Diabet Med* 2001; 18(8): 646-653
98. Khoroshinina LP, Zhavoronkova NV. Starving in childhood and diabetes mellitus in elderly age. *Adv Gerontol* 2008; 21(4): 684-687
99. Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med* 1976 12; 295(7): 349-353
100. Louey S, Thornburg KL. The prenatal environment and later cardiovascular disease. *Early Hum Dev* 2005; 81(9): 745-751
101. Wang KC, Zhang L, McMillen IC, Botting KJ, Duffield JA, Zhang S, Suter CM, Brooks DA, Morrison JL. Fetal growth restriction and the programming of heart growth

- and cardiac insulin-like growth factor 2 expression in the lamb. *J Physiol* 2011; 589(Pt 19): 4709-22
102. Paulauskienė S, Tutkuvienė J, Šapoka V. Naujų kardiovaskulinės rizikos veiksnių paieškos: kritinių augimo periodų reikšmė hipertenzijos vystimuisi. *Medicinos teorija ir praktika* 2011; 17(1): 122-131
103. Godfrey KM. The role of the placenta in fetal programming—a review. *Placenta*. 2002;23 Suppl A:S20–S27
104. Neggers Y, Goldenberg RL. Some thoughts on body mass index, micronutrient intakes and pregnancy outcome. *J Nutr* 2003; 133: 1737S–1740S
105. Mao J, Zhang X, Sieli PT, Falduto MT, Torres KE, Rosenfeld CS. Contrasting effects of different maternal diets on sexually dimorphic gene expression in the murine placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(12): 5557-5562
106. Shiell AW, Campbell-Brown M, Haselden S, Robinson S, Godfrey KM, Barker DJ. High-meat, low-carbohydrate diet in pregnancy: relation to adult blood pressure in the offspring. *Hypertension* 2001; 38(6):1282-1288
107. Herrick K, Phillips DI, Haselden S, Shiell AW, Campbell-Brown M, Godfrey KM. Maternal consumption of a high-meat, low-carbohydrate diet in late pregnancy: relation to adult cortisol concentrations in the offspring. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(8): 3554-3560
108. Brown AS, van Os J, Driessens C, Hoek HW, Susser ES. Further evidence of relation between prenatal famine and major affective disorder. *Am J Psychiatry* 2000; 157(2): 190-195
109. Lopuhaä CE, Roseboom TJ, Osmond C, Barker DJP, Ravellib ACJ, Bleker OP, van der Zee JS, van der Meulen JHP. Atopy, lung function, and obstructive airways disease after prenatal exposure to famine. *Thorax* 2000; 55: 555-561
110. Painter RC, Westendorp RG, de Rooij SR, Osmond C, Barker DJ, Roseboom TJ. Increased reproductive success of women after prenatal undernutrition. *Hum Reprod* 2008; 23(11): 2591-2595
111. Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. The laboratory rat. *American College of Laboratory Animal Medicine Series*, 2006: 15-20
112. Šimkevičienė V, Rukšėnas O. *Laboratorinių gyvūnų mokslo pagrindai*. Vilnius: VU I-kla, 2001. 237 p.
113. Osborne TB, Mendel LB. The suppression of growth and the capacity to grow. *J Biol Chem* 1914; 18: 95-106

114. Aherne FX, Williams IH. Nutrition for optimizing breeding herd performance. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1992; 8(3): 589-608
115. Laborie C, Molendi-Coste O, Breton C, Montel V, Vandembulcke F, Grumolato L, Anouar Y, Vieau D. Maternal perinatal undernutrition has long-term consequences on morphology, function and gene expression of the adrenal medulla in the adult male rat. *J Neuroendocrinol* 2011 May 12. doi: 10.1111/j.1365-2826.2011.02159.x. [Epub ahead of print]
116. Lukaszewski MA, Mayeur S, Fajardy I, Delahaye F, Dutriez-Casteloot I, Montel V, Dickes-Coopman A, Laborie C, Lesage J, Vieau D, Breton C. Maternal prenatal undernutrition programs adipose tissue gene expression in adult male rat offspring under high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011 Jun 28. [Epub ahead of print]
117. Langley-Evans SC, Welham SJ, Sherman RC, Jackson AA. Weanling rats exposed to maternal low-protein diets during discrete periods of gestation exhibit differing severity of hypertension. *Clin Sci (Lond)* 1996; 91(5): 607-615
118. Brawley L, Itoh S, Torrens C, Barker A, Bertram C, Poston L, Hanson M. Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatr Res* 2003; 54(1): 83-90
119. Petry CJ, Dorling MW, Pawlak DB, Ozanne SE, Hales CN. Diabetes in old male offspring of rat dams fed a reduced protein diet. *Int J Exp Diabetes Res* 2001; 2(2): 139-143]
120. Bellinger L, Lilley C, Langley-Evans SC. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *Br J Nutr* 2004; 92(3): 513-520
121. Orozco-Sólis R, Lopes de Souza S, Barbosa Matos RJ, Grit I, Le Bloch J, Nguyen P, Manhães de Castro R, Bolaños-Jiménez F. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiol Behav* 2009; 96(3): 481-492
122. Lillycrop KA, Phillips ES, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr* 2005; 135(6): 1382-1386
123. Koski KG, Hill FW, Hurley LS. Effect of low carbohydrate diets during pregnancy on embryogenesis and fetal growth and development in rats. *J Nutr* 1986; 116(10):1922-1937

124. Wang Y, Miura Y, Kaneko T, Li J, Qin LQ, Wang PY, Matsui H, Sato A. Glucose intolerance induced by a high-fat/low-carbohydrate diet in rats effects of nonesterified fatty acids. *Endocrine* 2002; 17(3): 185-191
125. Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G, Durand G. The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr* 1989; 119(12): 1880-1892
126. Francès H, Monier C, Bourre JM. Effects of dietary alpha-linolenic acid deficiency on neuromuscular and cognitive functions in mice. *Life Sci* 1995; 57(21): 1935-1947
127. Evans HM, Bishop KS. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* 1922; 56(1458): 650-1.
128. Nakashima Y. Zinc's Role in Rat Preference for a Low-Fat Diet in a Two-Choice Diet Program of Low- and High-Fat Diets. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2011; 57(1): 42-47
129. Padmavathi IJ, Kishore YD, Venu L, Ganeshan M, Harishankar N, Giridharan NV, Raghunath M. Prenatal and perinatal zinc restriction: effects on body composition, glucose tolerance and insulin response in rat offspring. *Exp Physiol* 2009; 94(6): 761-769
130. Venu L, Padmavathi IJ, Kishore YD, Bhanu NV, Rao KR, Sainath PB, Ganeshan M, Raghunath M. Long-term effects of maternal magnesium restriction on adiposity and insulin resistance in rat pups. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16(6): 1270-1276
131. Theys N, Bouckenooghe T, Ahn MT, Remacle C, Reusens B. Maternal low-protein diet alters pancreatic islet mitochondrial function in a sex-specific manner in the adult rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 297(5): R1516-1525
132. Anguita RM, Sigulem DM, Sawaya AL. Intrauterine food restriction is associated with obesity in young rats. *J Nutr* 1993; 123(8): 1421-1428
133. Jones AP, Friedman MI. Obesity and adipocyte abnormalities in offspring of rats undernourished during pregnancy. *Science* 1992; 255(5339): 1518-1519
134. Jones AP, Simson EL, Friedman MI. Gestational undernutrition and the development of obesity in rats. *J Nutr* 1984; 114(8): 1484-92
135. Ozanne SE, Olsen GS, Hansen LL, Tingey KJ, Nave BT, Wang CL, Hartil K, Petry CJ, Buckley AJ, Mosthaf-Seedorf L. Early growth restriction leads to down regulation of protein kinase C zeta and insulin resistance in skeletal muscle. *J Endocrinol* 2003; 177(2): 235-41.

136. Fernandez-Twinn DS, Wayman A, Ekizoglou S, Martin MS, Hales CN, Ozanne SE. Maternal protein restriction leads to hyperinsulinemia and reduced insulin-signaling protein expression in 21-mo-old female rat offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288(2): R368-73
137. Zhang Y, Li N, Yang Z. Perinatal food restriction impaired spatial learning and memory behavior and decreased the density of nitric oxide synthase neurons in the hippocampus of adult male rat offspring. *Toxicol Lett* 2010; 193(2): 167-172
138. Blaise SA, Nédélec E, Schroeder H, Alberto JM, Bossenmeyer-Pourié C, Guéant JL, Daval JL. Gestational vitamin B deficiency leads to homocysteine-associated brain apoptosis and alters neurobehavioral development in rats. *Am J Pathol* 2007; 170(2):667-79
139. Durán P, Galler JR, Cintra L, Tonkiss J. Prenatal malnutrition and sleep states in adult rats: effects of restraint stress. *Physiol Behav* 2006; 89(2): 156-163
140. Bellinger L, Sculley DV, Langley-Evans SC. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30(5): 729-738
141. Zamenhof S, van Marthens E. Effects of prenatal and chronic undernutrition on aging and survival in rats. *J Nutr* 1982; 112(5): 972-977