



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

«Συσχετισμός της φυσικής κατάστασης, μετρούμενης στη μέση ηλικία, με την αντοχή του οργανισμού στο stress κατά την τρίτη ηλικία στη *Drosophila*»



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ,
ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΕΚΠΑ.**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΜΕ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ:
ΒΑΣΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ**

**ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΝΑ
ΑΘΗΝΑ, 2018**

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο πειραματικής φυσιολογίας, της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018 και αποτελεί τμήμα της έρευνας που πραγματοποιείται στο εργαστήριο αυτό.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Κόνσουλα Χρήστο για την υπέροχη συνεργασία που είχαμε, για το ήθος του, για όσα με δίδαξε, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όλο αυτό το χρονικό διάστημα. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την διδάκτωρ Αγάπη Δημητριάδου και τον μεταδιδάκτωρ Δημήτριο Καδά για τις συμβουλές τους, για την βοήθεια τους σε κάποιες πειραματικές πορείες και κυρίως για το ευχάριστο κλίμα που επικρατούσε στο εργαστήριο λόγω της παρουσίας τους.

Επίσης, ευχαριστώ τον κύριο Αναστάσιο Φιλίππου, για τις συμβουλές του καθώς και τον κύριο Μιχάλη Κουτσιλιέρη, για την συμμετοχή του στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Τέλος, ευχαριστώ τους γονείς μου Απόστολο και Ευαγγελία για την πολύτιμη στήριξή τους, τόσο ψυχολογική όσο και υλική, χωρίς την οποία δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί κανένας μου στόχος.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	i
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	iv
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ.....	1
1.1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ.....	1
1.1.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ.....	1
1.1.3. ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ.....	3
1.1.4. ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ.....	4
1.1.5. ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ.....	5
1.1.6. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΕ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΥΣ.....	6
1.2. ΣΤΡΕΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.....	9
1.2.1. ΟΡΙΣΜΟΣ ΣΤΡΕΣ.....	9
1.2.2.ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥΣ ΣΤΡΕΣ.....	9
1.2.3.ΤΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΣΤΡΕΣ.....	10
1.2.4.ΟΞΥ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΟ ΣΤΡΕΣ.....	10
1.2.5.ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΣΤΡΕΣ.....	11
1.2.6.DESICCATION STRESS.....	13
1.2.7.STARVATION.....	15
1.2.8.ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.....	16
1.2.9.ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.....	18
1.2.10.ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.....	19
1.3 DROSOPHILA MELANOGASTER.....	20
1.3.1.ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.....	21
1.3.2. ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ.....	21
1.3.3.ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ DROSOPHILA MELANOGASTER.....	22
1.3.4.ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ.....	23

1.3.5.Η DROSOPHILA MELANOGASTER ΩΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ.....	24
1.3.6.ΑΝΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΣΗ D. MELANOGASTER.....	25
1.3.7.CLIMBING ASSAY / NEGATIVE GEOTAXIS	26
1.3.8.ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (FITNESS).....	27
1.3.9.ΓΗΡΑΝΣΗ DROSOPHILA MELANOGASTER.....	28
1.4.ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΓΕΩΤΑΞΙΑ	28
1.5 STRESS ΚΑΙ DROSOPHILA MELANOGASTER.....	29
1.6.DESICCATION ΣΤΡΕΣ & DROSOPHILA MELANOGASTER	30
1.7.STARVATION DROSOPHILA MELANOGASTER.....	31
1.8.OXIDATIVE STRESS	34
2. ΜΕΘΟΔΟΙ-ΥΛΙΚΑ.....	38
2.1 Πειραματικό υλικό	38
2.2 Καλλιέργεια και διατήρηση του πληθυσμού των εντόμων Drosophila melanogaster	39
2.3 Δημιουργία τροφής.....	40
2.4 Πειραματικό Πρωτόκολλο:.....	41
2.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΝΤΕΟ.....	41
2.6 Δυσκολίες της πειραματικής μελέτης.....	42
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	43
4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	49
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	51

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΣΚΟΠΟΣ: Η συγκεκριμένη έρευνα, είχε σαν σκοπό, την επίδραση του στρες στη διάρκεια ζωής, μέσω της φυσικής κατάστασης, στο πειραματικό μοντέλο *Drosophila Melanogaster* (αγρίου τύπου: Oregon-R).

ΜΕΘΟΔΟΣ: Οι μύγες αναισθητοποιήθηκαν σε ηλικία 40-60 ημερών (ανάλογα με το πείραμα), με διοξείδιο του άνθρακα, για να απομονωθούν τα αρσενικά στελέχη. Μετά από 24 ώρες γινόταν έλεγχος της ταχύτητας αναρρίχησης, των αρσενικών στελεχών (negative geotaxis assay), ξεχωριστά για το κάθε ένα (single fly), με κάμερα Conrad. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε και στα 3 πειράματα desiccation, starvation και οξειδωτικό στρες.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Στο desiccation και starvation στρες το προσδόκιμο ζωής δεν συσχετίστηκε με την καλή ή όχι φυσική κατάσταση των ζώων. Όμως, στο οξειδωτικό στρες, παρατηρήθηκε ότι οι μύγες που είχαν μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής, είχαν και καλύτερη φυσική κατάσταση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Επομένως, στο οξύ θανατογόνο οξειδωτικό στρες εμφανίστηκε το προβάδισμα της καλής φυσικής κατάστασης, στη διάρκεια ζωής, ενώ, το πολύ έντονο στρες (desiccation και starvation στρες) δεν άφησε να εξελιχθεί η συσχέτιση αυτή.

Λέξεις κλειδιά: Φυσική κατάσταση, Στρες, *Drosophila melanogaster*, Διάρκεια ζωής, Γήρανση

ABSTRACT

OBJECTIVE: This study aimed to study the relationship between state of physical status and lifespan under stressful conditions in the experimental model *Drosophila Melanogaster* (type: Oregon-R).

METHODS: Flies 40-60 days old were anesthetized with carbon dioxide to isolate the males. The climbing speed of every individual fly was measured by geotaxis assay with a Conrad camera 24 hours later. The same procedure was carried out in all 3 experiments on desiccation, starvation and oxidative stress.

RESULTS: In desiccation and starvation stress lifespan was not correlated with the physical condition of the animals. However, in oxidative stress, it was observed that flies that had a longer lifespan were in a better physical condition.

CONCLUSIONS: Thus, under oxidative stress, physical fitness predicts resistance to stress. Faster flies lived longer. In contrast, the very intense desiccation and starvation stresses did not allow this correlation to evolve.

Key words: Physical fitness, Stress, *Drosophila melanogaster*, Lifespan, Aging

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

Η φυσική κατάσταση είναι ένα σύνολο χαρακτηριστικών που σχετίζονται, είτε με την υγεία, είτε με τις δεξιότητες (Caspersen et al., 1985). Παρόλο που, ο όρος φυσική κατάσταση συμπεριλαμβάνει την ευημερία, δεν είναι ούτε υγεία, ούτε ευημερία, καθώς αυτοί είναι πολύ ευρύτεροι όροι από την φυσική κατάσταση. Κακή κατάσταση της υγείας μπορεί να επέλθει ακόμη και σε πολύ υγιείς ανθρώπους, εξαιτίας παραγόντων που είναι πέραν του προσωπικού ελέγχου, όπως είναι η κληρονομικότητα ή λοιμώξεις που προκαλούνται από βακτήρια ή ιούς (Corbin et Pangrazi, 2001).

1.1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Από το 1968 ο παγκόσμιος οργανισμός υγείας (WHO) είχε δώσει τον ορισμό της φυσικής κατάστασης ως «την ικανότητα να εκτελείται ικανοποιητικά η μυϊκή εργασία υπό συγκεκριμένες συνθήκες και μπορεί να εκτιμηθεί με

A) το μέγεθος, την διάρκεια και τον τύπο της μέγιστης άσκησης που ένα άτομο μπορεί να αντέξει

B) τη σχέση μεταξύ επιπέδου υπομέγιστης άσκησης και την ανταπόκριση του σώματος σε αυτή

Γ) και το βαθμό κόπωσης σε παρατεταμένη δραστηριότητα».

Το 1971 δόθηκε ένας γενικά αποδεκτός ορισμός της φυσικής κατάστασης από την αμερικανική κυβερνητική οργάνωση President's Council on Physical Fitness and Sports. Ορίσανε λοιπόν: «τη φυσική κατάσταση ως την ικανότητα του ατόμου να εκτελεί καθημερινά καθήκοντα με σθένος και εγρήγορση, χωρίς υπερβολική κόπωση και με άφθονη ενέργεια για να απολαμβάνει ψυχαγωγικές δραστηριότητες και να αντιμετωπίζει απρόβλεπτες καταστάσεις έκτακτης ανάγκης» (Clarke, 1971).

1.1.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Η φυσική κατάσταση περιλαμβάνει μια σειρά από μετρήσιμα στοιχεία. Τα πιο συχνά αναφερόμενα στοιχεία χωρίζονται σε δύο ομάδες: η μία σχετίζεται με την

υγεία και η άλλη σχετίζεται με δεξιότητες που αναφέρονται περισσότερο στις αθλητικές ικανότητες (Caspersen et al., 1985).

Στοιχεία φυσικής κατάστασης που σχετίζονται με την υγεία:

- Καρδιοαναπνευστική αντοχή: η ικανότητα του κυκλοφορικού και του αναπνευστικού συστήματος σύστημα παροχής οξυγόνου κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης σωματικής δραστηριότητας

- Σύνθεση σώματος: οι σχετικές ποσότητες μυών, λιπών, οστών και άλλων ζωτικών

μέρη του σώματος

- Μυϊκή δύναμη: η ικανότητα των μυών να ασκούν δύναμη

- Μυϊκή αντοχή: η ικανότητα του μυός να συνεχίσει να εκτελεί χωρίς κούραση

- Ευκαμψία: το εύρος κίνησης που υπάρχει σε μια άρθρωση

Στοιχεία σωματικής ικανότητας που σχετίζονται με τις δεξιότητες

- Ευκινησία: η δυνατότητα αλλαγής της θέσης του σώματος στο διάστημα με ταχύτητα και ακρίβεια

- Συντονισμός: η ικανότητα χρήσης των αισθήσεων, όπως η όραση και η ακοή, μαζί

με τα μέρη του σώματος να εκτελούν εργασίες ομαλά και με ακρίβεια

- Ισορροπία: η διατήρηση της ισορροπίας σε στάση ή κίνηση

- Ισχύς: η ικανότητα ή ο ρυθμός με τον οποίο μπορεί κανείς να εκτελέσει εργασία

- Χρόνος αντίδρασης: Ο χρόνος που μεσολάβησε μεταξύ της διέγερσης και της έναρξης αντίδρασης σε αυτό

- Ταχύτητα: η δυνατότητα εκτέλεσης μιας κίνησης μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα (Corbin et al, 2000).

Η φυσική κατάσταση είναι ένα σύνολο χαρακτηριστικών που οι άνθρωποι έχουν ή μπορούν να αναπτύξουν (Caspersen et al., 1985). Η συμμετοχή στην κατάλληλη σωματική άσκηση οδηγεί σε βελτίωση αυτών των φυσικών χαρακτηριστικών και συνεπώς της φυσικής κατάστασης. Ο βαθμός βελτίωσης καθορίζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η εκπαίδευση, η διατροφή, η ανάπαυση, οι ψυχολογικοί παράγοντες και η γενετική (Kokkinos, 2014).

1.1.3. ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Τα εργαλεία μέτρησης της σωματικής ικανότητας χωρίζονται σε 3 κατηγορίες:

1. Εργαστηριακό περιβάλλον
2. Επιδημιολογικές μελέτες
3. Ατομική αξιολόγηση

Τα τεστ σε αυτούς του τομείς μετρούν χωριστά τα στοιχεία της φυσικής κατάστασης με διαφορετικούς μηχανισμούς ή εργαλεία (U.S. Department of Health And Human Services, 1996). Μερικά όργανα μετράνε αερόβια ικανότητα, μυϊκή δύναμη, αντοχή, ευελιξία και ισορροπία. Άλλα μέσα, όπως τα ερωτηματολόγια ταξινομούν δραστηριότητες υπολογίζοντας καθημερινές ή επίπονες δραστηριότητες. Πολλά από τα τεστ είναι κατάλληλα για νέους και μέσης ηλικίας άτομα, αλλά είναι λιγότερο σχετικά με ηλικιωμένους (Caspersen et al., 1985).

Για παράδειγμα, στην έρευνα των Tvetter et al. (2014), που έγινε για τη μέτρηση της σωματικής ικανότητας που σχετίζεται με την υγεία στην φυσικοθεραπευτική πρακτική, χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης μάζας σώματος (BMI kg/m²) για να αξιολογηθεί η σύσταση του σώματος. Επιπλέον, εξετάστηκε η καρδιοαναπνευστική αντοχή με τρεις τρόπους, εργαστηριακά σε κυκλοεργόμετρο με το Astrand test, κλινικά με δοκιμασία 6 λεπτών περπάτημα και stair test και τέλος μέσω αυτό-αξιολόγησης, με ερωτηματολόγιο για αερόβια κατάσταση. Επίσης, αξιολογήθηκαν η μυϊκή δύναμη, η μυϊκή αντοχή και η ευκαμψία με αντίστοιχα τεστ.

Σε άλλη έρευνα που μελετήθηκαν οι μέγιστες ταχύτητες περπατήματος, η μυϊκή δύναμη και μέσω προσωπικής συνέντευξης η κινητικότητα, παρατηρήθηκε ότι ο αυτό-αναφερόμενος προκλινικός περιορισμός κινητικότητας αποτελεί έγκυρο μέτρο και εργαλείο για τον εντοπισμό ατόμων που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο για μελλοντικό περιορισμό της κινητικότητας (Manty et al., 2007).

1.1.4. ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Ως αποτέλεσμα, η φυσική κατάσταση είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην ικανότητα των ατόμων να εκτελούν συνήθεις καθημερινές δραστηριότητες και είναι ένα σημαντικό ζήτημα από άποψη δημόσιας υγείας (U.S. Department of Health and Human Services, 2018).

Η καλή φυσική κατάσταση φαίνεται να παίζει σπουδαίο ρόλο και στην ψυχολογία. Η έρευνα των Crowley et al. (2015) εξέτασε την συσχέτιση μεταξύ φυσικής κατάστασης και καταθλιπτικών συμπτωμάτων σε 300 στρατιώτες. Παρατηρήθηκε λοιπόν, ότι οι αναφορές καταθλιπτικών συμπτωμάτων ήταν 60% χαμηλότερες για τους στρατιώτες που ανήκαν στην κατηγορία υψηλής φυσικής κατάστασης, σε σύγκριση με αυτούς που είχαν κακή φυσική κατάσταση. Άλλη μία έρευνα η οποία έλεγξε 26 ηλικιωμένους, για 6 μήνες, με συνολικά 72 συνεδρίες άσκησης, δημιουργήθηκε με σκοπό να διερευνήσει τη μεταβολή της φυσικής κατάστασης, των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και της κατάθλιψης στους ηλικιωμένους. Παρατηρήθηκαν λοιπόν, στατιστικά σημαντικές βελτιώσεις στα καταθλιπτικά συμπτώματα και σε όλες τις δοκιμασίες για την φυσική κατάσταση, εκτός από τις δοκιμές ευκαμψίας (Branco et al., 2015).

Υπάρχουν σημαντικά στοιχεία ότι η φυσική κατάσταση και τα στοιχεία που την αποτελούν, μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο για ασθένεια και τον πρόωρο θάνατο (Paoli et al., 2015). Τα υψηλότερα επίπεδα φυσικής κατάστασης φαίνεται να καθυστερούν τη θνησιμότητα όλων των αιτιών, κυρίως λόγω των μειωμένων ποσοστών καρδιαγγειακών παθήσεων και καρκίνου. Οι εκτιμήσεις κινδύνου για τη θνησιμότητα από κάθε αιτία έδειξαν ότι η χαμηλή φυσική κατάσταση ήταν ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου τόσο για τους άνδρες όσο και για τις γυναίκες (Blair et al., 1989). Ακόμη ένα ισχυρό στοιχείο για την εκτίμηση της φυσικής κατάστασης και τον κίνδυνο θανάτου δίνει η έρευνα των Erikssen et al. (1998). Εξετάστηκαν, λοιπόν 2.014 υγιείς άντρες, 40-60 ετών, σε συνολική περίοδο παρακολούθησης 22 χρόνων και παρατήρησαν ότι η αλλαγή φυσικής κατάστασης ήταν ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας θνησιμότητας. Ακόμα και μικρές βελτιώσεις στη φυσική κατάσταση είναι συσχετισμένες με σημαντικά μειωμένο κίνδυνο θανάτου.

Επιπρόσθετα, από την έρευνα που έγινε σε 468 γυναίκες με ινομυαλγία και έλεγξε την σχέση μεταξύ φυσικής κατάστασης και πόνου, παρατηρήθηκε ότι η υψηλότερη φυσική κατάσταση συνδέεται με χαμηλότερα επίπεδα πόνου (Soriano-Maldonado et al., 2015). Ένα χαμηλό επίπεδο φυσικής κατάστασης είναι ευρέως συσχετισμένο με υποκινησία (Paoli et al., 2015) ενώ, η αύξηση της φυσικής δραστηριότητας όπως το περπάτημα, 5-7 ημέρες την εβδομάδα, συνδέεται με 50-80% μικρότερο κίνδυνο βλάβης της κινητικότητας (Clark, 1996).

1.1.5. ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ

Η γήρανση είναι μία πολυπαραγοντική και μη αναστρέψιμη διαδικασία που συνδέεται με σημαντική μείωση της μυϊκής μάζας και των νευρομυϊκών λειτουργιών (Cvecka et al., 2015). Αν και η απώλεια της μυϊκής μάζας σε ηλικιωμένους, οδηγεί σε συνολική μείωση του μεγέθους της παραγωγής δύναμης (Roos et al., 1997) η μείωση αυτή είναι πολύ πιο γρήγορη από την ταυτόχρονη απώλεια μυϊκής μάζας, γεγονός που υποδηλώνει έκπτωση της ποιότητας των μυών. Επιπλέον, η διατήρηση ή η αύξηση της μυϊκής μάζας δεν εμποδίζει τη μείωση της μυϊκής δύναμης που σχετίζεται με τη γήρανση (Goodpaster et al., 2006).

Η μυϊκή μάζα και η δύναμη τείνουν να μειώνονται κατά 30% -50% μεταξύ των ηλικιών 30 και 80 ετών (Daley et Spinks, 2000) και η μυϊκή ατροφία λόγω γήρανσης φαίνεται να αρχίζει γύρω στα 25 χρόνια και στη συνέχεια να επιταχύνει. Αυτό οφείλεται κυρίως σε απώλεια μυϊκών ινών, χωρίς κυρίαρχη επίδραση σε οποιονδήποτε τύπο ίνας και σε μικρότερο βαθμό σε μείωση του μεγέθους των ινών, κυρίως ινών τύπου 2 (Lexell et al., 1988).

Ο χρόνος αντίδρασης ορίζεται ως ο χρόνος που απαιτείται για την έναρξη κινητικής απόκρισης μετά από ένα οπτικό, ακουστικό ή άλλο αισθητήριο σήμα, θεωρείται ότι αντανακλά την ταχύτητα μετάδοσης από το κεντρικό νευρικό σύστημα. (Stelmach et Goggin., 1988). Η επιβράδυνση της ταχύτητας σε ηλικιωμένους είναι μεγαλύτερη σε εργασίες που απαιτούν πιο πολύπλοκη επεξεργασία, για να ξεκινήσει η κατάλληλη απόκριση (Melis et al., 2002). Καθώς επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι όσο η ταχύτητα αγωγής των μυϊκών ινών (Yamada

et al., 2002) τόσο και η ταχύτητα συστολής των μυών (Roos et al., 1997), είναι πολύ μικρότερη σε ηλικιωμένους από άτομα νεότερης ηλικίας.

Η σχετιζόμενη με την ηλικία κινητική βλάβη στους ανθρώπους είναι σημαντική κλινικά επειδή σχετίζεται με πολλές συννοσηρότητες και αυξημένο κίνδυνο θανάτου. Ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της σχετιζόμενης με την ηλικία κινητικής εξασθένησης στους ανθρώπους είναι η μείωση της ταχύτητας βάδισης με την ηλικία (Rhodenizer et al., 2008).

Ωστόσο, η μείωση της κινητικότητας με τη γήρανση γίνεται εμφανής νωρίς στην ενηλικίωση μόνο όταν η αξιολόγηση αφορά την απόδοση σε έντονες δοκιμασίες. Παραδείγματος χάριν, αν και ο ρυθμός πτώσης των 400 μέτρων περπατήματος είναι ήδη εμφανής στους συμμετέχοντες που εισήλθαν στη μελέτη σε ηλικία 20-25 ετών, η απόδοση στο τεστ γρήγορης ταχύτητας των 4 μέτρων, μειώνεται μόνο μετά την ηλικία των 40-50 ετών και η απόδοση στην συνήθη ταχύτητα των 4 μέτρων, είναι σχετικά σταθερή, μέχρι την ηλικία των 65-70 ετών. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η πρόωρη μείωση της κινητικότητας είναι ανιχνεύσιμη και μπορεί να καθοδηγήσει στρατηγικές πρόληψης (Ferrucci et al., 2016).

1.1.6. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΣΕ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΥΣ

Η πιο αργή ταχύτητα βάδισης που συνήθως αξιολογείται με τη συνήθη ταχύτητα βάδισης (δοκιμή βάδισης μικρής απόστασης με χρονομέτρηση), και άλλα κριτήρια απόδοσης της φυσικής κατάστασης (όπως ο χρόνος που απαιτείται για να σηκωθεί από μια καρέκλα και να καθίσει αρκετές φορές και η ισορροπία), συνδέονται σταθερά με την κακή ποιότητα ζωής (Guralnik et al., 1995).

Δημιουργήθηκε λοιπόν, το Senior Fitness test (SFT), που είναι μια σειρά δοκιμών για την αξιολόγηση της λειτουργικής ικανότητας των ηλικιωμένων και προσδιορίζει αν ένα άτομο μεγαλύτερης ηλικίας κινδυνεύει να χάσει τη λειτουργική του ικανότητα. Η δοκιμή αυτή αξιολογεί την φυσιολογική ικανότητα για την πραγματοποίηση φυσιολογικών καθημερινών δραστηριοτήτων με ανεξαρτησία και ασφάλεια χωρίς την εμφάνιση κόπωσης (Rikli et Jones, 2002). Οι δοκιμασίες αυτές γίνονται σε άτομα από 60- 90 χρονών και είναι οι εξής:

Senior Fitness Test	ΣΚΟΠΟΣ	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ
30-Second Chair Stand	Εκτίμηση δύναμης κάτω άκρων	Αριθμός πλήρων καθισμάτων που μπορεί να κάνει σε 30 δευτερόλεπτα με τα χέρια διπλωμένο στο στήθος.
Arm Curl:	Εκτίμηση δύναμης άνω άκρων	Αριθμός συσπάσεων δικεφάλου βραχιονίου που μπορεί να ολοκληρώσει σε 30 δευτερόλεπτα κρατώντας στο χέρι Βάρος 5 lbs (2.27 kg) για τις γυναίκες, 8lbs (3,63 kg) για τους άνδρες.
6-Minute Walk:	Αερόβια αντοχή	Αριθμός μέτρων που μπορεί να περπατήσει μέσα σε 6 λεπτά σε μια έκταση (45,7 μέτρα)
2-Minute Step Test:	Αερόβια αντοχή (εναλλακτικό test)	Αριθμός επαναλήψεων από το δεξί γόνατο να φθάνει στο απαιτούμενο ύψος (δηλ. σε ένα σημείο στο μέσον μεταξύ της επιγονατίδας (γόνατο) και λαγόνια κορυφή (άνω οστό ισχίου)
Chair Sit-and-Reach:	Ελαστικότητα κάτω άκρων	Από μια θέση καθιστή σε καρέκλα, με το πόδι εκτεταμένο και τα χέρια να φτάνουν προς τα δάκτυλα των ποδιών, ο αριθμός των ιντσών (cm) μεταξύ των εκτεταμένων δακτύλων και της άκρης των δακτύλων του ποδιού
Back Scratch:	Ελαστικότητα άνω άκρων (ώμου)	Με το ένα χέρι να φτάνει πάνω από τον ώμο και το άλλο ένα πίσω από την πλάτη, μετράται ο αριθμός των ιντσών (cm) μεταξύ εκτεταμένων μέσων δακτύλων
8-Foot Up-and-Go:	ευκινησίας / δυναμικής ισορροπίας	Ο αριθμός δευτερολέπτων που απαιτείται για να σηκωθεί από μια καθιστή θέση, να περπατήσει 8 πόδια (2.44m), να γυρίσει και να επιστρέψει στην καθιστή θέση

Το Senior Fitness test έχει χρησιμοποιηθεί σε πλήθος κλινικών δοκιμών (Dobek et al., 2013) και συνιστάται στη μέτρηση της φυσικής κατάστασης σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας με και χωρίς γνωσιακές δυσλειτουργίες, ενώ είναι κατάλληλο τόσο για έρευνα όσο και για κλινική χρήση (Langhammer et Stanghelle, 2015).

Όπως προαναφέρθηκε, το Senior Fitness test χρησιμοποιείται για αξιολόγηση φυσικής κατάστασης. Για παράδειγμα, χρησιμοποιήθηκε για να ελέγξει, την ηλικιοεξαρτώμενη μείωση της σωματικής δραστηριότητας και της λειτουργικής ικανότητας, μεταξύ των ηλικιωμένων ανδρών και γυναικών (Milanovic et al., 2013). Η μελέτη αυτή λοιπόν, διαπίστωσε ότι η μείωση του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας και της λειτουργικής ικανότητας, ήταν ίση τόσο για τους άνδρες, όσο και για τις γυναίκες και οφειλόταν στη διαδικασία της γήρανσης.

Επιπλέον, μέσω του ίδιου τεστ, που χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα των Alves et al. (2004), αξιολογήθηκε η συνεισφορά της υδρογυμανστικής στην διατήρηση της σωματικής ικανότητας ηλικιωμένων γυναικών. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά καθώς η ομάδα που έκανε υδρογυμανστική για 3 μήνες, είχε καλύτερη επίδοση σε όλες τις δοκιμασίες που έγιναν μετά την επίδραση της γυμναστικής, σε σχέση με τις αρχικές δοκιμασίες.

Υπάρχουν και παραλλαγές για την αξιολόγηση των ηλικιωμένων ασθενών, όπως έγινε στην έρευνα των Lin et al. (2016), που σε ηλικιωμένους από την Ταϊβάν εξέτασε την φυσική κατάσταση χρησιμοποιώντας την εξάλεπτη δοκιμασία βάδισης για τον έλεγχο αερόβιας αντοχής και τη δοκιμασία sit and reach για τον έλεγχο ελαστικότητας (Rikli et Jones 2002), ωστόσο για έλεγχο ισορροπίας χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Functional reach των Duncan et al. (1990).

Από έρευνα με δείγμα 173 ηλικιωμένων γυναικών παρατηρήθηκε ότι η ομάδα με το υψηλότερο επίπεδο σωματικής κατάστασης είχε τον χαμηλότερο κίνδυνο πτώσης σε σύγκριση με την ομάδα με το χαμηλότερο επίπεδο σωματικής ικανότητας (Jeoung, 2015). Τα υψηλά επίπεδα φυσικής κατάστασης, έδειξαν ότι μειώνουν τον κίνδυνο πτώσης και τραυματισμού, ενώ η αύξηση της καθιστικής ζωής έχει ως αποτέλεσμα σημαντική απώλεια μυϊκής δύναμης και αύξηση του υποδόριου λιπώδους ιστού (Milanovic et al., 2015).

1.2. ΣΤΡΕΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Στο σύγχρονο περιβάλλον, είναι συχνή η έκθεση σε διάφορες αγχωτικές συνθήκες. Το στρες μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγές επιπέδων πολλών ορμονών. Ορισμένες από αυτές τις αλλαγές, είναι απαραίτητες για την προστασία του ίδιου του οργανισμού. Μερικές από αυτές τις αγχωτικές αντιδράσεις, μπορούν να οδηγήσουν, σε ενδοκρινικές διαταραχές, όπως η νόσος του Graves και η παχυσαρκία. (Ranabir et Reetu, 2011).

1.2.1. ΟΡΙΣΜΟΣ ΣΤΡΕΣ

Από την εποχή του Αριστοτέλη και του Ιπποκράτη είχαν επίγνωση του στρες και των δυσμενών επιπτώσεών του. Ο πρώτος και γενικότερος ορισμός του στρες ήταν αυτός που πρότεινε ο Hans Selye: «Το άγχος είναι η μη ειδική απάντηση του σώματος σε οποιαδήποτε απαίτηση» (Fink, 2010) .

Το στρες είναι μια κατάσταση απειλητικής ομοιόστασης προκαλούμενη από εγγενείς ή εξωγενείς δυσμενείς δυνάμεις και αντιμετωπίζεται από ένα πολύπλοκο ρεπερτόριο φυσιολογικών και συμπεριφορικών αποκρίσεων που στοχεύουν στη διατήρηση / αποκατάσταση της βέλτιστης ισορροπίας του σώματος (Chrousos, 2009). Όπως αναφέρεται και από τον Yehuba (2002), η απομάκρυνση του στρες προκαλεί βιολογικές αντιδράσεις που αποκαθιστούν την ομοιόσταση, προωθώντας την επιστροφή της βασικής λειτουργίας του οργανισμού.

1.2.2.ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥΣ ΣΤΡΕΣ

Η προσαρμοστική απόκριση του στρες είναι εξαιρετικά διασυνδεδεμένη με την νευροενδοκρινική, κυτταρική και μοριακή υποδομή. Βασικά συστατικά του συστήματος στρες είναι ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) και το αυτόνομο νευρικό σύστημα, το οποίο αλληλεπιδρά με άλλα ζωτικά σημεία στο κεντρικό νευρικό σύστημα και τους ιστούς / όργανα στην περιφέρεια, κινητοποιώντας επιτυχημένη προσαρμοστική ανταπόκριση, έναντι των επιβαλλόμενων παραγόντων άγχους (Tsigos et al., 2016). Δηλαδή, η ενεργοποίηση του συστήματος στρες, οδηγεί σε συμπεριφορικές και περιφερικές αλλαγές, που βελτιώνουν την ικανότητα του οργανισμού, να προσαρμόζει την ομοιόσταση και να αυξάνει τις πιθανότητες επιβίωσης (Chrousos et Gold, 1992).

Η δυσλειτουργία όμως, του συστήματος αυτού (υπερ- ή υπο-ενεργοποίηση) σε συνδυασμό με ισχυρό και / ή χρόνιο στρες μπορεί να διαταράξει σημαντικά την ομοιοστασία του σώματος οδηγώντας σε κατάσταση χειροτέρευσης (cacostasis) ή αλλόστασης, σε ένα φάσμα κλινικών εκδηλώσεων (Tsigos et al., 2016).

1.2.3.ΤΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΣΤΡΕΣ

Το άγχος μπορεί να περιγραφεί με βάση τη διάρκεια σε οξύ ή χρόνιο. Οι παράγοντες που προκαλούν στρες, έχουν μεγάλη επίδραση στη διάθεση, στην αίσθηση ευημερίας, συμπεριφοράς και υγείας. Το οξύ στρες, στα νεαρά, υγιή άτομα μπορεί να είναι προσαρμοστικές και συνήθως, δεν επιβάλλουν επιβάρυνση στην υγεία. Ωστόσο, οι μακροχρόνιες επιπτώσεις των στρεσογόνων παραγόντων μπορούν να βλάψουν την υγεία (Schneiderman et al., 2005).

Σε έναν οργανισμό, διάφοροι παράγοντες άγχους, ενεργοποιούν ένα ευρύ φάσμα αλληλεπιδρώντων ορμονικών και νευρωνικών συστημάτων, με αποτελέσματα στη συμπεριφορά (διαταραχές άγχους, μείωση της πρόσληψης τροφής, μείωση της σεξουαλικής συμπεριφοράς και απώλεια γνωστικής λειτουργίας) και φυσιολογικές αντιδράσεις (ενεργοποίηση του άξονα των επινεφριδίων της υπόφυσης) (Henry et al., 1977).

1.2.4.ΟΞΥ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΟ ΣΤΡΕΣ

Το οξύ στρες συνδέεται συνήθως με την καταστολή της σίτισης και τη μείωση του σωματικού βάρους. Η ενεργοποίηση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων και η απελευθέρωση της εκλυτικής ορμόνης της κορτικοτροπίνης (CRH), μπορεί να εξηγήσει μερικώς τις ανορεξικές επιδράσεις από το οξύ στρες. Η CRH μπορεί επίσης να διεγείρει την απελευθέρωση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και της κατεχολαμίνης, προκαλώντας απώλεια βάρους, μέσω των επιδράσεων τους στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό (Rabasa et Dickson, 2016). Επιπλέον, το οξύ άγχος μπορεί να πυροδοτήσει διάφορες ασθένειες, όπως έκζεμα, άσθμα, δυσπεψία, ημικρανίες, κρίσεις πανικού ή ψυχωσικά επεισόδια (Chrousos, 2009). Οι παράγοντες που προκαλούν οξύ στρες (διαρκεί λεπτά), συσχετίστηκαν με δυνητικά προσαρμοστική αύξηση ορισμένων

παραμέτρων φυσικής ανοσίας και μείωσης ορισμένων ρυθμίσεων ειδικής ανοσίας (Segerstrom et Miller, 2004).

Από την άλλη μεριά, το χρόνιο στρες μπορεί να προκαλέσει φυσιολογική δυσλειτουργία, συμπεριλαμβανομένης της εξασθενημένης καρδιαγγειακής, ενδοκρινικής και ανοσολογικής λειτουργίας. Για παράδειγμα, το χρόνιο στρες ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα με έναν τρόπο που οδηγεί σε φλεγμονή. Η μακροχρόνια έκθεση στα προϊόντα της φλεγμονής, εμφανίζει συμπτώματα κατάθλιψης και αθηροσκλήρωσης και έτσι υποκρύπτει καρδιακή νόσο (Miller & Blackwell, 2006, Rabasa et Dickson, 2016).

Επιπρόσθετα, το χρόνιο στρες μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολική κατανάλωση τροφής, αυξημένη σπλαχνική λιπώδη ικανότητα και αύξηση βάρους. Αυτές οι επιδράσεις του στρες, εξηγούνται κυρίως από την χρόνια απελευθέρωση, των γλυκοκορτικοειδών και του νευροπεπτιδίου Υ (Rabasa et Dickson, 2016). Ασθένειες που προκαλούνται από χρόνιο στρες, περιλαμβάνουν την υπέρταση, την παχυσαρκία, την οστεοπόρωση, την αϋπνία, την κατάθλιψη και εμφάνιση εξανθήματος (Chrousos, 2009). Οι χρόνιοι παράγοντες άγχους συσχετίστηκαν με την καταστολή κυτταρικής και χυμικής ανοσίας (Segerstrom et Miller, 2004). Ταυτόχρονα έχει βρεθεί ότι, το χρόνιο στρες διαταράσσει τις προστατευτικές συμπεριφορές στην υγεία, όπως η άσκηση, ο ύπνος και η υγιεινή διατροφή, και μπορεί να οδηγήσει σε περισσότερες ανθυγιεινές και επικίνδυνες συμπεριφορές, όπως το κάπνισμα και η χρήση ουσιών (Shaver et al. 2002, Sinha, 2008).

Τέλος, από δείγμα 816 γυναικών, η εμφάνιση μείζωνων καταθλιπτικών επεισοδίων, συσχετίστηκε σημαντικά τόσο με το χρόνιο όσο και με το οξύ στρες. Το χρόνιο άγχος συσχετίστηκε με κάποιο οξύ γεγονός και υπήρξε μια τάση που υποδήλωνε ότι το αυξημένο οξύ άγχος, συνδέεται ισχυρότερα με την κατάθλιψη σε άτομα με υψηλό έναντι χαμηλού επιπέδου χρόνιου στρες (Hammen et al., 2009).

1.2.5.ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΣΤΡΕΣ

Από την έρευνα των Roth et Holmes, (1985), εξετάστηκε το κατά πόσο η φυσική κατάσταση (αερόβια ικανότητα), μείωσε τη σχέση μεταξύ αγχωτικών

συμβάντων ζωής και επακόλουθων ασθενειών, σε άτομα ηλικίας 17-31 ετών. Εφόσον, έγινε στα άτομα λήψη ιστορικού, εξετάστηκαν για την φυσική τους κατάσταση μέσω υπομέγιστης δοκιμασίας σε ποδήλατο και για το άγχος μέσω ερωτηματολογίων. Προέκυψε ότι, το υψηλό επίπεδο άγχους κατά τη διάρκεια του προηγούμενου έτους, σχετίζεται με την χειρότερη επακόλουθη σωματική υγεία για τους ασθενείς με χαμηλό επίπεδο φυσικής κατάστασης. Το στρες, είχε ελάχιστη επίδραση, στην επακόλουθη σωματική υγεία των ατόμων με καλύτερη φυσική κατάσταση. Επιπλέον, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η φυσική κατάσταση μετριάζει τη σχέση άγχους- ασθένειας και υποδηλώνει ότι η αύξηση της φυσικής κατάστασης, μπορεί να είναι ένας τρόπος μείωσης των επιπτώσεων του στρες (Roth et Holmes, 1985) .

Από άλλη έρευνα, που αξιολόγησε την επίδραση της σωματικής άσκησης για 12 μήνες σε σχέση με τα συμπτώματα στρες και την καρδιοαναπνευστική κατάσταση σε 371 υγιείς ενήλικες, παρατηρήθηκε ότι μια παρέμβαση σωματικής άσκησης ενός έτους, βελτίωσε την ψυχική υγεία μεταξύ των ενήλικων και αυτό συνδέθηκε με τη βελτίωση της καρδιοαναπνευστικής ικανότητας. Οι θετικές αλλαγές παρέμειναν μετά τη δωδεκάμηνη παρακολούθηση. Πιο συγκεκριμένα, κατά την διάρκεια της παρέμβασης, τα συμπτώματα του στρες μειώθηκαν 16% και η καρδιοαναπνευστική κατάσταση αυξήθηκε κατά 7%. Στην υπο-ομάδα με τα περισσότερα συμπτώματα στρες, τα συμπτώματα κατά την παρέμβαση μειώθηκαν κατά 26%. Η καλή φυσική κατάσταση συνδέθηκε με τη βελτίωση ψυχολογικής ευεξίας μεταξύ των νέων ανδρών και των ενηλίκων που εργάζονται (Kettunen et al., 2015).

Από βιβλιογραφική ανασκόπηση, εξετάστηκε η σχέση του ψυχολογικού άγχους και της σωματικής δραστηριότητας. Το ψυχολογικό στρες προβλέπει λιγότερη φυσική δραστηριότητα και/ή άσκηση ή περισσότερο καθιστική συμπεριφορά (76,4%). Οι προοπτικές μελέτες αντικειμενικών δεικτών άγχους δείχνουν ότι το άγχος έχει αρνητική επίδραση στην φυσική δραστηριότητα. Ωστόσο, παρατήρησαν ότι μελέτες αναφέρουν στοιχεία, που αποδεικνύουν ότι η φυσική δραστηριότητα, επηρεάστηκε θετικά από το στρες. Αυτό ίσως να στηρίζεται, στο γεγονός ότι ορισμένα άτομα χρησιμοποιούν την άσκηση για να αντιμετωπίσουν το στρες (Stults –Kolehmainen et Sinha, 2014).

Τέλος, για να προσδιοριστεί, αν η συμμετοχή στη σωματική δραστηριότητα επηρεάζει την ψυχολογική ευημερία, εξετάστηκαν 147 έφηβοι. Η ανάλυση αποκάλυψε ότι όσοι ανέφεραν μεγαλύτερη φυσική δραστηριότητα ανέφεραν επίσης λιγότερο άγχος και χαμηλότερα επίπεδα κατάθλιψης. Τα επίπεδα αερόβιας ικανότητας, ο καρδιακός ρυθμός, η αρτηριακή πίεση και η αυτο-αξιολόγηση του στρες και της ευεξίας, μετρήθηκαν πριν και μετά από 10 εβδομάδες προπόνησης. Τα άτομα που υποβλήθηκαν σε αερόβια άσκηση υψηλής έντασης, ανέφεραν σημαντικά λιγότερο στρες, από τα άτομα στις υπόλοιπες τρεις ομάδες. Με αυτό το πείραμα υπολογίζεται, ότι σε έναν έφηβο πληθυσμό, η αερόβια άσκηση υψηλής έντασης έχει θετικές επιδράσεις στην ευημερία (Norris et al., 1992).

Συμπερασματικά, παρατηρείται ότι η καλή φυσική κατάσταση μετριάξει το άγχος και αντίστροφα, η αύξηση της φυσικής κατάστασης, μέσω προπόνησης, μειώνει τις επιπτώσεις του στρες.

1.2.6.DESICCATION STRESS

Η μελέτη των Kottusch et al., (2009), που έλαβε υπόψη εκθέσεις του λαϊκού τύπου, παρουσιάζοντας τις αντοχές του ανθρώπινου οργανισμού, μετά από ατυχήματα, στα οποία τα θύματα παγιδεύτηκαν ή θάφτηκαν ζωντανά. Συνολικά, φαίνεται ότι είναι δυνατόν να επιβιώσουν χωρίς φαγητό και νερό, εντός χρονικού διαστήματος 8 έως 21 ημερών. Εάν ένα άτομο στερείται μόνο τροφής, ο χρόνος επιβίωσης μπορεί να φτάσει ακόμη και σε περίπου δύο μήνες, ωστόσο, αυτό επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες (Kottusch et al., 2009).

Επειδή τα πειράματα με τους ανθρώπους είναι ηθικά απαράδεκτα. Η έρευνα των Puhlev et al. (2001), επεξεργάστηκε την αντοχή στο desiccation stress σε ανθρώπινα κύτταρα. Το πιο σημαντικό εύρημα είναι ότι το κενό ενισχύει σημαντικά την ικανότητα των ανθρώπινων κυττάρων να αντέχουν στο desiccation stress. Εκτός από το κενό, ο ρυθμός αποξήρανσης, η θερμοκρασία στην οποία διατηρούνται τα κύτταρα, ο βαθμός ροής της αποξήρανσης και η παρουσία ή απουσία φωτός, έχουν μεγάλη επίδραση στην ικανότητα να διατηρείται η βιωσιμότητα στην αποξηραμένη κατάσταση.

Οι άνθρωποι δεν μπορούν να επιβιώσουν χωρίς νερό, παρά μόνο για μέρες. Το νερό αποτελείται από 75% σωματικού βάρους σε βρέφη έως 55% σε ηλικιωμένους και είναι απαραίτητο για την κυτταρική ομοίωση και τη ζωή (Nicolaidis, 1998). Μετά την στέρηση του νερού, οι ηλικιωμένοι είναι λιγότερο διψασμένοι και πίνουν λιγότερα υγρά σε σύγκριση με τους νεότερους (Phillips et al., 1984). Η μείωση της κατανάλωσης υγρών οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μείωση της δίψας, καθώς η σχέση μεταξύ δίψας και πρόσληψης υγρών είναι η ίδια στους νέους και τους ηλικιωμένους. Οι ηλικιωμένοι καταναλώνουν ανεπαρκή ποσότητα νερού, ύστερα από έλλειψη υγρών, για την αναπλήρωση του ελλείμματος νερού του σώματος τους (Mack et al., 1994).

Η συντριπτική πλειοψηφία από υγιείς ανθρώπους ικανοποιούν επαρκώς τις καθημερινές ανάγκες τους σε ενυδάτωση, αφήνοντας την αίσθηση της δίψας τους για οδηγό, όπως αναφέρει το Medicine of the National Academies . Η έκθεση για την πρόσληψη νερού, με βάση λεπτομερή εθνικά δεδομένα, έδειξε ότι οι γυναίκες που φαίνεται να είναι επαρκώς ενυδατωμένες καταναλώνουν κατά μέσο όρο περίπου 2,7 λίτρα ολικού νερού - από όλα τα ποτά και τα τρόφιμα - και οι άνδρες μέσος όρος περίπου 3,7 λίτρα καθημερινά. Αυτές οι τιμές αντιπροσωπεύουν επαρκή επίπεδα πρόσληψης. Όσοι είναι πολύ σωματικά δραστήριοι ή ζουν σε θερμά κλίματα μπορεί να χρειαστεί να καταναλώσουν περισσότερο νερό. Περίπου το 80% του συνολικού όγκου νερού στον άνθρωπο, προέρχεται από πόσιμο νερό και ποτά συμπεριλαμβανομένων των ποτών που περιέχουν καφεΐνη - και το άλλο 20% προέρχεται από τρόφιμα (Institute of Medicine, 2005).

Στην έρευνα των López-Samanes et al. (2018) μετρήσανε την ανταπόκριση των συγκεντρώσεων κορτιζόλης (ορμόνη του stress) σ' έναν επαγγελματικό αγώνα τένις και τη σχέση της με την κατάσταση ενυδάτωσης και τις νευρομυϊκές επιδόσεις. Οι συσχετίσεις μεταξύ των αυξήσεων της κορτιζόλης και της αφυδάτωσης, κατά τη διάρκεια του αγώνα ήταν σημαντικές. Οι επαγγελματίες άνδρες τενίστες, δεν εμφάνισαν αναμενόμενη αύξηση στην κορτιζόλη την ημέρα του αγώνα και ούτε σημάδια νευρομυϊκής κόπωσης μετά από αυτό. Κατά τη διάρκεια του αγώνα, η ήπια αφυδάτωση (δηλ., <1,5%) συσχετίστηκε με τις αυξήσεις των επιπέδων κορτιζόλης, πράγμα που υποδηλώνει ότι η αφυδάτωση μπορεί να είναι ένα πρόσθετο στρες που πρέπει να ληφθεί υπόψη. Από την άλλη μεριά, η έρευνα των Hoffman et al. (1994) που εξέτασαν την επίδραση της

ενυδάτωσης πριν την άσκηση και της πρόσληψης νερού κατά τη διάρκεια άσκησης χαμηλής έντασης στη θερμότητα (33 βαθμοί C), βρήκαν ότι τα μέτρια επίπεδα αφυδάτωσης κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης άσκησης, χαμηλής έντασης στη θερμότητα, δεν επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις τεστοστερόνης, κορτιζόλης ή αδρεναλίνης στο πλάσμα.

1.2.7.STARVATION

Η έλλειψη τροφής (λιμοκτονία) είναι μια σοβαρή ανεπάρκεια στην πρόσληψη θερμιδικής ενέργειας, κάτω από το επίπεδο που απαιτείται για τη διατήρηση της ζωής ενός οργανισμού. Στον άνθρωπο, η παρατεταμένη πείνα μπορεί να προκαλέσει μόνιμη βλάβη στα όργανα και τελικά, θάνατο (Stratton et al., 2003).

Για τις πρώτες ημέρες της λιμοκτονίας το σώμα χρησιμοποιεί αποθέματα γλυκογόνου στο ήπαρ και στους μύες (Keeton, 1993). Αυτό συνοδεύεται από την παραγωγή γλυκογόνου, με σημαντική απώλεια βάρους. Η επόμενη φάση διαρκεί μέχρι την 10-14 ημέρα, κατά τη διάρκεια όπου οι αποθήκες γλυκογόνου εξαντλούνται και ορισμένα αμινοξέα αναλαμβάνουν την δημιουργία γλυκογόνου. Αυτό σχετίζεται με απώλεια μυών, συμπεριλαμβανομένου του καρδιακού μυός. Στην τελική φάση, η πρωτεΐνη προστατεύεται, έτσι ώστε να σχηματίζει μόνο περίπου το 10% της ενέργειας. Η περισσότερη ενέργεια προέρχεται από κετόνες που παράγονται από την κατανομή των λιπαρών οξέων. Όταν χρησιμοποιούνται αποθέματα λίπους, υπάρχει καταστροφικός καταβολισμός πρωτεϊνών, αλλά γενικά εμφανίζονται και άλλες επιπλοκές (Peel, 1997).

Από μια ομάδα οκτώ απεργών πείνας που αρνήθηκαν την τροφή για 43 ημέρες, υπολογίστηκαν τα αποθέματα ύδατος και ενέργειας, με στόχο να εκτιμηθεί ο αντίκτυπος της προοδευτικής πείνας. Ο μέσος όρος ηλικίας της ομάδας ήταν 43,3 +/- 6,2 έτη (επτά άνδρες, μία γυναίκα). Μόνο νερό, βιταμίνες και ηλεκτρολύτες λήφθηκαν, και η μέση απώλεια βάρους έφθασε το 17,9%. Το σωματικό λίπος μειώθηκε περίπου κατά 60%, ενώ ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), μειώθηκε μόνο 18%. Το συνολικό νερό ήταν χαμηλό και η συνολική αντοχή του σώματος συγκριτικά αυξημένη, αυτά τα ευρήματα αντιστράφηκαν γρήγορα κατά την ενδοφλέβια ταχεία ενυδάτωση. Στο τέλος της περιόδου πείνας, το BMI (21,5 +/- 2,6 kg/m²) και οι περισσότεροι ανθρωπομετρικοί προσδιορισμοί

ήταν ακόμη αποδεκτοί, υποδηλώνοντας την αποτελεσματική εξοικονόμηση ενέργειας και μυών. Συμπερασματικά, όλα τα αποθέματα μειώθηκαν κατά τη διάρκεια της νηστείας, αλλά το σωματικό λίπος ήταν μακράν το πιο επηρεασμένο (Faintuch et al., 2000).

Συμπληρωματικά, από άλλη έρευνα, προτείνεται ότι η πλήρης νηστεία, χωρίς συμπλήρωση μεταλλικών στοιχείων ή βιταμινών, δεν θα πρέπει να συνιστάται. Αυτό προέκυψε από τους Consolazio et al. (1967), όπου παρατήρησαν ότι στο τέλος των 10 ημερών στέρησης τροφής, οι άντρες ήταν σε πολύ κακή κατάσταση τόσο σωματικά όσο και διανοητικά. Και επιπλέον, φάνηκε ότι υπήρχε αυξημένη αδυναμία, συχνά κενά μνήμης, καθώς και μυϊκές κράμπες. Δεν παρατηρήθηκαν προβλήματα όμως, κατά την αποκατάσταση. Οι άνδρες έτρωγαν όλα τα επιθυμητά είδη διατροφής και μολονότι δεν είχαν παρατηρηθεί σχεδόν καθόλου κινήσεις του εντέρου κατά τη διάρκεια της ασιτίας, τις απέκτησαν εντός 6-8 ωρών από το πρώτο γεύμα.

Από την νηστεία 50 ημερών που έκανε άντρας ηλικίας 34 ετών (96,8 kg, BMI, 30,2 kg m⁻¹), ενώ κατανάλωνε μόνο τσάι, καφέ, νερό και μια πολυβιταμίνη καθημερινά, καταγράφηκε σοβαρή και γραμμική απώλεια σωματικής μάζας (τελική 75,4 kg, BMI, 23,5 kg m⁻¹). Παρατηρήθηκε, εκπληκτική ανθεκτικότητα της νηστείας στο επίπεδο δραστηριότητας και φυσικής λειτουργίας ωστόσο, βρέθηκε πρόωρη εξασθένηση της ηπατικής λειτουργίας και διαταραχή στην καρδιαγγειακή δυναμική. Ένα μήνα μετά την επανάληψη της συμπεριφοράς διατροφής, το σωματικό βάρος διατηρήθηκε (75,0 kg, BMI, 23,4 kg m⁻¹) (Elliott et al., 2016).

Τέλος, παρατηρήθηκε ότι η λιμοκτονία είναι μία από τις σημαντικότερες επιλεκτικές πιέσεις στο ανθρώπινο γονιδίωμα, που άφησε άφθονα στοιχεία προσαρμοστικών χαρακτηριστικών επιβίωσης (Prentice, 2005).

1.2.8.ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Το οξειδωτικό στρες είναι : «η κατάσταση στην οποία η οξειδωση υπερβαίνει το αντιοξειδωτικό σύστημα στο σώμα, από την απώλεια στην ισορροπία μεταξύ τους» (Yoshikawa et Naito, 2002). Άλλος ορισμός όπως αναφέρεται είναι «Το οξειδωτικό στρες είναι μια κατάσταση κατά την οποία η σταθεροποιημένη συγκέντρωση ROS είναι προσωρινά ή χρονικά ενισχυμένη, διαταράσσοντας τον

κυτταρικό μεταβολισμό, την λειτουργία του και καταστρέφοντας τα κυτταρικά συστατικά» (Lushchak, 2014).

Τα ενεργά είδη οξυγόνου (ROS) παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς ως αποτέλεσμα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού (Birben et al., 2012). Σε χαμηλές έως μέτριες συγκεντρώσεις λειτουργούν σε φυσιολογικές διαδικασίες των κυττάρων. Όπως η σηματοδότηση και η ρύθμιση των ινσουλίνης των αντιοξειδωτικών, η προσαρμοστική πρωτεϊνική σύνθεση και η βιογένεση μιτοχονδρίων, εξαρτώνται από την αύξηση της παραγωγής ROS υπό φυσιολογικές συνθήκες όπως η άσκηση (Matsuda et Shimomura, 2013). Αλλά σε υψηλές συγκεντρώσεις, προκαλούν δυσμενείς τροποποιήσεις στα κυτταρικά συστατικά όπως στα λιπίδια, στις πρωτεΐνες και στο DNA (Ozougwu, 2016) και προκάλεσε πολλές ανθρώπινες διαταραχές, συμπεριλαμβανομένου του διαβήτη τύπου 2 και της παχυσαρκίας (Matsuda et Shimomura, 2013). Παρ' ότι τα ROS από εξωγενείς πηγές, όπως υπεριώδη ακτινοβολία, όζον ή περιβαλλοντική μόλυνση, μπορεί να επιτεθούν σε βιομόρια, στις περισσότερες περιπτώσεις η μεγαλύτερη απειλή φαίνεται να προέρχεται από ενδογενή παραγωγή ROS (Balaban et al., 2005).

Ενδοκυττάρια οργανίδια, όπως τα μιτοχόνδρια, το ενδοπλασματικό δίκτυο, τα υπεροξυσωμάτια, αλλά και άλλες κυτταρικές θέσεις έχουν εντοπιστεί ως σημεία παραγωγής O₂ και H₂O₂ κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Για τον λόγο αυτόν, οι αερόβιοι οργανισμοί έχουν αναπτύξει αποτελεσματικά αμυντικά συστήματα απομάκρυνσης των εν λόγω ενώσεων. Με τον τρόπο αυτόν μπορούν και αντεπεξέρχονται στην οξειδωτική πίεση που δέχονται περιοδικά. Μόνον όταν υπερκεραστούν οι υπάρχοντες μηχανισμοί και διαταραχθεί η οξειδοαναγωγική ισορροπία των κυττάρων, γίνονται εμφανείς οι βλαπτικές επιδράσεις, της υπερβολικής παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (οξειδωτικό στρες) (Sies, 1985). Όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου, οργανικό υδροϋπεροξειδίο, νιτρικό οξείδιο, υπεροξειδίο, κλπ (Rahman et al., 2012).

Η αυξημένη δραστηριότητα των τριών κύριων συστημάτων φυσιολογικού στρες (ανοσοφλεγμονώδες σύστημα, άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HA-άξονας) και αυτόνομο νευρικό σύστημα (ΑΝΣ) αποτελεί μέρος της παθοφυσιολογίας διαφόρων σωματικών και ψυχιατρικών ασθενειών. Η

οξειδωτική βλάβη είναι ένας βασικός μηχανισμός τόσο στη γήρανση όσο και στην ασθένεια. Η συγκεκριμένη έρευνα, έδειξε ότι οι δείκτες φλεγμονής, ο άξονας HPA και το ANΣ σχετίζονται με οξειδωτική βλάβη του DNA. Η οξειδωτική βλάβη των λιπιδίων σχετίζεται με τη φλεγμονή και το ANΣ. Η αυξημένη φυσιολογική καταπόνηση των συστημάτων συσχετίζεται με την αύξηση της οξειδωτικής βλάβης με τρόπο δόσης-απόκρισης (Black et al., 2017).

1.2.8.1.ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Η γήρανση είναι απώλεια ομοιόστασης λόγω χρόνιου οξειδωτικού στρες που επηρεάζει ιδιαίτερα τα ρυθμιστικά συστήματα, όπως το νευρικό, ενδοκρινικό και ανοσοποιητικό σύστημα. Η επακόλουθη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος προκαλεί μια φλεγμονώδη κατάσταση που δημιουργεί έναν φαύλο κύκλο στον οποίο το χρόνιο οξειδωτικό στρες και η φλεγμονή, τροφοδοτούνται μεταξύ τους και συνεπώς, αυξάνει τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα, που σχετίζονται με την ηλικία (Liguori et al., 2018). Πιο συγκεκριμένα, ο οργανισμός δεν είναι σε θέση να επιδιορθώσει όλα αυτά και με το πέρασμα του χρόνου, οι ακατάλληλες βλάβες συσσωρεύονται και θέτουν τον οργανισμό σε κίνδυνο: με άλλα λόγια, οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν γήρανση και θάνατο (Le Bourg, 2001).

Η αιτιολογία της ηλικιοεξαρτώμενης αύξησης του οξειδωτικού στρες μπορεί να συνδεθεί με τρεις διαφορετικούς παράγοντες: 1) την αύξηση του ρυθμού δημιουργίας των ROS, 2) Την μείωση της αντιοξειδωτικής άμυνας, και 3) τη μείωση στην αποτελεσματικότητα της επιδιόρθωσης ή της απομάκρυνσης των κατεστραμμένων μορίων. Οι ρυθμοί παραγωγής O_2 και H_2O_2 από τα μιτοχόνδρια, που αποτελούν την κύρια πηγή παραγωγής, αυξάνονται με την ηλικία, σε πολλά διαφορετικά όργανα θηλαστικών και σε έντομα (Turrens et McCord, 1990). Ταυτόχρονα, το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται σε διάφορες ηλικιοεξαρτώμενες παθήσεις, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, χρόνια νεφρική νόσο, νευροεκφυλιστικές ασθένειες και καρκίνο, συμπεριλαμβανομένης της σαρκοπενίας και της αδυναμίας (Liguori et al., 2018).

1.2.8.2.ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Η "άσκηση", που είναι μια υποκατηγορία σωματικής δραστηριότητας και χαρακτηρίζεται από προγραμματισμό, δομή, σταθερότητα και με στόχο τη βελτίωση ή τη διατήρηση μιας ή περισσότερων πτυχών φυσικής κατάστασης (Simioni et al.,2018). Η τακτική άσκηση ανακουφίζει τις αρνητικές επιδράσεις που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες και προσφέρει πολλά οφέλη για την υγεία, συμπεριλαμβανομένου του μειωμένου κινδύνου θνησιμότητας από όλες τις αιτίες, της σαρκοπενίας, των χρόνιων ασθενειών και του πρόωρου θανάτου σε ηλικιωμένους (Simioni et al.,2018).

Η σωματική δραστηριότητα, βελτιώνει την αντιοξειδωτική άμυνα και μειώνει τα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης τόσο σε ενήλικα όσο και σε ηλικιωμένα άτομα. Τα ηλικιωμένα σωματικά ενεργά άτομα, εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση και επίπεδα υπεροξειδωσης λιπιδίων, παρόμοια με τα νεαρά άτομα που κάνουν καθιστική ζωή (Bouزيد et al., 2018).

Μια παρέμβαση μέσω σωματικής άσκησης για τους επιζήσαντες από καρκίνο, μπορεί να είναι μια αποτελεσματική μέθοδος ταυτόχρονης αύξησης της μυϊκής δύναμης, της αντιοξειδωτικής ικανότητας και ταυτόχρονης μείωσης των δεικτών οξειδωτικού στρες (Repka et Hayward, 2016).

Άλλη μία έρευνα με θετικές επιδράσεις στη φυσική και ταυτόχρονη μείωση του οξειδωτικού στρες αποτελεί η έρευνα των Kaewbutta et al. (2016). Χρησιμοποίησαν ως αντιοξειδωτική ουσία, την κατανάλωση χυμού μήλου για 12 εβδομάδες σε 45 υγιείς ηλικιωμένους. Τα άτομα έλαβαν 1000ml χυμό μήλου ή placebo μια φορά την ημέρα. Τα άτομα που κατανάλωσαν χυμό μήλου παρουσίασαν βελτιωμένη κατάσταση οξειδωτικού στρες, καθώς και βελτιωμένη φυσική κατάσταση (30- second chair test, 6-minute walk test).

Τέλος, από την μελέτη των Traustadottir et al. (2012), έγινε σύγκριση σε 37 άτομα με καλή φυσική κατάσταση (μέση ηλικία 65,2± 5 έτη) και 35 άτομα που δεν είχαν καλή φυσική κατάσταση (μέσης ηλικίας 67,7±4 έτη) άνδρες και γυναίκες. Τα άτομα με καλή φυσική κατάσταση, είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ουροδόχων δεικτών οξειδωτικής βλάβης και χαμηλότερης απόκρισης F2-ισοπροσάνης στην οξειδωτική πρόκληση, αλλά δεν υπήρχαν ομαδικές διαφορές στην αντιοξειδωτική κατάσταση. Τα χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικού στρες στα

άτομα με καλή φυσική κατάσταση, δεν είχαν μεσολαβήσει από γνωστά αποτελέσματα άσκησης, όπως το πάχος, οι συγκεντρώσεις HDL ή τα αντιοξειδωτικά μικρού μοριακού βάρους. Τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η μειωμένη οξειδωτική καταπόνηση, που σχετίζεται με τη φυσική κατάσταση, προκύπτει από διαφορές, στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Traustadottir et al., 2012).

1.3 DROSOPHILA MELANOGASTER

Η *Drosophila melanogaster*, ανήκει στα ολομετάβολα δίπτερα έντομα της οικογένειας *Drosophilidae* και έχει χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο οργανισμού στην επιστημονική έρευνα για περισσότερο από έναν αιώνα. (Zolfaghari Emaneh et al., 2014). Ευρέως έχει χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο-οργανισμός για να κατανοηθούν πολλές μοριακές και αναπτυξιακές διεργασίες (Allocca et al., 2018).

Η *D. Melanogaster* είναι ένα από τα πιο αποτελεσματικά εργαλεία για την ανάλυση της λειτουργίας γονιδίων ανθρώπινης νόσου, καθώς και γονιδίων που απαιτούνται για την λειτουργία της όρασης, της ακοής και του ανοσοποιητικού συστήματος (Bier.,2005). Τόσο οι άγριου τύπου όσο και οι εργαστηριακά επιλεγμένες σειρές έχουν χρησιμοποιηθεί για να διερευνήσουν διάφορους συσχετισμούς μεταξύ των χαρακτηριστικών της ζωής. Όπως, η αντοχή στις διάφορες μορφές στρες (desiccation, starvation, oxidative stress και αντοχή στη θερμότητα κá) (Lin et al., 1998).

Επιπλέον, η *Drosophila* χρησιμοποιείται ως γενετικό μοντέλο για διάφορες ασθένειες του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων των νευροεκφυλιστικών διαταραχών της νόσου του Πάρκινσον, του Huntington και της νόσου του Alzheimer (Jaiswal et al., 2012). Η μύγα χρησιμοποιείται επίσης για τη μελέτη μηχανισμών που υποκρύπτουν τη γήρανση και το οξειδωτικό στρες, την ανοσία, τον διαβήτη και τον καρκίνο, καθώς και την κατάχρηση ναρκωτικών (Buchon et al., 2014, Kaun et al., 2012, Pandley et Nichols, 2011). Η *Drosophila* παρέχει ένα καλό υπόβαθρο για γενετικές και βιολογικές μελέτες διαφόρων παθολογικών

καταστάσεων όπως νευρολογικές, καρδιακές και μεταβολικές διαταραχές (Allocca et al., 2018).

1.3.1. ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Η *Drosophila* παρουσιάζει σύνθετες συμπεριφορές και σε κάθε παρατηρούμενο φαινότυπο πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι η φυσιολογία των θηλαστικών δεν είναι πολύ διαφορετική από αυτή της μικροσκοπικής μύγας (Allocca et al., 2018). Οι παρατηρούμενες ομοιότητες μεταξύ των γονιδιωμάτων του *D. melanogaster* και του ανθρώπου ενίσχυσαν το ρόλο της *D. melanogaster* ως πρότυπο για την κατανόηση των διαδικασιών της ανθρώπινης βιολογίας και της νόσου.

Μια μελέτη του Εθνικού Ινστιτούτου Ανθρώπινου Γονιδιώματος τον Μάρτιο του 2000, η οποία συγκρίνει τη μύγα και το ανθρώπινο γονιδίωμα, εκτιμά ότι περίπου το 60% των γονιδίων διατηρούνται μεταξύ των δύο ειδών (Adams et al., 2000). Το γονιδίωμα του *D. melanogaster* κωδικοποιεί περισσότερα από 14 000 γονίδια σε τέσσερα χρωμοσώματα (Reiter et al., 2001). Περίπου το 75% των γνωστών γονιδίων της ανθρώπινης ασθένειας έχουν αναγνωρίσιμη αντιστοιχία στο γονιδίωμα της μύγας (Reiter et al., 2001) και το 50% των ακολουθιών πρωτεΐνης της μύγας έχουν ομόλογα θηλαστικών. Η ταυτοποίηση στο επίπεδο νουκλεοτιδίου ή αλληλουχία πρωτεΐνης μεταξύ μύγας και θηλαστικού είναι συνήθως περίπου 40% μεταξύ ομολόγων και 80%-90% στις διατηρημένες λειτουργικές περιοχές (Pandley et Nichols, 2011).

Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν το *Drosophila* ιδανικό μοντέλο οργανισμού για τη μελέτη των μηχανισμών της γήρανσης και για την ανάπτυξη αποτελεσματικών παρεμβάσεων γήρανσης, οι οποίες σχετίζονται με τη γήρανση της έρευνας στον άνθρωπο (Sun et al., 2013).

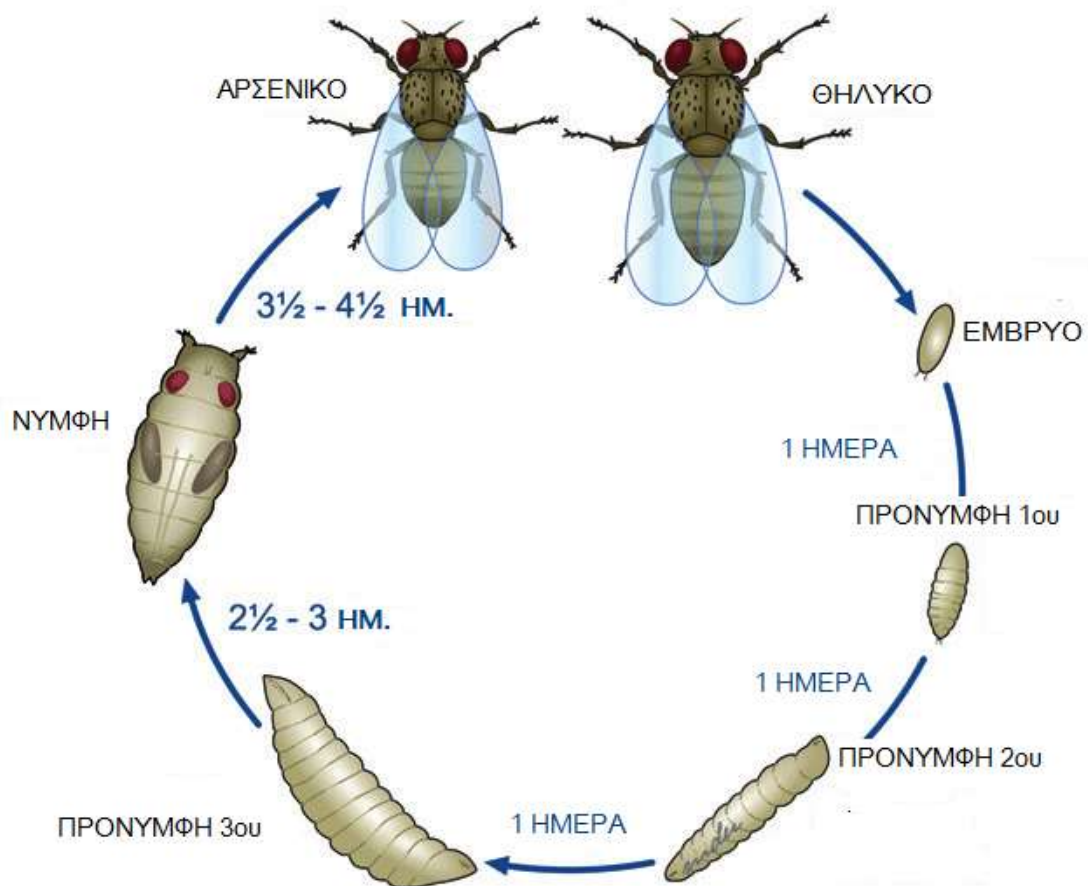
1.3.2. ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η ονομασία του εντόμου *Drosophila melanogaster* προέρχεται από την ελληνική γλώσσα λόγω της προτίμησης του ζώου στη δροσιά και λόγω της μαύρης κοιλιάς του. Το έντομο ανήκει στην τάξη Δίπτερα και παρακάτω φαίνεται πιο αναλυτικά η **ταξινόμική θέση** της *Drosophila melanogaster*.

- Φύλο: Αρθρόποδα
- Υπόφυλο: Μονοσκελή
- Ομοταξία: Έντομα
- Τάξη: Δίπτερα
- Οικογένεια: Drosophilidae
- Γένος: Drosophila
- Υπογένος: Drosophila
- Είδος : *D. Melanogaster*
(O' Grady et Markow., 2009)

1.3.3.ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ DROSOPHILA MELANOGASTER

Ο κύκλος ζωής της *D. Melanogaster* είναι σύντομη και ολοκληρώνεται σε περίπου τρεις εβδομάδες (Parvathi et al., 2009). Η *Drosophila Melanogaster* υφίσταται έναν κύκλο ζωής τεσσάρων σταδίων: αυγό μέσα στο οποίο αναπτύσσεται το έμβρυο, το στάδιο της προνύμφης, το στάδιο της νύμφης και η μεταμόρφωση σε μύγα. Η ανάπτυξη ολοκληρώνεται μέσα σε 10 ημέρες σε θερμοκρασία 25°C. Μόλις γονιμοποιηθεί το θηλυκό, το έμβρυο αναπτύσσεται στο αυγό για περίπου μία ημέρα, πριν εκκολαφθεί ως προνύμφη όπως φαίνεται και στην εικόνα . Η προνύμφη τρώει και αναπτύσσεται (και περνά μέσα από τρία στάδια) σε διάστημα πέντε ημερών μέχρι να γίνει νύμφη και να υποστεί μεταμόρφωση σε ενήλικη μύγα κατά τη διάρκεια τεσσάρων ημερών (Jennings., 2011). Εφόσον η διάρκεια ζωής εμβρύου-ενηλικού διαρκεί περίπου 10 ημέρες στη βέλτιστη θερμοκρασία στα 25 °C, οπότε είναι λογικό να μπορούν να μεγαλώσουν 30 γενεές ετησίως (Sang, 2001).



Εικόνα 1.3.1: Κύκλος ζωής του πειραματικού μοντέλου *Drosophila Melanogaster* (Ong et al., 2014).

1.3.4.ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Η διάρκεια ζωής της *Drosophila* επηρεάζεται από περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η θερμοκρασία και η διατροφή. Οι αρσενικές ενήλικες μύγες αγρίου τύπου (Canton S) διατηρήθηκαν κατά την ενηλικίωση στους 18 ° C, 25 ° C ή 29 ° C και διαπιστώθηκε ότι τα ενήλικα αρσενικά ζουν σημαντικά λιγότερο καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία (Linford et al., 2013). Ταυτόχρονα έχει βρεθεί ότι οι μύγες που διατηρούνται στους 29 ° C έδειξαν εντυπωσιακό εκφυλισμό του εγκεφάλου με σχεδόν πλήρη απώλεια των κυτταροπλασματικών οργανιδίων των νευρικών κυτάρων (Miquel et al., 1976). Συνεχιζόμενη έκθεση σε θερμοκρασίες άνω των 30 ° C μπορεί να οδηγήσει σε στειρώση ή θάνατο και σε χαμηλές θερμοκρασίες η βιωσιμότητα της μύγας είναι μειωμένη και ο κύκλος ζωής να παρατείνεται (Demerec et Kaufmann., 1996).

Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η διάρκεια αυτών των σταδίων του κύκλου ζωής της *Drosophila*, ποικίλλει ανάλογα με τη θερμοκρασία. Τα έντομα συνήθως αναπτύσσονται ταχύτερα, αλλά είναι μικρότερα σε μέγεθος σε υψηλότερες θερμοκρασίες, ενώ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, ο ρυθμός ανάπτυξής τους είναι βραδύτερος αλλά έχουν μεγαλύτερο σωματικό μέγεθος (Chen et al., 2014).

Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι, στους 20° C, η μέση διάρκεια του σταδίου εμβρύου - προνύμφης είναι 8 ημέρες, ενώ στους 25° C μειώνεται σε 5 ημέρες. Η διάρκεια ζωής της νύμφης στους 20° C είναι περίπου 6,3 ημέρες, ενώ στους 25° C είναι περίπου 4,2 μέρες. Επομένως στους 25° C ο κύκλος ζωής μπορεί να συμπληρωθεί σε περίπου 10 ημέρες, αλλά στους 20° C απαιτούνται περίπου 15 ημέρες (Demerec et Kaufmann., 1996). Γι' αυτό θα πρέπει οι καλλιέργειες *Drosophila* να διατηρούνται σε ειδικό θάλαμο όπου η θερμοκρασία δεν κυμαίνεται κάτω 20oC ή άνω των 25oC (Parvathi et al., 2009).

1.3.5.H DROSOPHILA MELANOGASTER ΩΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ

Τα πλεονεκτήματα της μύγας *Drosophila melanogaster* ως πειραματικό μοντέλο είναι πολλά. Πιο συγκεκριμένα:

- Το μικρό μέγεθος
- Ο μικρός κύκλος ζωής (μόλις 10 ημέρες)
- Η ευκολία της καλλιέργειας
- Το μικρό μέγεθος γονιδιώματος (τέσσερα ζεύγη χρωμοσωμάτων)
- Το χαμηλό κόστος
- Μεγάλος αριθμός διαθέσιμων στελεχών
- Οι ώριμες προνύμφες έχουν γιγαντιαία χρωμοσώματα στους σιελογόνους αδένες (Judd., 2001)
- Υψηλή γονιμότητα των θηλυκών (100 αυγά την ημέρα και περίπου 2000 κατά την διάρκεια της ζωής τους) (Sang., 2001) Μεγάλος αριθμός απογόνων, έτσι ώστε να είναι επαρκείς οι πληροφορίες
- Εύκολη η διαδικασία της εξέτασης και των δεδομένων (data), καθώς οι μύγες μπορούν γρήγορα και εύκολα να ακινητοποιηθούν

- Ένας μεγάλος αριθμός γενετικά καθορισμένων μεταλλάξεων είναι διαθέσιμος
- Πολλά γονίδια της μύγας είναι ομόλογα με τα ανθρώπινα γονίδια
- Οι μεταλλάξεις μπορούν να στοχεύσουν συγκεκριμένα γονίδια (Parvathi et al., 2009)
- Το πλήρες γονιδίωμά τους υποβλήθηκε σε ανάλυση αλληλουχίας και πρώτη φορά δημοσιεύτηκε το 2000 (Adams et al., 2000).

1.3.6.ΑΝΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΣΗ D. MELANOGASTER

Η ακινητοποίηση των εντόμων είναι μια απαραίτητη εργαστηριακή διαδικασία για την εξέταση διαφόρων φαινοτύπων κάτω από το μικροσκόπιο (Bartholomew et al., 2015). Διάφοροι μέθοδοι αναισθητοποίησης, μπορούν να ακινητοποιήσουν έντομα, συμπεριλαμβανομένου της χρήσης διαφόρων κοινών αερίων όπως αιθέρα, διοξείδιο του άνθρακα, ισοφλουράνιο ή ακινητοποίηση μέσω έκθεσης σε ψύχος. Οι περισσότερες μελέτες της *Drosophila* και άλλων εντόμων που απαιτούν αναισθησία, χρησιμοποιούν είτε την έκθεση σε κρύο είτε την έκθεση σε διοξείδιο του άνθρακα. (MacMillan et al., 2017)

Η αναισθησία με CO₂ χρησιμεύει συνήθως για κάποια επέμβαση, καθώς και για την ταυτοποίηση των φύλων και των ειδών (Nicolas et Sillans, 1989). Ωστόσο, η αναισθησία με CO₂ αποτελεί μια αρκετά αγχωτική θεραπεία και προκαλεί την παύση του καρδιακού παλμού. Η απώλεια κινητικότητας και η μη ανταπόκριση που εκδηλώνει η *Drosophila* που εκτίθενται σε CO₂ είναι γνωστό ότι προέρχονται από μείωση της ευαισθησίας στο γλουταμινικό στη νευρομυϊκή σύναψη, εμποδίζοντας τη μεταγωγή σήματος και προκαλώντας ακινησία (Badre et al., 2005). Κατά τη διάρκεια της ανάκαμψης, ο καρδιακός ρυθμός επιταχύνεται γρήγορα σε μέγιστη τιμή μεγαλύτερη από αυτή που μετρήθηκε πριν από την αναισθησία (Nicolas et Sillans, 1989).

Έχει παρατηρηθεί ότι, όσο αυξάνεται ο χρόνος έκθεσης στο CO₂ , τόσο αυξάνεται και ο χρόνος ανάρρωσης από αυτό (Nilson et al., 2006). Οι μεταβολές που προκαλούνται από την αναισθησία, εξακολουθούν να εκδηλώνονται μετά από 14 ώρες αποκατάστασης. Ωστόσο, δεν παρατηρούνται μεταβολές όταν

επιτρέπεται μακρά περίοδος ανάκαμψης, περισσότερο από 24 ώρες (Colinet et Renault, 2012).

Τέλος, σημαντικό ρόλο φαίνεται να έχει και ο ρυθμός ροής του CO₂ στην αναρριχητική ικανότητα. Όσο αυξάνεται ο ρυθμός ροής του CO₂, τόσο πιο επιβλαβής είναι η επίδραση κατά την αναρρίχηση. Άλλη παρατήρηση της ίδιας έρευνας έδειξε ότι, με έκθεση 5 λεπτών σε CO₂ η *D.Melanogaster* παρουσίασε ελλείψεις αναρρίχησης μέχρι και 24 ώρες μετά. Οποιαδήποτε έκθεση διάρκειας άνω των 5 λεπτών προκάλεσε αναρριχητικά ελλείμματα που κράτησαν για μέρες. (Bartholomew et al., 2015).

1.3.7.Climbing Assay / Negative Geotaxis

Η *Drosophila* παρουσιάζει μια ισχυρή αρνητική γεωτακτική απόκριση, ανεβαίνοντας γρήγορα στην κορυφή ενός φιαλιδίου όταν αυτό δέχεται κάθετη πρόσκρουση. Αυτή η δοκιμασία αξιοποιεί την φυσική τάση της μύγας για αναρρίχηση και είναι γνωστή ως αρνητική γεωταξία ή δοκιμασία αναρρίχησης. (Orso et al., 2005).

Υπάρχουν διαφορετικοί μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την αρνητική γεωταξία η οποία μετριέται, είτε από την απόσταση που μπορεί να ανέλθει η μύγα σε ένα καθορισμένο χρόνο (Gargano et al., 2005) είτε από το χρόνο που χρειάζεται για να ανέβει σε καθορισμένη απόσταση (Arking et Wells., 1990), είτε από το ποσοστό των ζώων που ανεβαίνει καθορισμένο ύψος σε συγκεκριμένη χρονική διάρκεια (Ali et al., 2011, Madabattula et al., 2015). Παρά τις διαφορές στις πειραματικές λεπτομέρειες, όλες αυτές οι προσεγγίσεις δείχνουν ότι, η αρνητική γεωταξία μειώνεται σταδιακά με την ηλικία (Jones et Grotewiel., 2011)

Αυτή η μέθοδος έχει τα πλεονεκτήματα ότι είναι απλή, φθηνή, αξιόπιστη και δεδομένου ότι δεν απαιτεί ειδικό εξοπλισμό και μπορεί να εκτελεστεί σε οποιοδήποτε εργαστήριο (Madabattula et al., 2015) Ενώ ταυτόχρονα, είναι ένας γρήγορος τρόπος να δηλωθούν ποσοτικά οι κινητικές ικανότητες της *D. Melanogaster* (Ali et al., 2011) καθώς η συμπεριφορά αυτή αντικατοπτρίζει τη λειτουργική κατάσταση της μυϊκής και κινητικής λειτουργίας (Iliadi et al., 2012). Επιλέον, χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της σχετιζόμενης ηλικιοεξαρτώμενης κινητικής έκπτωσης (Cenci, 2010) και έχει χρησιμοποιηθεί ως

πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη γονιδίων ή συνθηκών που μπορεί να εμποδίζουν κινητικές ικανότητες (Ali et al., 2011).

Τέλος, χρησιμοποιείται και για πειράματα άσκησης στη *Drosophila* (Piazza et al., 2009). Πιο συγκεκριμένα, οι μύγες ασκούνται από μια μηχανοκίνητη πλατφόρμα, γνωστή ως Power Tower, που προκαλεί το έμφυτο ένστικτό τους για αρνητική γεωταξία και έχει παρατηρηθεί ότι μέσω άσκησης εμφανίζουν σημαντική ελάτωση, στην ηλικιοεξαρτώμενη μείωση της κινητικότητας και της καρδιακής απόδοσης (Piazza et al., 2009).

1.3.8.ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (FITNESS)

Η *Drosophila* έχει ένα πλούσιο ρεπερτόριο χαρακτηριστικών που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί, συμπεριλαμβανομένων των κυριότερων συνιστωσών της φυσικής κατάστασης (βιωσιμότητα και γονιμότητα), των μετρήσεων της φυσικής κατάστασης και των χαρακτηριστικών της ζωής (π.χ. συμπεριφορά ζευγαρώματος, διάρκεια ζωής και αντίσταση στους περιβαλλοντικούς παράγοντες στρες) (Mackay., 2010).

Η έρευνα των Meshrif et Elkholy (2015) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι αλληλεπιδράσεις γονοτύπου (επίπεδο φυσικής κατάστασης) με περιβάλλον (διατροφή ή μόλυνση) διαμορφώνουν την φυσική κατάσταση της *D. Melanogaster*. Η ικανότητα της κίνησης είναι απαραίτητη για πολλά χαρακτηριστικά συμπεριφοράς που σχετίζονται στενά με τη φυσική κατάσταση (Manenti et al., 2015). Και επομένως, μπορεί να θεωρηθεί βασικό στοιχείο της φυσικής κατάστασης, δεδομένου του κεντρικού ρόλου που εμφανίζει στην επιβίωση και την αναπαραγωγή (Gilchrist et al., 1997). Άλλο ένα θεμελιώδες φαινοτυπικό χαρακτηριστικό στην *Drosophila melanogaster* είναι η ταχύτητα της κίνησης. Η ποσοτικοποίησή της ως απάντηση σε περιβαλλοντικούς και πειραματικούς παράγοντες, είναι εξαιρετικά χρήσιμη για συμπεριφορικές και νευρολογικές μελέτες (Chan et al., 2012).

Επιπλέον, η κινητική δραστηριότητα δεν είναι ένα μόνο χαρακτηριστικό, αλλά μπορεί (και έχει) να εξεταστεί σύμφωνα με τη χρονική πορεία της συμπεριφοράς (από λεπτά σε ημέρες), διαφοροποιώντας την ταχύτητα, την ποσότητα και την

κατεύθυνσή της δραστηριότητας και λαμβάνοντας εξωτερικά ερεθίσματα όπως η παρουσία τροφής ή το άγχος (Meehan et Wilson, 1987).

1.3.9.ΓΗΡΑΝΣΗ DROSOPHILA MELANOGASTER

Η γήρανση είναι ένα βιολογικό φαινόμενο το οποίο μελετάται ιδιαίτερα στη *Drosophila* (Frequet, 1997). Η διάρκεια ζωής της είναι μικρή, με μέση τιμή ~ 80 ημερών και μέγιστη ~ 100 ημέρες (Piper et Partridge, 2016). Η μύγα έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για να βοηθήσει στην κατανόηση της γενετικής και μοριακής βάσης της διαδικασίας γήρανσης και αυτό λόγω της σύντομης διάρκειας ζωής της και της ευρείας διάθεσης γενετικών εργαλείων (Le Bourg, 2013).

Όπως η γήρανση στον άνθρωπο συνοδεύεται από μια σειρά συνοδών προβλημάτων, συμπεριλαμβανομένης της κινητικής δυσλειτουργίας, που έχει βαθιές επιπτώσεις στη συνολική υγεία και την ποιότητα ζωής, έτσι και η *Drosophila* παρουσιάζει μειώσεις στην κινητική λειτουργία που μπορούν να αναλυθούν, χρησιμοποιώντας μια σειρά κινητικών συμπεριφορών, όπως η αρνητική γεωταξία (Jones et Grotewiel, 2011).

1.3.10.ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΓΕΩΤΑΞΙΑ

Υπάρχουν διαφορετικές κινητικές συμπεριφορές που μπορούν να αξιολογηθούν σε ενήλικες μύγες. Η πιο συχνά αξιολογημένη από αυτές, όπως έχει αναλυθεί παραπάνω, είναι η αρνητική γεωταξία. Το ποσοστό των μυγών που ανεβαίνουν σε καθορισμένο ύψος στο τοίχωμα του δοχείου κατά τη διάρκεια μιας δοκιμής γίνεται μικρότερη καθώς οι μύγες μεγαλώνουν (Miquel et al., 1976). Η μείωση αυτής της κινητικής συμπεριφοράς είναι πιθανόν συνδυασμός αλλαγών που σχετίζονται με τη γήρανση και τον μυϊκό τόνο και τη λειτουργία (Gargano et al., 2005). Καθώς κατά την γήρανση, έχει παρατηρηθεί, λειτουργική βλάβη των μυών των άκρων, που προκαλεί ελαττώματα στο βάδισμα, την αναρρίχηση και το άλμα (Grotewiel et al., 2005).

Από έρευνα παρατηρήθηκε ότι, κατά την δοκιμασία αναρρίχησης σε θηλυκά και αρσενικά ζώα ηλικίας 43-47 ημερών, παρουσίασαν σημαντική μείωση στην απόδοση αναρρίχησης σε σύγκριση με νεαρές μύγες (1-2 ημερών). Οι μύγες 43-47 ημερών έκαναν σύντομες και αποτυχημένες προσπάθειες και έπεφταν στον

πάτο του φιαλιδίου. Οι μύγες ηλικίας 18-32 ημερών παρουσίασαν επίσης μείωση κινητικής αναρρίχησης, όχι τόσο όσο στις μύγες 43-47 ημερών (Vernace et al., 2007).

Απ' ότι φαίνεται, ο ρυθμός μείωσης όμως της αρνητικής γεωτακτικής ικανότητας, μειώνεται με ταχύτερο ρυθμό στην ύστερη ενήλικη ζωή, σε σύγκριση με τον ρυθμό μείωσής της κατά την διάρκεια γήρανσης (Shahrestani et al., 2012). Το ίδιο συμπέρασμα έβγαλαν και οι Benjamin et al. (2009) όπου η αρνητική γεωτακτική ικανότητα μειώθηκε πολύ αργά κατά την διάρκεια της γήρανσης (μέχρι 30 ημερών), αλλά στη συνέχεια μειώθηκε ταχύτητα σε προχωρημένη ηλικία (μετά από 40 ημερών).

Μία ακόμα έρευνα παρουσιάζει την ταχύτητα αναρρίχησης να μειώνεται με την ηλικία σε τέσσερα γενετικά υπόβαθρα αγρίου τύπου, σε μύγες που φυλάσσονται σε διαφορετικές θερμοκρασίες, σε μύγες ελέγχου και σε μακρόβιες που φέρουν την μετάλλαξη OR83b. Οι μειώσεις στην ταχύτητα αναρρίχησης συσχετίζονται με τις ηλικιοεξαρτώμενες δυσλειτουργίες στην απόσταση αναρρίχησης. Οι σχετιζόμενες με την ηλικία μειώσεις της κινητικής ταχύτητας είναι κοινά χαρακτηριστικά της κινητικής γήρανσης σε μύγες και ανθρώπους (Rhodenizer et al., 2008).

1.3.11. STRESS KAI DROSOPHILA MELANOGASTER

Η *Drosophila* έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες αντοχής στο στρες, και έχουν μελετηθεί τόσο οι φυσικοί πληθυσμοί της, όσο και οι εργαστηριακές επιλεγμένες σειρές (Gibbs et al., 1997, Chippindale et al., 1998, Marron et al., 2003). Για παράδειγμα, η αντοχή στο στρες (desiccation stress και αντοχή στη θερμότητα) συσχετίζεται θετικά με τη μακροζωία (Lin et al., 1998). Η *Drosophila melanogaster* χρησιμοποιείται σε έρευνες σχετικές με στρες είτε αυτό μπορεί να είναι μεταβολικό (λιμοκτονία), είτε οξειδωτικό, είτε μηχανικό (στρες ήπιου στροβιλισμού) (Neckameyer et Weinstein, 2005). Καθώς ακόμα μπορεί να είναι θερμικό στρες, στρες με έκθεση σε οξικό οξύ, αιθανόλη (Clark et Fucito, 1998) και στρες από έκθεση σε ψύχος ή desiccation stress (έλλειψη τροφής και νερού) (Sinclair et al., 2007).

Η γενική αντίδραση στο στρες περιλαμβάνει την έκφραση πρωτεϊνών στρες, όπως αντιοξειδωτικές πρωτεΐνες, η μείωση της ρύθμισης των γονιδίων που εμπλέκονται στον ενεργειακό μεταβολισμό και η απελευθέρωση προστατευτικών ουσιών (Vermeulen et Loeschcke, 2007). Παράγοντες όπως, ο τύπος του στρες καθώς και η σεξουαλική ωριμότητα, η αναπαραγωγική κατάσταση και το φύλο έχουν διαφορετική επίδραση στην επιβίωση (Neckameyer et Weinstein, 2005). Η έκθεση σε στρεσογόνους παραγόντες προκαλεί αλλαγή κινητικής συμπεριφοράς (Chadha et Cook, 2014).

1.3.12.DESICCATION ΣΤΡΕΣ & DROSOPHILA MELANOGASTER

Το desiccation stress, που περιλαμβάνει πλήρη έλλειψη τροφής και νερού, είναι μια κοινή πρόκληση για πολλούς οργανισμούς που κατοικούν σε ξηρό περιβάλλον (Kang et al., 2016).

Η αντίσταση στο στρες, όπως starvation και desiccation, καθορίζεται από την ποσότητα νερού και των θρεπτικών ουσιών στο σώμα της Δροσόφιλα, καθώς και από το ρυθμό απώλειά τους (Gibbs et al., 1997, Djawdan et al., 1998, Nghien et al., 2000). Τα ποσοστά απώλειας νερού των θηλυκών μυγών που υπέστησαν desiccation ήταν 40% χαμηλότερα από αυτά της ομάδας ελέγχου. Οι μύγες που υπέστησαν desiccation stress, περιείχαν περίπου 30% περισσότερο όγκο νερού από τα control, καθώς και περισσότερο γλυκογόνο. Όμως, συνολικά τα μεταβολικά αποθέματα νερού δεν διέφεραν μεταξύ τους, λόγω των υψηλών επιπέδων λιπιδίων στα control (Gibbs et al., 1997).

Επιπλέον, παρατηρείται ότι, κατά την παρουσία στρες (desiccation), οι βραχύβιες μύγες εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά απώλειας νερού, από ότι οι μακρόβιες μύγες. Οι μακροβιότεροι πληθυσμοί έχουν αναπτύξει αυξημένη περιεκτικότητα στο νερό ολόκληρου του σώματος, αλλά καμία αλλαγή στη περιεκτικότητα νερού κατά τον θάνατο (Nghien et al., 2000). Όπως και η έρευνα των Chippindale et al. (1998) παρατήρησε ότι οι πληθυσμοί που ήταν ανθεκτικοί στο desiccation στρες, είχαν αυξημένα αποθέματα τόσο νερού όσο και υδατανθράκων (Chippindale et al., 1998). Καθώς, οι υδατάνθρακες, χρησιμεύουν ως κύρια πηγή ενέργειας σε ενήλικες μύγες, κατά την διάρκεια του στρες (desiccation) (Marron et al., 2003).

Η επιλογή για αυξημένη αντίσταση σε στρες (desiccation & starvation) στη Δροσόφιλα οδηγεί σε αυξημένη μακροβιότητα (Rose et al., 1992). Από την έρευνα των Nghiem et al. (2000) φαίνεται ότι η αντίσταση στο στρες (desiccation) μειώνεται με την ηλικία τόσο στις βραχύβιες, όσο και στις μακρόβιες μύγες. Ο ρυθμός όμως, με τον οποίο μειώνεται η αντίσταση στο στρες φαίνεται να μην είναι ίδια σε όλες τις ηλικιακές φάσεις. Με άλλα λόγια η αντίσταση στο στρες (desiccation), μειωνόταν πολύ γρηγορότερα μέχρι την ηλικία των 30 ημερών (aging), από ότι μειωνόταν μετά την ηλικία των 40 ημερών (late life) (Benjamin et al., 2009). Το ίδιο εξαγόμενο συμπέρασμα βγήκε και από την έρευνα των Shahrestani et al. (2012), όπου ο ρυθμός μείωσης ήταν βραδύτερος κατά την ενήλικη ύστερη ζωή (late life).

Σε αντίθεση με τα προηγούμενα, έρχονται τα συμπεράσματα των Drapeau et al. 2000, που έδειξαν ότι η μείωση αντοχής στο στρες (desiccation) δεν επηρεάστηκε από την μετάβαση της φάσης της γήρανσης (aging) στην ενήλικη ύστερη ζωή (late life). Τέλος, φαίνεται ότι μια προ-έκθεση σε ένα ήπιο desiccation στρες αυξάνει τη διάρκεια της επιβίωσης από desiccation σε ενήλικες γυναίκες *Drosophila melanogaster* (Stinziano et al., 2015).

1.3.13. STARVATION DROSOPHILA MELANOGASTER

Η μέτρηση ανθεκτικότητας στη λιμοκτονία είναι η αξιολόγηση της ικανότητας των εντόμων να αντιμετωπίσουν μια έλλειψη ενέργειας, γεγονός που συμβαίνει συχνά σε περιβάλλοντα πραγματικής ζωής. Λόγω του κεντρικού ρόλου της ενέργειας για τους οργανισμούς, η βελτίωση της ανθεκτικότητας στην πείνα θα μπορούσε να είναι ένας από τους μηχανισμούς που διαδραματίζει ρόλο στην επέκταση της διάρκειας ζωής (lifespan). Η δοκιμασία λιμοκτονίας τυπικά εκτελείται με μέτρηση της επιβίωσης ενηλίκων μυγών, μόνο με νερό (Hey et al., 2004)

Η ικανότητα των ζώων να αντέχουν παρατεταμένες περιόδους της στέρσης τροφής ονομάζεται «αντίσταση στην πείνα», που είναι ένα φαινοτυπικό χαρακτηριστικό του μεγάλου οργανισμού, οικολογικής και εξελικτικής σημασίας δεδομένου ότι η λιμοκτονία είναι το συχνό περιβαλλοντικό άγχος που

αντιμετωπίζουν τα ζώα που κατοικούν σε περιβάλλον όπου η διαθεσιμότητα τροφίμων κυμαίνεται και είναι απρόβλεπτη (McCue 2010). Από την άλλη μεριά, στο εργαστηριακό περιβάλλον η αντοχή στην έλλειψη τροφής μετράται με την επιβίωση των ζώων σε φιαλίδια που περιέχουν μόνο άγαρ, στους 25 ° C (Zwaan et al., 1991).

Όπως αναφέρεται από τον Sorensen et al. (2009) «Μια κλασική και καλά τεκμηριωμένη φυσιολογική προσαρμογή στην αντίσταση στην πείνα είναι τα αυξημένα αποθέματα λίπους» (Service, 1987, Baldal et al., 2006, Vermeulen et al., 2006). Επιπλέον, παρατηρούνται μερικές φορές αυξημένη αποθήκευση λίπους σε αυξημένη μακροζωία (Service, 1987).

Από άλλη έρευνα, φάνηκε ότι οι μετρήσεις βάρους και λιπιδίων, αποκάλυψαν σημαντικά ευρήματα. Πρώτον, ότι η αντίσταση στην πείνα και η περιεκτικότητα σε λιπίδια συσχετίζονται γραμμικά. Δεύτερον, ότι η εναπόθεση λιπιδίων στο στάδιο της προνύμφης διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της ανθεκτικότητας των ενηλίκων στην πείνα. Τέλος, ο αυξημένος ρυθμός ανάπτυξης των προνυμφών και η εναπόθεση λιπιδίων είχαν κόστος στη φυσική κατάσταση, που επιφέρει μείωση στη βιωσιμότητα και βραδύτερη ανάπτυξη (Chippindale et al., 1996).

Η μειωμένη κίνηση ήταν μια συσχετισμένη απάντηση στην επιλογή για ανθεκτικότητα στην πείνα, πιθανώς ως μέσο για τη διατήρηση της ενέργειας για επιβίωση κατά τη διάρκεια περιόδων πείνας (Schwasinger-Schmidt et al., 2012). Η συνολική ενεργειακή περιεκτικότητα τόσο των λιπιδίων όσο και των αποθεμάτων υδατανθράκων μειώθηκε έναντι της αντοχής στην πείνα. Αυτά τα αποτελέσματα, καταδεικνύουν ότι οι μύγες ανταποκρίθηκαν στην επιλογή για ανθεκτικότητα στην πείνα, μέσω μιας γενετικά καθορισμένης αύξησης, τόσο στην αποθήκευση λιπιδίων όσο και σε υδατάνθρακες (Djawdan et al., 1998). Ομοίως, από την έρευνα των Lee et Jang, (2014) φάνηκε ότι η αντίσταση στην πείνα επηρεάστηκε σε μεγάλο βαθμό από τον λόγο πρωτεΐνης –υδατανθράκων. Η αντίσταση στην πείνα ήταν ισχυρότερη στην χαμηλότερη αναλογία πρωτεΐνης-υδατανθράκων, ενώ μειώθηκε με την αύξηση του λόγου αυτού. Κατά την διάρκεια του starvation παρουσιάστηκε αυξημένη χρήση ενδογενών μεταβολικών ουσιών. Στην πρώιμη φάση της λιμοκτονίας, χρησιμοποίησε αποκλειστικά μη λιπαρά

υποστρώματα (substrates), αλλά στην διάρκεια της τελικής φάσης, κινητοποιήθηκαν λιπίδια για να την διατηρήσουν στη ζωή κάτω από το στρες της πείνας.

Παρ'όλα αυτά, η σχέση μεταξύ των αποθεμάτων λιπιδίων και της αντοχής στην πείνα, δεν είναι καθολική. Η έρευνα των Baldal et al. (2005), κατέληξε στο αποτελέσματα ότι η αντίσταση στην πείνα δεν καθορίζεται αποκλειστικά από την περιεκτικότητα σε λίπος. Όπως και ο Hoffmann et al. (2001), δεν βρήκε οποιαδήποτε συσχέτιση μεταξύ της περιεκτικότητας σε λιπίδια και της ανθεκτικότητας στην πείνα και δεν συσχετίστηκαν σε κανένα σύνολο στελεχών. Τέλος, οι Rion et Kawecki (2007), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αποθήκευση σε περισσότερα αποθέματα είναι μια κοινή προσαρμογή στην πείνα σε εργαστηριακά πειράματα, αλλά υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπίδια δεν οδηγεί αυτόματα σε μεγαλύτερη αντοχή στην πείνα .

Επιπρόσθετα, φαίνεται πως τα δύο φύλα δεν αντιδρούν με τον ίδιο τρόπο σε αυτό το ερέθισμα. Παρατηρήθηκε πως τα θηλυκά σε όλες τις ηλικίες ήταν πιο ανθεκτικά στο στρες λόγω πείνας, απ' ότι τα αρσενικά (Benjamin et al., 2009). Όπως υποστηρίχθηκε, και από την έρευνα των Lee et Jang, (2014), όπου τα πεινασμένα αρσενικά πέθαναν πολύ νωρίτερα από τα θηλυκά, καθώς και από τους Sepulveda et al., (2008) που βρήκαν ότι, κατά μέσο όρο τα θηλυκά αντιστέκονταν στην πείνα καλύτερα από τα αρσενικά (κατά 40,6 ώρες). Εν αντιθέση βέβαια, με την έρευνα των Da Lage et al. (1989), που παρατηρήσαν ότι τα πεινασμένα αρσενικά επιβίωναν περισσότερο, από τα θηλυκά.

Η μέση ανθεκτικότητα στην πείνα κατά την ύστερη ενήλικη ζωή ήταν χαμηλότερη από τη μέση αντίσταση στην πείνα κατά την γήρανση, γεγονός που αντανακλά τη συνολική μείωση της ανθεκτικότητας στην πείνα με την αύξηση της ηλικίας. Συγκεκριμένα, η αντίσταση στην πείνα μειώθηκε με βραδύτερο ρυθμό στην ύστερη ενήλικη ζωή σε σύγκριση με την γήρανση (Benjamin et al., 2009). Στο ίδιο συμπέρασμα, κατέληξαν και οι Drapeau et al.(2000) καθώς διαπίστωσαν ότι ο ρυθμός μείωσης της αντοχής στο starvation επιβραδύνεται στην ύστερη ενήλικη ζωή της *D. Melanogaster*. Ωστόσο, σε θηλυκές μύγες, η αντίσταση στην πείνα δεν άλλαξε σημαντικά τον ρυθμό της πτώσης από τη γήρανση έως την ύστερη ενήλικη ζωή (Shahrestani et al., 2012).

Τέλος, από την έρευνα των Sepulveda et al. (2008) βρέθηκε ότι ο τραυματισμός μείωσε σημαντικά την αντίσταση στην πείνα σε ορισμένες ομάδες μύγες, αλλά όχι σε άλλες. Δηλαδή, οι τραυματισμένες μύγες ήταν σημαντικά λιγότερο ανθεκτικές στο στρες λόγω πείνας από ό, τι οι άθικτες μύγες κατά περίπου 23 ώρες. Οι C μύγες (επιλεγμένες για αντοχή σε desiccation stress) ήταν σημαντικά πιο ανθεκτικές στην πείνα από τις D (επιλεγμένες για αντοχή σε starvation stress) κατά 11,9 ώρες, οι οποίες με τη σειρά τους ήταν πιο ανθεκτικές από τις control μύγες (κατά 54,9 ώρες).

1.3.14.OXIDATIVE STRESS

Για περισσότερα από 50 χρόνια, πολυάριθμες αναφορές εξέτασαν τους δεσμούς μεταξύ οξειδωτικού στρες, μακροζωίας και ασθένειας που σχετίζεται με την ηλικία. Αυτή η θεωρία δόθηκε αρχικά, από τον Denham Harman ως θεωρία της ελεύθερης ρίζας της γήρανσης και πρότεινε ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (συγκεκριμένα OH και HO₂) σχηματίζονται ενδογενώς ως υποπροϊόντα από φυσιολογικές μεταβολικές διεργασίες που χρησιμοποιούν οξυγόνο στη διαδικασία γήρανσης (Harman, 1956).

Η αρχική υπόθεση του Harman έχει βελτιωθεί με τέτοιο τρόπο ώστε να αντιμετωπίσει το ρόλο όλων των μορφών ROS στη ρύθμιση της γήρανσης και τώρα γενικά ονομάζεται η θεωρία οξειδωτικού στρες της γήρανσης . Υπό κανονικές φυσιολογικές συνθήκες, η χρήση οξυγόνου από τα κύτταρα των αερόβιων οργανισμών δημιουργεί δυνητικά επιβλαβείς μεταβολίτες αδρανούς οξυγόνου. Υπάρχει μια χρόνια κατάσταση οξειδωτικού στρες σε όλα τα κύτταρα αερόβιων οργανισμών ακόμα και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες λόγω μιας ανισορροπίας μεταξύ των προ-οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών. Αυτή η ανισορροπία οδηγεί στη συσσώρευση οξειδωτικής βλάβης στα κυτταρικά μακρομόρια που αυξάνεται κατά τη διάρκεια της γήρανσης και συμβάλλει στην προοδευτική μείωση της λειτουργίας των κυτταρικών διεργασιών. Έτσι, η ρύθμιση του οξειδωτικού στρες μπορεί να ελέγξει άμεσα τη διαδικασία γήρανσης (Sohal et Weindruch, 1996).

Η θεωρία του οξειδωτικού στρες είναι μία από τις σημαντικότερες εξηγήσεις για τη γήρανση. Η κεντρική αρχή είναι ότι τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου, κυρίως ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, προκαλούν οξειδωτική βλάβη στα μακρομόρια που οδηγεί σε απώλεια μοριακής λειτουργίας και τελικά σε γήρανση κυττάρων, οργάνων και οργανισμών. Τέτοιες καταστροφικές βλάβες θα μπορούσαν να προκύψουν από αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών, μειωμένη δραστηριότητα αντιοξειδωτικών αμυντικών, μείωση της δραστηριότητας συστημάτων που επιδιορθώνουν οξειδωτική βλάβη ή κάποιος συνδυασμός αυτών των αλλαγών (Sohal et al., 2002). Ένα από τα ανεπιθύμητα αποτελέσματα της αερόβιας αναπνοής είναι η ανάπτυξη αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και άλλων ελεύθερων ριζών. Το κυτταρικό αντιοξειδωτικό σύστημα μειώνει συνεχώς αυτά σε λιγότερο τοξικά μόρια. Ένα κοινό τελικό προϊόν του ROS είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), αν και αυτό είναι επίσης ένα οξειδωτικό και μετατρέπεται περαιτέρω σε νερό και μοριακό οξυγόνο από αντιοξειδωτικά ένζυμα (Subedi et al., 2017). Ένας τρόπος με τον οποίο τα κύτταρα ελέγχουν τα επίπεδα ROS είναι με το κυτταροπλασματικό ένζυμο της καταλάσης, που μετατρέπει την περίσσεια υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο (Grover et al., 2009).

Σύμφωνα, με τη θεωρία του οξειδωτικού στρες, πολυάριθμες αναφορές περιγράφουν τη συσσώρευση οξειδωτικής βλάβης σε μακρομόρια σε ηλικιωμένους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των *D. Melanogaster* (Sohal et al., 2002). Διαπιστώθηκε λοιπόν ότι, η διαδικασία γήρανσης του *D. melanogaster* συνοδεύεται από μείωση των επιπέδων μεταγραφής για γονίδια που εμπλέκονται στην αναπαραγωγή, τον μεταβολισμό και τον κύκλο πρωτεϊνών. Το ένα τρίτο των γονιδίων που ρυθμίζονται από την ηλικία παρουσιάζουν σημαντικές αλλαγές στην απόκριση στο οξειδωτικό στρες. Ωστόσο, περισσότερο από το 60% των γονιδίων που ρυθμίζονται από την ηλικία, δεν δείχνουν καθόλου ή ελάχιστη ανταπόκριση στο οξειδωτικό στρες. Ως εκ τούτου, οι ελεύθερες ρίζες δεν είναι ο μόνος αιτιώδης παράγοντας στη γήρανση. Επιπλέον, πάνω από το 80% των γονιδίων που ρυθμίζονται με *paraquat* (εντομοκτόνο) δεν δείχνουν καθόλου ή μικρή αλλαγή στα επίπεδα μεταγραφής κατά τη γήρανση, υποδηλώνοντας ότι οι ελεύθερες ρίζες που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της

γήρανσης δεν προκαλούν πλήρη απόκριση στο οξειδωτικό στρες (Zou et al., 2000).

Αρχικά, φαίνεται σημαντική η ποσότητα της δόσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου για το προσδόκιμο ζωής της *Drosophila*. Αυτό προκύπτει, από την έρευνα που είχε σκοπό να δοκιμάσει εάν ένα ήπιο άγχος θα μπορούσε να αυξήσει το χρόνο επιβίωσης στις μύγες που ζουν σε αγχωτικό περιβάλλον. Πιο αναλυτικά, οι μύγες μεταφέρθηκαν σε μεσαία ηλικία, σε φιαλίδια όπου μπορούσαν να τροφοδοτηθούν μόνο με διάλυμα σακχαρόζης, χωρίς άλλη θρεπτική ουσία. Αυτό το διάλυμα είναι γνωστό ότι μειώνει τη μακροζωία και υποτίθεται ότι η προσθήκη υπεροξειδίου του υδρογόνου σε αυτό θα μπορούσε να ελαχιστοποιήσει αυτό το αρνητικό αποτέλεσμα. Ενώ, οι υψηλές δόσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου μειώνουν την περαιτέρω μακροζωία, μια μικρή δόση την αύξησε σε αρσενικά ηλικίας 4 εβδομάδων, καθώς και μόνο σε μερικά πειράματα σε θηλυκά. Αυτή η χαμηλή δόση όμως, δεν είχε καμία θετική επίδραση στη γήρανση της συμπεριφοράς, στην αντοχή στη θερμότητα και στην πείνα. Έτσι, φαίνεται ότι το υπεροξείδιο του υδρογόνου ήταν ένα ήπιο στρες βοηθώντας τις μύγες να αντιμετωπίσουν τις αρνητικές επιδράσεις της σακχαρόζης στη μακροζωία. Ως εκ τούτου, συμπεραίνεται ότι το υπεροξείδιο του υδρογόνου, πέρα από τις επιβλαβείς επιδράσεις των υψηλών δόσεων, θα μπορούσε να έχει θετικές επιδράσεις στους οργανισμούς όταν χρησιμοποιείται σε χαμηλή δόση, ιδιαίτερα σε αγχωτικές συνθήκες διαβίωσης (Le Bourg, 2007).

Επιπλέον, σημαντικό ρόλο, φαίνεται να παίζει και η ώρα έκθεσης στο υπεροξείδιο του υδρογόνου, όπου βρέθηκε να επηρεάζει τους κινητικούς ρυθμούς της *Drosophila* (έλεγχος με δοκιμασία τρισδιάστατης ανίχνευσης). Ενώ, το υπεροξείδιο του υδρογόνου αύξησε τη δραστηριότητα της μύγας κατά μέσο όρο, η συνεχής χορήγηση υπεροξειδίου του υδρογόνου βρέθηκε να καταστέλλει τους καθημερινούς κινητικούς ρυθμούς. Πιο συγκεκριμένα, η θρέψη των μυγών με 1% υπεροξείδιο του υδρογόνου, για δύο ώρες, προκάλεσε αύξηση της κινητικής δραστηριότητας. Η αυξημένη δραστηριότητα επέστρεψε σε φυσιολογικά επίπεδα, μέσα σε λίγες ώρες και οι μεταγενέστεροι ημερήσιοι κινητικοί ρυθμοί ήταν φυσιολογικοί. Ωστόσο, όταν οι μύγες τρέφονταν συνεχώς με υπεροξείδιο του υδρογόνου, η δραστηριότητα αρχικά αυξήθηκε και έπειτα από περίπου 12 ώρες οι κινητικοί ρυθμοί καταστάληκαν: οι μύγες ήταν πιο δραστήριες από τους

μάρτυρες, κατά τις περιόδους ύπνου και λιγότερο δραστήριες κατά τις περιόδους αφύπνισης. Ακόμη και κατά τα χρονικά διαστήματα, κατά τα οποία οι μύγες τρέφονταν με υπεροξειδίο του υδρογόνου, ήταν λιγότερο δραστήριες από τους μάρτυρες, η συμπεριφορά τους ήταν ανώμαλη, καθώς η κίνηση ήταν πιο ασταθής (Grover et al., 2009).

Άλλος ένας παράγοντας που επηρέασε την επιβίωση των μυγών, που εκτέθηκαν σε H_2O_2 , φαίνεται πως είναι η ηλικία. Και στις δύο συγκεντρώσεις H_2O_2 (1% & 3%) που χρησιμοποιήθηκαν, πολλαπλές συγκρίσεις έδειξαν ότι, οι νεο-εκκολαπτόμενες μύγες επιβίωσαν περισσότερο στο οξειδωτικό στρες, ενώ οι μύγες ηλικίας 5 ημερών επιβίωσαν λιγότερο ενώ οι ενδιάμεσες ηλικίες έδειξαν ενδιάμεσες αποκρίσεις (Colinet et al., 2016).

Όπως η ηλικία, έτσι και οι διαφορές στο φύλο, φαίνεται ότι διαφοροποιούνται στη μακροζωία και στην αντίσταση οξειδωτικού στρες της μύγας. Τα θηλυκά εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα ROS και υψηλότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα, από τα αρσενικά, ως συνάρτηση της ηλικίας. Χρησιμοποιώντας την αιθανόλη ως στρεσογόνο παράγοντα, φάνηκε ότι τα θηλυκά εμφάνιζαν μεγαλύτερη αντοχή στη θνησιμότητα και την κινητική συμπεριφορά, που προκλήθηκε από αιθανόλη, σε σύγκριση με τα αρσενικά. Τα αποτελέσματά αυτά, δείχνουν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των διαφορών φύλου όσον αφορά την αντοχή στον οξειδωτικό στρες, την αντιοξειδωτική άμυνα και τη μακροζωία (Niveditha et al., 2017). Συμπληρώνοντας, τα αποτελέσματά της μελέτης των Cook-Wiens et Grotewiel, (2002) υποδεικνύουν ότι η αυξημένη αντοχή στο οξειδωτικό στρες και η παράταση της διάρκειας ζωής, δεν παρέχουν αναγκαστικά προστασία στις λειτουργικές μειώσεις που σχετίζονται με την ηλικία.

Σύμφωνα με τη θεωρία των ελεύθερων ριζών της γήρανσης, οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται στην παραγωγή αλλαγών στον κυτταρικό μεταβολισμό που οδηγούν σε μια χρονο-εξαρτώμενη λειτουργική έκπτωση σε όλα τα έμβια όντα. Κατά συνέπεια, οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί μπορούν να επιβραδύνουν τη διαδικασία γήρανσης (Bonilla et al., 2002). Παρά το γεγονός ότι η έκθεση σε H_2O_2 προκαλεί οξειδωτικό στρες σε προνύμφες *Drosophila* από όλα τα διατροφικά καθεστώτα, φαίνεται πως, τα συστατικά του αντιοξειδωτικού συστήματος των προνυμφών

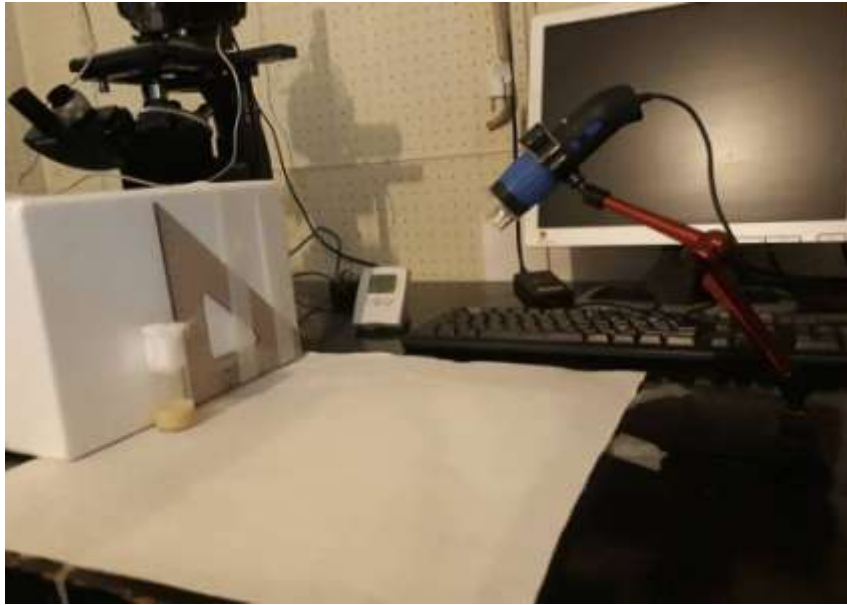
Drosophila, ενισχύονται με τη συμπλήρωση της τροφής με AB (abhrak bhasma) (Subedi et al., 2017).

Επιπλέον, διερευνήθηκε η επίδραση της μελατονίνης, στην διάρκεια ζωής της *Drosophila melanogaster* (άγριο στέλεχος Oregon). Θεωρήθηκε ότι οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες της μελατονίνης, θα αποτρέψουν την οξειδωτική βλάβη στους ιστούς της μύγας και θα επιβραδύνουν την διαδικασία γήρανσης. Η μελατονίνη, που προστίθεται καθημερινά στο θρεπτικό μέσο, αύξησε σημαντικά τη διάρκεια ζωής της *D. melanogaster*. Η μέγιστη διάρκεια ζωής ήταν 61,2 ημέρες στους μάρτυρες και 81,5 ημέρες σε μύγες που τρέφονται με μελατονίνη. Σε σχέση με τους μάρτυρες, η ποσοστιαία αύξηση της μύγας που τράφηκε με μελατονίνη ήταν 33,2% στη μέγιστη διάρκεια ζωής, 19,3% στην αρχή της θνησιμότητας 90% και 13,5% στη μέση διάρκεια ζωής. Επιπρόσθετα, σε μια δοκιμή τοξικότητας από υπεροξείδιο, δείχθηκε ότι η θεραπεία με μελατονίνη αύξησε την αντίσταση του *D. melanogaster* στο paraquat. Τέλος, η αυξημένη αντοχή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 36 βαθμών C ήταν επίσης μια ένδειξη της αντιοξειδωτικής προστασίας που παρέχεται από την ορμόνη (Bonilla et al., 2002).

2. ΜΕΘΟΔΟΙ-ΥΛΙΚΑ

2.1 Πειραματικό υλικό

- Πειραματόζωο: *Drosophila melanogaster*
- Τύπος: Oregon- R (αγρίου τύπου)
- Φύλο: αρσενικά στελέχη
- Όργανα και συσκευές: video camera CONARD και πρόγραμμα καταγραφής το Software iSpy v6.5.3.0 .
- Τροφή για τα πειραματόζωα
- Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε Excel και GraphPad Prism 6. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως M.O. (μέσος όρος ταχύτητας) και MT (μέγιστη τιμή ταχύτητας) + Σταθερή απόκλιση (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).



Εικόνα 2.1. Καταγραφή αναρρίχησης των ατόμων (*single-fly*) μέσω της κάμερας CONARD.

2.2 Καλλιέργεια και διατήρηση του πληθυσμού των εντόμων *Drosophila melanogaster*

Οι μύγες φυλάσσονται σε ειδικό θάλαμο επώασης (incubator), στον οποίο η θερμοκρασία είναι σταθερή στους 24°C και η υγρασία >60%. Επίσης, στο χώρο αυτό υπάρχει φως τις ώρες της ημέρας και σκοτάδι τη νύχτα για να είναι σταθερός ο καρδιακός ρυθμός των ζώων. Οι μύγες αναπτύσσονται σε κυλινδρικά φιαλίδια (vials) διαμέτρου 3 cm και μήκους 8,35 cm, τα οποία περιέχουν ~12ml τροφής (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2 Κυλινδρικό φιαλίδιο με ποσότητα τροφής ~12ml

2.3 Δημιουργία τροφής

Συστατικά Τροφής – Υλικά:

- Άγαρ (Scharlau/Serva)
- Ξηρή μαγιά (Γιώτης/Mac magic)
- Αλεύρι καλαμποκιού (προϊόν βιολογικής γεωργίας)
- Ζάχαρη καγιένα (προϊόν βιολογικής γεωργίας)
- Γλυκόζη (D-glucose) (Gibco)
- Προπιονικό οξύ (Sigma)
- Methyl-4-hydroxybenzoate(nipagine) (Sigma)
- Αιθανόλη (absolute) (Scharlau)
- Αποσταγμένο H₂O

Δοσολογίες συστατικών για 1000ml H₂O – Κανονική Τροφή:

Agar	7,5g
------	------

Μαγιά	50g
Αλεύρι	35g
Ζάχαρη	35g
Γλυκόζη	20g
Προπιονικό	4ml
10% *Nipagine in EtOH	25ml

*Methyl-4-hydroxybenzoate (αντιμυκητοκτόνο)

Η τροφή διατηρείται στο ψυγείο (4°C) για περίπου μια βδομάδα.

2.4 Πειραματικό Πρωτόκολλο:

Στην συγκεκριμένη έρευνα χρησιμοποιήθηκαν αρσενικά στελέχη *Drosophila melanogaster* τύπου Oregon-R (αγρίου τύπου) και για τα 3 πειράματα. Τα στελέχη γεννήθηκαν σε γνωστές ημερομηνίες, τράφηκαν με τροφή συγκεκριμένης σύστασης, αναπτύχθηκαν σε σταθερές περιβαλλοντικές συνθήκες με θερμοκρασία 24 βαθμών Κελσίου. Τα άτομα άλλαζαν φιαλίδια 2 φορές την εβδομάδα, μέχρι να φτάσουν τις 40-50 ημέρες.

Για το πείραμα στέρησης τροφής και νερού τα άτομα απομονώθηκαν σε άδεια φιαλίδια. Για το πείραμα στέρησης τροφής τα άτομα απομονώθηκαν σε φιαλίδια με μείγμα άγαρ-νερό, όπου για την συγκεκριμένη παρασκευή χρησιμοποιήθηκαν 10gr άγαρ για 1L νερού. Για το πείραμα του οξειδωτικού stress, 3% v/v H₂O₂ προστέθηκε στη κανονική τροφή.

2.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΙΝΤΕΟ

Η ανάλυση των βίντεο και στα τρία πειράματα έγινε με ακρίβεια, μέσω του προγράμματος Windows Media player. Για να υπάρχει απόλυτη ακρίβεια

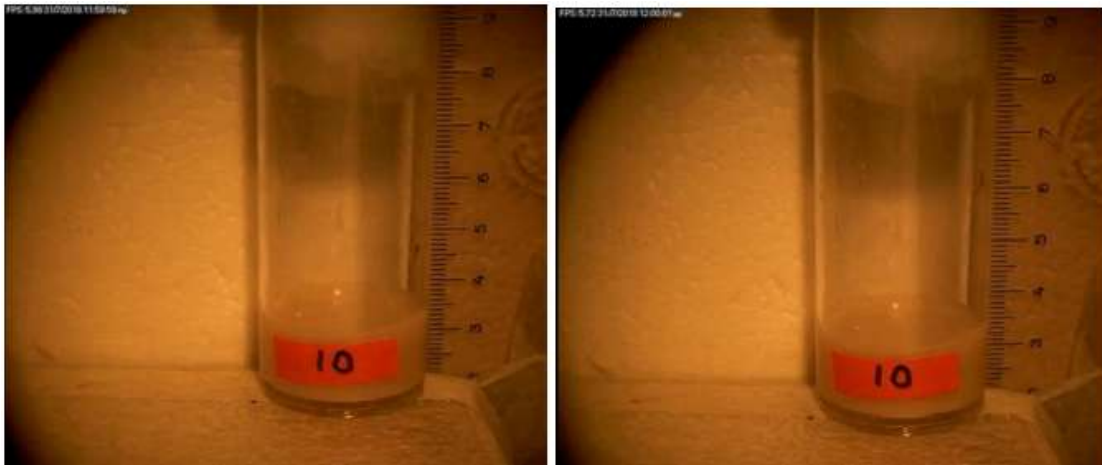
χρησιμοποιήθηκε χάρακας, μετρήθηκαν μόνο οι ευθύγραμμες προσπάθειες αναρρίχησης των ζώων και για το κάθε ζώο μετρήθηκαν 3 προσπάθειες.

Επιπλέον, για την ανάλυση της ταχύτητας και στα τρία αυτά πειράματα, χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$\text{διανυσματική μέση ταχύτητα} = \frac{\text{μετατόπιση}}{\text{χρονικό διάστημα}}$$

ή συμβολικά $\vec{v} = \frac{\Delta\vec{x}}{\Delta t}$

όπου $\Delta x = X_T - X_A$ με X_T την τελική θέση και X_A την αρχική θέση και $\Delta t = t_T - t_A$ με t_T και t_A τις αντίστοιχες χρονικές στιγμές, όπως, φαίνεται και στην παρακάτω (Εικόνα 2.3).



Εικόνα 2.3: Στιγμιότυπο από την ανάλυση βίντεο, όπου φαίνεται η αρχική και τελική θέση, για το ίδιο ζώο με την αριθμηση 10, σε μία από τις προσπάθειες αναρρίχησης.

2.6 Δυσκολίες της πειραματικής μελέτης

- Ακύρωση πειράματος λόγω έλλειψης ικανού αριθμού αρσενικών στελεχών.
- Ακύρωση πειράματος εξαιτίας θανάτου πολλών ζώων κατά την διάρκεια του πειράματος
- Κάποια ζώα δεν έκαναν την αναρρίχηση την στιγμή που απαιτούσε το πείραμα
- Κάποια ζώα δεν ακολουθούσαν ευθύγραμμη πορεία κατά την αναρρίχηση κάνοντας την διαδικασία χρονοβόρα

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1^ο Πείραμα

Για το πρώτο πείραμα (desiccation), από πληθυσμό ηλικίας 50 ημερών επιλέχτηκαν τυχαία 153 αρσενικά άτομα κατόπιν αναισθητοποίησης τους με CO₂ και τοποθετήθηκαν σε αριθμημένα φιαλίδια. Την επόμενη ημέρα, πραγματοποιήθηκε η δοκιμασία αναρρίχησης για κάθε άτομο ξεχωριστά. Το κάθε ζώο αφού δεχόταν το ερέθισμα κάθετης πρόσκρουσης σε σταθερή επιφάνεια, χρονομετρούνταν και καταγράφονταν με ειδική κάμερα μέσω του προγράμματος spy. Καταγράφηκαν τουλάχιστον 3 προσπάθειες αναρρίχησης για το κάθε άτομο. Οι αποτυχημένες προσπάθειες επίσης καταγράφονταν. Ως αποτυχημένες προσπάθειες, εννοούνται αυτές κατά τις οποίες το άτομο δεν κατάφερε να κάνει αναρρίχηση.

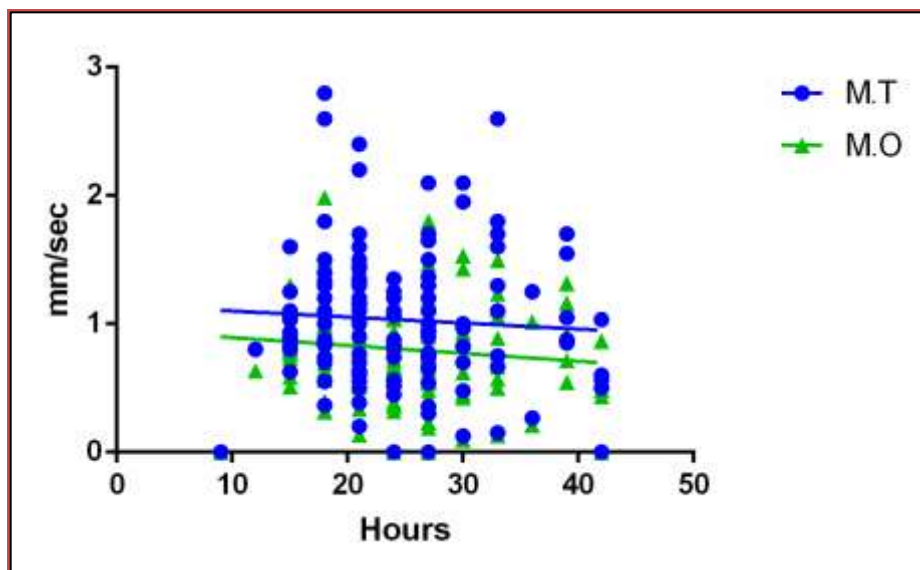
Μετά το πέρας της δοκιμασίας τα άτομα μεταφέρθηκαν σε άδεια φιαλίδια, χωρίς καθόλου τροφή, καταγράφοντας έτσι την διάρκεια ζωής για το κάθε ένα χωριστά. Τελική μέτρηση έγινε σε 147 άτομα (τελικό N=147), καθώς κατά την μεταφορά χάθηκαν 6 άτομα. Ανά 3 ώρες γινόταν έλεγχος για πιθανούς θανάτους μέχρι που τα τελευταία ζώα πέθαναν μετά από 42 ώρες, όπως φαίνεται και από την παρακάτω καταγραφή (Πίνακας 3.1).

1 ^ο ΠΕΙΡΑΜΑ/ ΩΡΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΙΑΛΙΔΙΟΥ
3	κανένα
6	κανένα
9	6
12	91
15	130, 41, 29, 44, 133, 106, 137, 1, 4, 5, 11, 23, 27
18	2, 14, 8, 17, 24, 26, 18, 102, 62, 126, 99, 84, 79, 93, 92, 116, 97, 47, 125, 134
21	129, 55, 54, 43, 108, 104, 122, 74, 120, 32, 34, 42, 39, 31, 30, 117, 96, 78, 105, 65, 81, 10, 132, 75, 85, 90, 146, 60, 25, 21, 3, 7, 12, 13
24	20, 28, 80, 64, 115, 9, 143, 88, 67, 127, 153, 109, 73, 57, 46, 45,

	147, 59, 56, 100
27	70, 136, 89, 53, 69, 40, 38, 142, 36, 35, 141, 148, 149, 76, 77, 151, 139, 83, 19, 58, 68, 61, 112, 114, 87, 86
30	113, 98, 82, 95, 94, 72, 49, 50, 128, 37, 66,
33	124, 118, 119, 144, 48, 140, 71, 103, 33
36	111, 123
39	145, 152, 51, 121, 138
42	52, 150, 22, 101, 15

Πίνακας 3.1: καταγραφή ώρας θανάτου για το κάθε ζώο, ανά 3 ώρες.

Η επεξεργασία των δεδομένων παρουσιάζεται διαγραμματικά παρακάτω (Διάγραμμα 3.1). Στο διάγραμμα αυτό φαίνεται η διάρκεια ζωής όλων των ατόμων σε σχέση με την ταχύτητα αναρρίχησης που τα άτομα επέδειξαν μία ημέρα πριν την έναρξη του πειράματος. Στο διάγραμμα, το μπλε χρώμα υποδηλώνει τη μέγιστη ταχύτητα και το πράσινο χρώμα το μέσο όρο της ταχύτητας αναρρίχησης.



Διάγραμμα 3.1: Συσχέτιση ταχύτητας και διάρκειας ζωής.

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση παρατηρήθηκε, ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβλητών (Πίνακας 3.2). Πιο αναλυτικά, δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της μέγιστης ταχύτητας και τη διάρκειας ζωής, καθώς και του μέσου όρου της ταχύτητας με την ώρα θανάτου του ατόμου.

Desiccation	R	P
MT	r=-0,063	p=0,4486
MO	r=-0,1131	P=0,1726

Πίνακας 3.2: Στατιστική ανάλυση μέγιστης ταχύτητας (MT) και μέσου όρου(MO) ταχύτητας.

2^ο Πείραμα

Για το δεύτερο πείραμα (starvation), από πληθυσμό ηλικίας 60 ημερών επιλέχτηκαν τυχαία 100 αρσενικά αφού διαχωρίστηκαν από θηλυκά και αναισθητοποιήθηκαν με CO₂. Τοποθετήθηκαν με τον ίδιο τρόπο σε αριθμημένα φιαλίδια με νέα τροφή. Την επόμενη μέρα καταγράφηκε μέσω κάμερας η δοκιμασία αναρρίχησης με το ίδιο πρόγραμμα του πρώτου πειράματος. Παρατηρήθηκε ότι είχαν πεθάνει 3 ζώα και έτσι προέκυψε ο τελικός αριθμός (N=97) ατόμων που συμμετείχαν στη δοκιμασία στέρησης τροφής.

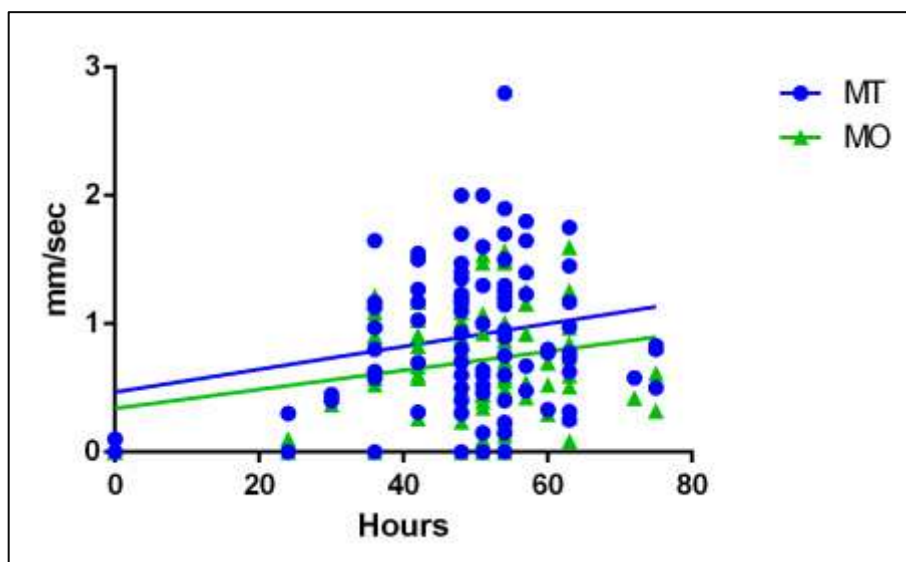
Την επόμενη μέρα τοποθετήθηκαν τα άτομα στα φιαλίδια με το μείγμα νερού και άγαρ. Ο πρώτος έλεγχος έγινε μετά από 24 ώρες, στη συνέχεια ανά 6 ώρες για τις επόμενες 4 ημέρες και τέλος ανά 3 ώρες μέχρι να καταγραφεί και ο τελευταίος θάνατος. Τα τελευταία ζώα πέθαναν μετά από 75 ώρες (Πίνακας 3.3).

2ο ΠΕΙΡΑΜΑ/ ΩΡΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΙΑΛΙΔΙΟΥ
0	91, 96
24	74, 6
30	10, 35
36	64, 62, 83, 87, 88, 93, 99, 100
42	32, 34, 49, 57, 56, 71, 75, 97, 98
48	7, 2, 15, 17, 19, 20, 21, 31, 45, 48, 55, 60, 65, 66, 73, 76, 77, 90, 95
51	14, 16, 22, 27, 33, 40, 46, 58, 82, 84, 86
54	3, 11, 12, 13, 18, 24, 29, 36, 37, 38, 39, 41, 51, 53, 54, 63, 67, 72, 78, 79
57	25, 26, 43, 50, 70, 81

60	4, 5 , 69
63	9, 44, 52, 59, 61, 80, 85, 92, 94
66	κανένα
69	κανένα
72	30
75	1, 8, 47

Πίνακας 3.3: καταγραφής ώρας θανάτου για το κάθε ζώο, ανά 24, 6 και 3 ώρες

Η επεξεργασία των δεδομένων παρουσιάζεται διαγραμματικά παρακάτω (Διάγραμμα 3.2). Όπως προηγουμένως, στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζεται η διάρκεια ζωής των ατόμων σε σχέση με την ταχύτητα αναρρίχησης τους. Το μπλε χρώμα προσδιορίζει την μέγιστη ταχύτητα και το πράσινο χρώμα τον μέσο όρο.



3.2. Διάγραμμα συσχέτισης ταχύτητας και διάρκειας ζωής

Από το δεύτερο πείραμα, φαίνεται ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβλητών. Συνεπώς, δεν υπάρχει συσχέτιση της μέγιστης ταχύτητας, καθώς και του μέσου όρου της ταχύτητας με την διάρκεια ζωής του ατόμου όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3.4.

Starvation	R	P
MT	$r=0,1039$	$p=0,3165$
MO	$r=0,1113$	$p=0,2829$

3.4 Πίνακας στατιστικής ανάλυσης μέγιστης ταχύτητας (MT) και μέσου όρου(MO) ταχύτητας

3^ο Πείραμα

Για το τρίτο πείραμα (oxidative stress), από πληθυσμό ηλικίας 40 ημερών επιλέχθηκαν τυχαία 105 αρσενικά μετά από διαχωρισμό τους από θηλυκά με CO₂, με τον ίδιο τρόπο με τα δύο παραπάνω πειράματα. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν το κάθε άτομο χωριστά σε φιαλίδια αριθμημένα με καινούργια τροφή. Την επόμενη μέρα έγινε η δοκιμασία αναρρίχησης μέσω κάμερας και μέσω του ίδιου προγράμματος με τα δύο προηγούμενα πειράματα.

Παρασκευάστηκαν δύο ειδών τροφές για το συγκεκριμένο πείραμα, η πρώτη παρασκευή είναι τροφή που παρασκευάστηκε με μείγμα άγαρ-νερό (10gr/1000ml), με τον ίδιο τρόπο που αναφέρεται στο δεύτερο πείραμα. Η δεύτερη τροφή που παρασκευάστηκε ήταν οξειδωτική τροφή, δηλαδή περιείχε hydrogen peroxide (3% v/v). Η διαδικασία είχε ως εξής: εφόσον παρασκευάστηκε 1L τροφής, με τον τρόπο και τα συστατικά που αναφέρονται στο πρωτόκολλο, τοποθετήθηκαν 30ml hydrogen peroxide (3% v/v) στο τέλος της παρασκευής, όταν η θερμοκρασία της τροφής έφτασε τους 30 βαθμούς Κελσίου. Η οξειδωτική τροφή μπήκε σε 105 φιαλίδια.

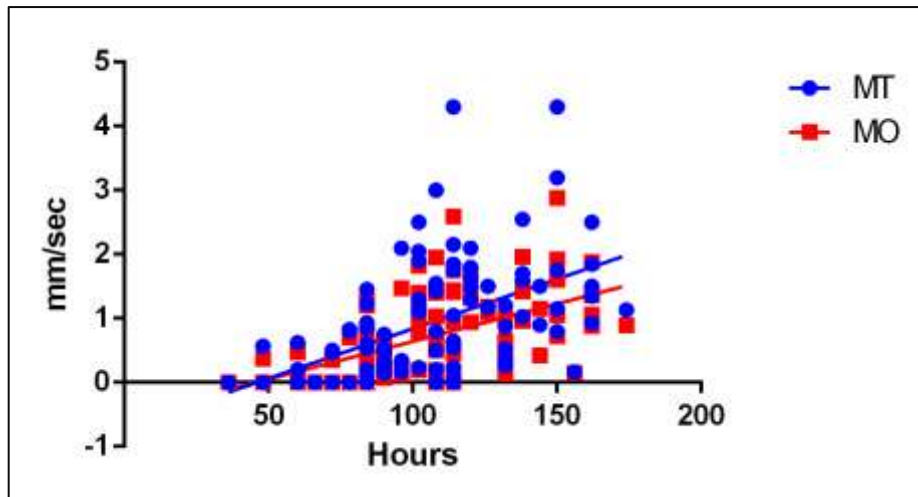
Μετά την καταγραφή της αναρρίχησης, τα άτομα μπήκαν σε φιαλίδια με τροφή που περιείχε μόνο άγαρ και νερό και παρέμειναν εκεί για 7 ώρες. Έπειτα, μεταφέρθηκαν τα άτομα σε φιαλίδια με οξειδωτική τροφή και παρέμειναν εκεί για 48 ώρες. Τέλος, τα ζώα μπήκαν σε φιαλίδια με κανονική τροφή μέχρι το θάνατό τους. Στην αρχή σημειώθηκαν οι θάνατοι που έγιναν τις πρώτες 24 ώρες, ξανά μετά από 12 ώρες και πάλι μετά από 12 ώρες, ύστερα μετά από 6 ώρες και έτσι συνεχίστηκαν οι μετρήσεις ανά 6 ώρες, μέχρι που το τελευταίο πέθανε 174 ώρες μετά (Πίνακας 3.5).

3 ^ο ΠΕΙΡΑΜΑ/ ΩΡΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΙΑΛΙΔΙΟΥ
24	κανένα
36	31, 33
48	34, 42, 73, 101

54	κανένα
60	19, 46, 55, 90, 102, 95
66	69, 44, 52, 81
72	75, 103, 89, 10
78	12, 9, 86, 92
84	76, 40, 94, 41, 87, 39, 18, 80, 54, 65, 85, 16, 26
90	47, 50, 56, 35, 64, 4, 48
96	22, 3, 93, 68
102	53, 74, 70, 66, 38, 5, 15, 28
108	13, 61, 49, 51, 32, 63, 29
114	43, 37, 2, 67, 62, 45, 57, 20, 96, 84, 36
120	99, 83, 100, 105, 23
126	21, 77
132	25, 7, 1, 82, 97, 104
138	6, 71, 14, 27
144	58, 88
150	24, 17, 60, 72, 78
156	79
162	91, 11, 59, 8, 30
168	κανένα
174	98

3.5. Πίνακας καταγραφής ώρας θανάτου για το κάθε ζώο, ανά 24, 12, 6 ώρες.

Η επεξεργασία των δεδομένων παρουσιάζεται διαγραμματικά παρακάτω (Διάγραμμα 3.3). Όπως φαίνεται εδώ, συσχετίζονται η διάρκεια ζωής των ατόμων με την ταχύτητα αναρρίχησης, όπου με μπλε χρώμα αναφέρεται η μέγιστη ταχύτητα και με κόκκινο ο μέσος όρος.



3.3 Διάγραμμα συσχέτισης ταχύτητας και διάρκειας ζωής

Στο τρίτο πείραμα, παρατηρείται ικανοποιητική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβλητών (Πίνακας 3.6). Δηλαδή, υπάρχει θετική ισχυρή συσχέτιση ($p < 0,0001$), τόσο μεταξύ της μέγιστης ταχύτητας, όσο και μεταξύ του μέσου όρου ταχύτητας με την διάρκεια ζωής των ατόμων.

Oxidative stress	R	P
MT	$r=0,6405$	$p=<0,0001$
MO	$r=0,6389$	$p=<0,0001$

3.6 Πίνακας στατιστικής ανάλυσης μέγιστης ταχύτητας (MT) και μέσου όρου(MO) ταχύτητας

4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα δύο πρώτα πειράματα desiccation και starvation δημιούργησαν πολύ έντονο stress στα αρσενικά στελέχη της *Drosophila*. Μάλιστα, το stress ήταν τόσο έντονο που τόσο τα γρήγορα ζώα όσο και τα πιο αργά επηρεάστηκαν το ίδιο. Στο τρίτο πείραμα που ήταν οξύ θανατογόνο στρες (oxidative stress), όπου τα ζώα τράφηκαν κανονικά όλες τις μέρες μέχρι να πεθάνουν, άφησε το περιθώριο στα ζώα που είχαν πιο καλή φυσική κατάσταση να πάρουν το προβάδισμα. Επομένως, η παντελής έλλειψη τροφής και νερού (desiccation) και η παντελής έλλειψη τροφής (starvation) επηρέασε τόσο πολύ τα ζώα που ουσιαστικά η καλή φυσική κατάσταση δεν έπαιξε κάποιο ρόλο. Το οξύ θανατογόνο stress (oxidative

stress) που διήρκησε και περισσότερες μέρες έδωσε το πλεονέκτημα στα γρήγορα ζώα να πεθάνουν πιο αργά και στα πιο αργά ζώα να πεθάνουν πιο γρήγορα ακολουθώντας το φυσιολογικό πρότυπο θανάτου. Συμπερασματικά, τα ζώα με καλή φυσική κατάσταση έζησαν περισσότερο από τα ζώα με την λιγότερο καλή φυσική κατάσταση.

BIBLIOΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Adams, M. D., Celniker, S. E. *et al.* (2000) The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461),2185-95.
- Ali, Y. O., Escala, W., Ruan, K., & Zhai, R. G. (2011) Assaying locomotor, learning, and memory deficits in *Drosophila* models of neurodegeneration. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (49), 2504.
- Allocca, M., Zola, S. & Bellosta, P. (2018). The Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*: Modeling of Human Diseases (Part II). In: F. K. Perveen ed. *Drosophila melanogaster - Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics*. [e-book] Rijeka, Croatia: InTech Available at: <https://www.researchgate.net/publication/323462588_The_Fruit_Fly_Drosophila_melanogaster_Modeling_of_Human_Diseases_Part_II> [Accessed 13 February 2018].
- Alves, R V, Mota, J, Costa, M, & Alves, G B. (2004) Aptidão física relacionada à saúde de idosos: influência da hidroginástica. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 10(1), 31-37.
- Arking, R. & Wells, R.A., (1990) Genetic alteration of normal aging processes is responsible for extended longevity in *Drosophila*. *Dev Genet*. 11(2), 141-8.
- B. J. Sinclair, A. G. Gibbs and S. P. Roberts (2007) Gene transcription during exposure to, and recovery from, cold and desiccation stress in *Drosophila melanogaster*. *Insect Molecular Biology*. 16(4), 435-43.
- Badre NH, Martin ME, Cooper RL (2005) The physiological and behavioral effects of carbon dioxide on *Drosophila melanogaster* larvae. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 140(3), 363-76.
- Balaban R.S, Nemoto S., Finkel, T.(2005) Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*, 120, 483–495.
- Baldal E., Brakefield P., Zwaan B., (2006) MULTITRAIT EVOLUTION IN LINES OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* SELECTED FOR INCREASED STARVATION RESISTANCE: THE ROLE OF METABOLIC RATE AND IMPLICATIONS FOR THE EVOLUTION OF LONGEVITY. *Evolution*, 60(7):1435-1444.
- Bartholomew N. R., Burdett J. M., VandenBrooks J. M., . Quinlan M. C., and Call G.B. (2015) Impaired climbing and flight behaviour in *Drosophila melanogaster* following carbon dioxide anaesthesia. *Scientific Reports*, 5(15298), 1-10.
- Benjamin K., Garcia A., Kapoor H., Post R., (2009) Late life physiology in *Drosophila Melanogaster*. The UCI undergraduate research journal. pp. 13-22.
- Bier, E., (2005) *Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics. *Nature Reviews Genetics*, 6, 9–23.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization journal*, 5(1), 9-19.
- Black C.N, Bot M., Révész D., Scheffer, P.G, Penninx, B., (2017) The association between three major physiological stress systems and oxidative DNA and lipid damage. *Psychoneuroendocrinology*,80,56-66.
- Blair, S. N., Kohl H. W.I, Paffenbarger R. S., Clark, D.G., Cooper, K.H. & Gibbons L.W.,(1989) Physical Fitness and All-Cause MortalityA Prospective Study of Healthy Men and Women. *JAMA*. 262(17), 2395–2401.

Bonilla, E, Medina-Leendertz, S., & Díaz, S. (2002) Extension of life span and stress resistance of *Drosophila melanogaster* by long-term supplementation with melatonin. *Exp Gerontol.* 37(5),629-38.

Bouزيد MA, Filaire E, Matran R, Robin S and Fabre C. (2018) Lifelong Voluntary Exercise Modulates Age-Related Changes in Oxidative Stress. *Int J Sport Med.* 39 (1),21–28.

Branco, J. C., Jansen, K., Sobrinho, J. T., Carrapatoso, S., Spessato, B., Carvalho, J., Mota, J., & Silva, R. A. (2015) Physical benefits and reduction of depressive symptoms among the elderly: Results from the Portuguese "National Walking Program". *Ciência & Saúde Coletiva*, 20(3), 789-795.

Buchon, N., Silverman, N., & Cherry, S. (2014) Immunity in *Drosophila melanogaster*--from microbial recognition to whole-organism physiology. *Nature reviews. Immunology*, 14(12), 796-810.

Caspersen, C.J., Powell, K.E., & Christenson, G.M., (1985) Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public health reports.* 100(2), 126-31.

Cenci, A., (2010) Climbing behavior. In : K. Kompoliti and N. L. Metman, eds. The encyclopedia of movement disorders. Chicago: Academic Press. pp 226-227.

Chadha, A., & Cook, B. (2014) The effect of stress on motor function in *Drosophila*. *PloS one*, 9(11), e112076.

Chan L. K., Omer I., Bhattacharya, S. & Oana M. (2012) Estimating the speed of *Drosophila* locomotion using an automated behavior detection and analysis system. *Fly*, 6(3), 205-210.

Chen S. Y., Leask K. P , MacKinnon S. W., Ramanaden Y. J. and Yoon J. H. (2014) The effects of temperature on the time to maturation of *Drosophila melanogaster*. *The Expedition.* 3 (2013). Available through: < <https://ojs.library.ubc.ca/index.php/expedition/article/view/184797>> .

Chippindale A., Chu T. and Rose M., (1996) Complex trade-offs and the evolution of starvation resistance in *Drosophila Melanogaster*. *Evolution.* 50(2), 753-766.

Chippindale A., Gibbs A., Sheik M., Yee K, Djawdan M., Bradley T., Rose M.,(1998) Resource Acquisition and The Evolution of Stress Resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 52 (5), 1342-1352.

Chrousos G.P. & Gold P.W. (1992) The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA.* 267(9), 1244-52.

Chrousos G.P.(2009) Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol.* 5(7), 374-81.

Clark A.G, Fucito C.D.(1998) Stress tolerance and metabolic response to stress in *Drosophila melanogaster*. *Heredity (Edinb).* 81 (5), 514-27.

Clark. D.O., (1996) The effect of walking on lower body disability among older blacks and whites. *American journal of public health*, 86(1), 57-61.

Clarke, H. H. (1971) Basic understanding of physical fitness. *President's Council on Physical fitness and sports Research Digest*, 1 (1).

- Colinet H. and Renault D., (2012) Metabolic effects of CO₂ anaesthesia in *Drosophila melanogaster*. *Biol. Lett.* 8, 1050-1054.
- Colinet H., Chertemps T., Boulogne I., Siaussat D. (2016) Age-related Decline of Abiotic Stress Tolerance in Young *Drosophila melanogaster* Adults, *The Journals of Gerontology: Series A*, 71 (12),1574–1580.
- Consolazio, F.C, Leroy O.M., Johnson, H. L., Nelson, R. A., Krzywicki, H J.,(1967) Metabolic Aspects of Acute Starvation in Normal Humans (10 Days). *The American Journal of Clinical Nutrition*. 20 (7), 672–683.
- Cook-Wiens E. & Grotewiel M.,(2002) Dissociation between functional senescence and oxidative stress resistance in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 37(12),1347-1357.
- Corbin, C.B., Pangrazi, R.P. & Franks B.D., (2000) Definitions: Health, Fitness and Physical Activity. *President's Council on Physical Fitness and Sports Research Digest*. 3(9), 1-11.
- Corbin, C.B., Pangrazi, R.P., (2001) Toward a Uniform Definition of Wellness: A Commentary. *President's Council on Physical Fitness and Sports Research Digest*. 3(15), 1-8.
- Crowley, S. K., Wilkinson, L. L., Wigfall, L. T., Reynolds, A. M., Muraca, S. T., Glover, S. H., Wooten, N. R., Sui, X., Beets, M. W., Durstine, J. L., Newman-Norlund, R. D., & Youngstedt, S. D. (2015) Physical fitness and depressive symptoms during army basic combat training. *Medicine and science in sports and exercise*, 47(1),151-158.
- Cvecka, J., Tirpakova, V., Sedliak, M., Kern, H., Mayr, W., & Hamar, D., (2015) Physical Activity in Elderly. *European journal of translational myology*, 25(4), 249-52.
- Da Lage J.L., Capy P., & David J.R. (1989) Starvation and desiccation tolerance in *Drosophila melanogaster* adults: Effects of environmental temperature. *Journal of Insect Physiology*. 35(6), 453-457.
- Daley, M.J., & Spinks, W.L., (2000) Exercise, mobility and aging. *Sports Med*29(1), 1-12.
- Demerec, M.,&Kaufman P.,(1996) *Drosophila Guide*. 10th. Washington: Carnegie Institution of Washington.
- Djawdan M, Chippindale AK, Rose MR, Bradley TJ. (1998) Metabolic reserves and evolved stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Physiol Zool*. 71(5), 584-94.
- Dobek, J. C , White, K. N. Gunter, K. B, (2013) The Effect of a Novel ADL-Based Training Program on Performance of Activities of Daily Living and Physical Fitness. *Journal of Aging and Physical Activity*. 15(1), 13-25.
- Drapeau M., Gass E., Simison M., Mueller L., Rose M.,(2000) Testing the heterogeneity theory of late-life mortality plateaus by using cohorts of *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*. 35(1), 71-84.
- Duncan, P.W, Weiner, D.K, Chandler, J., Studenski, S., (1990) Functional reach: a new clinical measure of balance. *Journal of Gerontology*. 45(6), 192-7.
- Elliott, B., Mina, M., & Ferrier, C. (2016) Complete and Voluntary Starvation of 50 days. *Clinical medicine insights Case reports*. 9, 67-70.
- Erikssen. G., Liestøl. K., Bjørnholt. J., Thaulow E., Sandvik L. & Erikssen J., (1998) Changes in physical fitness and changes in mortality. *THE LANCET* . 352 ,759-762.

Faintuch, J., Soriano, F G., Ladeira, J P., Janiszewski, M., Velasco, I. T., and Gama-Rodrigues, J. J., (2000) Changes in body fluid and energy compartments during prolonged hunger strike. *Revista do Hospital das Clínicas*. 55(2), 47-54.

Ferrucci, L., Cooper, R., Shardell, M., Simonsick, E. M., Schrack, J. A., & Kuh, D. (2016) Age-Related Change in Mobility: Perspectives From Life Course Epidemiology and Geroscience. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 71(9), 1184-94.

Fink, G. (2010) Stress: Definition and history. *Stress Sci*. 3-9.

Frequet, N., (1997) Effects of Aging on Inhibitory Learning and Short-Term Memory in *Drosophila melanogaster*. *International Journal of Comparative Psychology*, 10(2), 90-109.

Gargano, J., Martin, I., Bhandari, P., & Grotewiel, M. (2005) Rapid iterative negative geotaxis (RING): A new method for assessing age-related locomotor decline in *Drosophila*. *Experimental gerontology*. 40 (5), 386-95.

Gibbs A G, Chippindale, A K, Rose M R (1997) Physiological mechanisms of evolved desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 200, 1821-1832.

Gilchrist, G. W., Huey R. B. and Partridge L., (1997) Thermal sensitivity of *Drosophila melanogaster*: Evolutionary responses of adults and eggs to laboratory natural selection at different temperatures. *Physiol. Zool.* 70 (4), 403-414.

Goodpaster B.H, Park S.W, Harris T.B, Kritchevsky S.B, Nevitt M., Schwartz A.V, Simonsick E.M, Tylavsky F.A, Visser M., & Newman A.B. (2006) The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 61(10), 1059-64.

Grover, D., Ford, D., Brown, C., Hoe, N., Erdem, A., Tavaré, S., & Tower, J. (2009) Hydrogen peroxide stimulates activity and alters behavior in *Drosophila melanogaster*. *PloS one*, 4(10), e7580.

Guralnik, J.M., Ferrucci, L., Simonsick, E.M., Salive, M.E., Wallace, R.B. (1995) Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N Engl J Med*. 332, 556-562.

Hammen, C., Kim, E. Y., Eberhart, N. K., & Brennan, P. A. (2009) Chronic and acute stress and the prediction of major depression in women. *Depression and anxiety*, 26(8), 718-23.

Harman, D. (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*. 11(3):298-300.

Henry, J.P., Stephens, P.M. (1977) Stress, health, and the social environment: A sociobiologic approach to medicine. Berlin: Springer-Verlag, pp. 245–63

Hoffman JR, Maresh CM, Armstrong LE, Gabaree CL, Bergeron MF, Kenefick RW, Castellani JW, Ahlquist LE, Ward A. (1994) Effects of hydration state on plasma testosterone, cortisol and catecholamine concentrations before and during mild exercise at elevated temperature. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 69(4), 294-300.

Hoffmann AA, Hallas R, Sinclair C, Mitrovski P (2001) Levels of variation in stress resistance in *drosophila* among strains, local populations, and geographic regions: patterns for desiccation, starvation, cold resistance, and associated traits. *Evolution*. 55(8), 1621-30.

Huey, R. B., Suess, J. Hamilton, H. and Gilchrist, G.W. (2004), Starvation resistance in *Drosophila melanogaster*: testing for a possible 'cannibalism' bias. *Functional Ecology*, 18, 952-954.

Iliadi, K. G., Knight, D., & Boulianne, G. L. (2012) Healthy aging - insights from *Drosophila*. *Frontiers in physiology*, 3, 106.

Institute of Medicine. 2005. *Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate*. Washington, DC: The National Academies Press.

Jaiswal, M., Sandoval, H., Zhang, K., Bayat, V., & Bellen, H. J. (2012) Probing mechanisms that underlie human neurodegenerative diseases in *Drosophila*. *Annual review of genetics*, 46, 371-96.

Jennings B. H., (2011) *Drosophila* – a versatile model in biology & medicine, *Materials Today*, 14 (5),190-195.

Jeoung. B.J., (2015) Correlation between physical fitness and fall efficacy in elderly women in Korea. *Journal of exercise rehabilitation*, 11(3), 151-4.

Jones, C.J. & Rikli, R. E. (2002) Measuring functional fitness of older adults. *International Journal of Active Aging*. 1, 25-30.

Jones, M. A., & Grotewiel, M. (2010) *Drosophila* as a model for age-related impairment in locomotor and other behaviors. *Experimental gerontology*, 46(5), 320-5.

Jones, M. A., & Grotewiel, M. (2010). *Drosophila* as a model for age-related impairment in locomotor and other behaviors. *Experimental gerontology*, 46(5), 320-5.

Judd, B. H. (2001) *Experimental Organisms Used in Genetics*. eLS, Available through: Wiley Online Library <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/npg.els.0000814/figures> >.

Kaewbutra S, Wattanathorn J, Thukham-mee W, Muchimapura S & Tong-Un T (2016) Cashew Apple Juice Improves Physical Fitness and Oxidative Stress Status in the Middle-Aged and Elderly Volunteers. *J Med Assoc Thai*. 5,161-72.

Kang L., Aggarwal D., Rashkovetsky E., Korol A. and Michalak P. (2016) Rapid genomic changes in *Drosophila melanogaster* adapting to desiccation stress in an experimental evolution system. *BMC Genomics*. 17 (1),233.

Kaun, K. R., Devineni, A. V., & Heberlein, U. (2012) *Drosophila melanogaster* as a model to study drug addiction. *Human genetics*, 131(6), 959-75.

Keeton, G.R. (1993) *Hunger strikers--ethical and management problems*. *S Afr Med J*, 83, 380-1.

Kettunen O, Vuorimaa T, Vasankari T.(2015) A 12-month exercise intervention decreased stress symptoms and increased mental resources among working adults - Results perceived after a 12-month follow-up. *Int J Occup Med Environ Health*. 28(1),157-68.

Kokkinos, P. (2014) Physical Fitness Evaluation. *American Journal of Lifestyle Medicine*. 9(4), 1-9.

Kottusch P, Tillmann M, Püschel K. (2009) Survival time without food and drink. *Arch Kriminol*. 224(5-6),184-91.

- Langhammer, B., Stanghelle, J. K., (2015) The Senior Fitness Test. *Journal of Physiotherapy*, 61(3), 163.
- Le Bourg, É. (2007) Hormetic effects on longevity of hydrogen peroxide in *Drosophila melanogaster* flies living on a poorly nutritious medium. *Biogerontology* 8(3),327-344.
- Le Bourg, É. (2013) Fasting can protect young and middle-aged *Drosophila melanogaster* flies against a severe cold stress. *Biogerontology* 14(5):513-29.
- Le Bourg, E., (2001) Oxidative stress, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *FEBS Lett.*, 498(2-3), 183-6.
- Lee K. P. and Jang T. (2014) Exploring the nutritional basis of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Functional Ecology*. 28, 1144–1155.
- Lexell J, Taylor C.C, Sjöström M. (1988) What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci.*, 84(2-3), 275-94.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P. (2018) Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757-772.
- Lin Y. J., Seroude L., Benzer S. (1998) Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*. *Science* 282, 943–946.
- Lin, P.S., Hsieh, C.C., Cheng, H.S., Tseng, T.J., & Su, S.C. (2016) Association between Physical Fitness and Successful Aging in Taiwanese Older Adults. *PloS one*. 11(3), e0150389.
- Linford, N. J., Bilgir, C., Ro, J., & Pletcher, S. D. (2013) Measurement of lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (71), 50068.
- López-Samanes, Á., G Pallarés, J., Pérez-López, A., Mora-Rodríguez, R., and Ortega, J. F. (2018) Hormonal and neuromuscular responses during a singles match in male professional tennis players. *PloS one*, 13(4), Available through: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5889166/>> [Accessed 6 April 2018].
- Lushchak VI (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact*. 5(224),164-75.
- Mack, G.W, Weseman, C.A, Langhans, G.W, Scherzer, H., Gillen, C.M., Nadel, E.R. (1994) Body fluid balance in dehydrated healthy older men: thirst and renal osmoregulation. *J Appl Physiol*, 76(4), 1615-23.
- Mackay, T., (2010) Mutations and quantitative genetic variation: lessons from *Drosophila*. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 365 (1544), 1229-1239.

- MacMillan HA, Nørgård M, MacLean HJ, Overgaard J, Williams CJA. (2017) A critical test of *Drosophila* anaesthetics: Isoflurane and sevoflurane are benign alternatives to cold and CO₂. *J Insect Physiol.* 101,97-106.
- Madabattula, S. T., Strautman, J. C., Bysice, A. M., O'Sullivan, J. A., Androschuk, A., Rosenfelt, C., Doucet, K., Rouleau, G., & Bolduc, F. (2015) Quantitative Analysis of Climbing Defects in a *Drosophila* Model of Neurodegenerative Disorders. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (100), 52741.
- Manenti, T., Pertoldi, C., Nasiri, N., Schou M., Kjaersgaard A., Cavicchi S. and Loeschcke V. (2015) Inbreeding Affects Locomotor Activity in *Drosophilamelanogaster* at Different Ages. *Behav Genet.* 45 (1), 127-134.
- Manty, M., Heinonen, A., Leinonen, R., Törmäkangas, T., Sakari-Rantala, R., Hirvensalo, M., von Bonsdorff, M., & Rantanen, T., (2007) Construct and Predictive Validity of a Self-Reported Measure of Preclinical Mobility Limitation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation.* 88(9), 1108-1113.
- Marron M.T, Markow T.A, Kain KJ, Gibbs A.G.(2003) Effects of starvation and desiccation on energy metabolism in desert and mesic *Drosophila*. *J Insect Physiol.* 49(3),261-70.
- Matsuda, M, & Shimomura, I. (2013) Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obes Res Clin Pract.* 7(5), 330-341.
- McCue, M.D. (2010) Starvation physiology: reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 156(1):1-18.
- Meehan, M. J., & Wilson R., (1987) Locomotor activity in the Tyr-1 mutant of *Drosophila melanogaster*. *Behav. Genet.* 17, 503-512.
- Melis, A., Soetens, E., & van der Molen, M.W. (2002) Process-specific slowing with advancing age: evidence derived from the analysis of sequential effects. *Brain and Cognition,* 49(3), 420-35.
- Meshrif W. S., Elkholy S. E.,(2015) Genotype and environment shape the fitness of *Drosophila melanogaster*, *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 68, 1-9.
- Milanović, Z., Pantelić, S., Trajković, N., Sporiš, G., Kostić, R., & James, N. (2013) Age-related decrease in physical activity and functional fitness among elderly men and women. *Clinical interventions in aging.* 8, 549-56.
- Miller, G.E. & Blackwell, E. (2006) 'Turning Up the Heat: Inflammation as a Mechanism Linking Chronic Stress, Depression, and Heart Disease', *Current Directions in Psychological Science.* 15(6), 269–272.
- Miquel J. , Lundgren P. R., Bensch K. G., Atlan H., (1976) Effects of temperature on the life span, vitality and fine structure of *Drosophila melanogaster*. *Mechanisms of Ageing and Development,* 5, 347-370.
- Neckameyer WS, Weinstein JS. (2005) Stress affects dopaminergic signaling pathways in *Drosophila melanogaster*. *Stress.* 8(2), 117-31.

Nghiem D, Gibbs AG, Rose MR, Bradley TJ. (2000) Postponed aging and desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Exp Gerontol.* 35(8), 957-69.

Nicolaidis, S. (1998) Physiology of thirst. In *Hydration Throughout Life*, Montrouge: John Libbey Eurotext.

Nicolas G., and Sillans D., (1989) Immediate and Latent Effects of Carbon Dioxide on Insects. *Annual Review of Entomology* 34(1), 97-116.

Nilson, T. L., Sinclair, B. J., & Roberts, S. P. (2006) The effects of carbon dioxide anesthesia and anoxia on rapid cold-hardening and chill coma recovery in *Drosophila melanogaster*. *Journal of insect physiology*, 52(10), 1027-33.

Niveditha S, Deepashree S, Ramesh SR, Shivanandappa T. (2017) Sex differences in oxidative stress resistance in relation to longevity in *Drosophila melanogaster*. *J Comp Physiol B.* 187(7),899-909.

Norris, R., Carroll, D., Cochrane R., (1992) The effects of physical activity and exercise training on psychological stress and well-being in an adolescent population , *Journal of Psychosomatic Research* , 36 (1) , 55 – 65.

O'Grady PM, Markow TA. (2009) Phylogenetic taxonomy in *Drosophila*. *Fly (Austin)*. 3(1), 10-4.

Ong, Cynthia & Lanry Yung, Lin-Yue & Cai, Yu & Bay, Boon-Huat & Baeg, Gyeong. (2014). *Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. *Nanotoxicology*. 9. 1-8. 10.3109/17435390.2014.940405.

Orso, G., Martinuzzi, A., Rossetto, M. G., Sartori, E., Feany, M., & Daga, A. (2005) Disease-related phenotypes in a *Drosophila* model of hereditary spastic paraplegia are ameliorated by treatment with vinblastine. *The Journal of clinical investigation*, 115(11), 3026-34.

Ozougwu. J. C.,(2016) The Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Oxidative Stress, *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, 3 (6),1-8.

Pandey, U. B., & Nichols, C. D. (2011) Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological reviews*, 63(2), 411-36.

Paoli, A. & Bianco, A., (2015) What is Fitness training? Definitions and Implications: A

Parvathi D.V , Amritha A.S , Paul S., (2009) *Wonder Animal Model for Genetic Studies – . Drosophila melanogaster – its life cycle and breeding methods – A review*. Sri Ramachandra Journal of Medicine. 2(2), 33-38.

Peel M.,(1997) Hunger strikes. *BMJ (Clinical research ed.)*, 315(7112), 829-30.

Phillips P.A, Rolls B.J, Ledingham J.G, Forsling M.L, Morton J.J, Crowe M.J, Wollner L. (1984) Reduced thirst after water deprivation in healthy elderly men. *N Engl J Med.* 311(12), 753-9.

Piazza, N., Gosangi, B., Devilla, S., Arking, R., & Wessells, R. (2009) Exercise-training in young *Drosophila melanogaster* reduces age-related decline in mobility and cardiac performance. *PLoS one*, 4(6), 5886.

Piper, M. D., & Partridge, L. (2016) Protocols to Study Aging in *Drosophila*. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1478, 291-302.

Prentice A.M., (2005) Starvation in humans: Evolutionary background and contemporary implications, *Mechanisms of Ageing and Development*, 126 (9), 976-981.

Puhlev, I, Guo, N., Brown, D.R, Levine, F. (2001) Desiccation tolerance in human cells. *Cryobiology*. 42(3), 207-17.

Rabasa, C., Dickson S. L., (2016) Impact of stress on metabolism and energy balance. *Current Opinion in Behavioral Sciences*. 9, 71-77.

Rahman T., Hosen I, Islam M., Shekhar H.(2012) Oxidative stress and human health, *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3, 997-1019

Ranabir, S., Reetu, K. (2011) Stress and hormones. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 15(1), 18-22.

Reiter, L. T., Potocki, L., Chien, S., Gribskov, M., & Bier, E. (2001) A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genome research*, 11(6), 1114-25.

Repka, C. P., and Hayward, R. (2016) Oxidative Stress and Fitness Changes in Cancer Patients after Exercise Training. *Medicine and science in sports and exercise*. 48(4), 607-14.

Rhodenizer, D., Martin, I.P., Bhandari, P., Pletcher, S.D., & Grotewiel, M. (2008) Genetic and environmental factors impact age-related impairment of negative geotaxis in *Drosophila* by altering age-dependent climbing speed. *Experimental gerontology*, 43 (8), 739-48.

Rhodenizer, D., Martin, I.P., Bhandari, P., Pletcher, S.D., & Grotewiel, M. (2008) Genetic and environmental factors impact age-related impairment of negative geotaxis in *Drosophila* by altering age-dependent climbing speed. *Experimental gerontology*, 43 (8), 739-48.

Rion, S. & Kawecki, T. J. (2007) Evolutionary biology of starvation resistance: what we have learned from *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(5),1655-1664.

Roos M.R., Rice C. L. & Vandervoort A. A., (1997) Age-related changes in motor unit function. *Muscle Nerve*, 20(6), 679-90.

Rose MR, Vu LN, Park SU, Graves JL Jr. (1992) Selection on stress resistance increases longevity in *Drosophila melanogaster*. *Exp Gerontol.* 27(2),241-50.

Roth, D. L., & Holmes, D. S. (1985) Influence of physical fitness in determining the impact of stressful life events on physical and psychologic health. *Psychosomatic Medicine*, 47(2), 164-173.

Sang. J. H. (2001) *Drosophila Melanogaster*: the fruit fly. In: E.Reeve and I. Black. eds, *Encyclopedia of Genetics*, Chicago, London: Fitzroy Dearborn Publishers, pp 157-162.

Schneiderman, N., Ironson, G., & Siegel, S. D. (2005). Stress and health: psychological, behavioral, and biological determinants. *Annual review of clinical psychology*, 1, 607-28.

Schwasinger-Schmidt, T. E., Kachman, S. D., & Harshman, L. G. (2011) Evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*: measurement of direct and correlated responses to artificial selection. *Journal of evolutionary biology*, 25(2), 378-87.

Seegerstrom, S.C., & Miller, G.E. (2004) Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychological bulletin*, 130(4), 601-30.

Sepulveda, S., Shojaeian, P., Rauser, C. L., Jafari, M., Mueller, L. D., & Rose, M. R. (2008) Interactions between injury, stress resistance, reproduction, and aging in *Drosophila melanogaster*. *Experimental gerontology*, 43(3), 136-45.

Shahrestani, P., Quach, J., Mueller, L. D., & Rose, M. R. (2012) Paradoxical physiological transitions from aging to late life in *Drosophila*. *Rejuvenation research*, 15(1), 49-58.

Shaver, J.L, Johnston, S.K, Lentz, M.J,& Landis, C.A. (2002) Stress exposure, psychological distress, and physiological stress activation in midlife women with insomnia. *Psychosom Med.* 64(5), 793-802.

Sies, H. (1985) Oxidative stress. London: Academic Press.

Simioni, C., Zauli, G., Martelli, A. M., Vitale, M., Sacchetti, G., Gonelli, A., & Neri, L. M. (2018) Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget*, 9(24), 17181-17198.

Sinha, R. (2008) Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction, *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1141, 105-30.

Sohal R.S., Mockett R.J., & Orr W.C. (2002) Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radic Biol Med.* 33(5):575-86.

Sohal, R. S., & Weindruch, R. (1996) Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science (New York, N.Y.)*, 273(5271), 59-63.

Sørensen JG, Vermeulen CJ, Flik G, Loeschcke V. (2009) Stress specific correlated responses in fat content, Hsp70 and dopamine levels in *Drosophila melanogaster* selected for resistance to environmental stress. *J Insect Physiol.* 55(8), 700-6.

Soriano Maldonado, A., Ruiz, J. R., Aparicio, V. A., Estévez López, F., Segura Jiménez, V., Álvarez Gallardo, I. C., Carbonell Baeza, A., Delgado Fernández, M. & Ortega, F.B., (2015)

Association of Physical Fitness With Pain in Women With Fibromyalgia: The al Ándalus Project. *Arthritis Care & Research*. 67, 1561-1570.

Stelmach, G.E. & Goggin N.L. (1988) Psychomotor decline with age. *Physical Activity and Aging*. 22,6–17.

Stinziano JR, Sové RJ, Rundle HD, Sinclair BJ. (2015) Rapid desiccation hardening changes the cuticular hydrocarbon profile of *Drosophila melanogaster*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 180,38-42.

Stratton R. J., Green C.J., Elia M. (2003) Disease-related Malnutrition: An Evidence-based Approach to Treatment. UK: CABI publishing.

Stults-Kolehmainen, M. A., & Sinha, R. (2014). The effects of stress on physical activity and exercise. *Sports medicine*, 44(1), 81-121.

Subedi, R., Vartak, R., & Purushottam K. (2017) Management of stress exerted by hydrogen peroxide in *Drosophila melanogaster* using Abhrak bhasma. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 7(12), 65-71.

Sun, Y., Yolitz, J., Wang, C., Spangler, E., Zhan, M., & Zou, S. (2013) Aging studies in *Drosophila melanogaster*. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1048, 77-93. Systematic Review Article. *Iran J Public Health*, 44(5), 602-614.

Traustadóttir, T., Davies, S. S., Su, Y., Choi, L., Brown-Borg, H. M., Roberts, L. J., & Harman, S. M. (2011). Oxidative stress in older adults: effects of physical fitness. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, 34(4), 969-82.

Tsigos, C., Kyrou, I., Kassi, E., et al. (2016) Stress, Endocrine Physiology and Pathophysiology. [Updated 2016 Mar 10]. In: De Groot L.J, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278995/>

Turrens, J.F & McCord, J.M. (1990) Free Radicals, Lipoproteins, and Membrane Lipids. New York: Plenum Press.

Tveter, A., Dagfinrud, H., Moseng, T. & Holm, I., (2014) Measuring health-related physical fitness in physiotherapy practice: reliability, validity and feasibility of clinical field tests and a patient-reported measure. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*. 44(3), 206-216.

U.S. Department of Health and Human Services (2018) *Physical Activity Guidelines Advisory Committee Scientific Report*. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services.

U.S. Department of Health and Human Services. (1996) *Physical Activity and Health: A report of the Surgeon General*. Atlanta: DIANE publishing.

Vermeulen C.J. and Loeschcke V., (2007) Longevity and the stress response in *Drosophila*, *Experimental Gerontology*, 42(3), 153-159.

Vernace, V. A., Arnaud, L., Schmidt-Glenewinkel, T., & Figueiredo-Pereira, M. E. (2007) Aging perturbs 26S proteasome assembly in *Drosophila melanogaster*. *FASEB journal*, 21(11), 2672-82.

World Health Organization, (1968) *Exercise tests in relation to cardiovascular function*. Geneva:WHO.

Yamada, H., Masuda, T., & Okada, M. (2002) Age-related EMG variables during maximum voluntary contraction. *Perceptual and Motor Skills*. 95(1), 10-4.

Yehuda, R., (2002) Post-traumatic stress disorder. *N Engl J Med*. 346, 108–114.

Yoshikawa, T., & Naito, Y., (2002) What Is Oxidative Stress? *JMAJ*, 45(7), 271–276.

Zolfaghari Emameh, R., Syrjänen, L., Barker, H., & Supuran, C., & Parkkila, S. (2014) *Drosophila melanogaster*: A model organism for controlling Dipteran vectors and pests. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 30(3), 1-9.

Zou, S., Meadows, S., Sharp, L., Jan, L. Y., & Jan, Y. N. (2000) Genome-wide study of aging and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(25), 13726-31.

Zwaan B. J., Bijlsma, R., & Hoekstra, R. F. (1991) On the developmental theory of ageing. I. Starvation resistance and longevity in *Drosophila melanogaster* in relation to pre-adult breeding conditions. *Heredity*. 66(1), 29-39.

