

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Μηχανισμοί ευπλαστότητας του νευρικού συστήματος και ο ρόλος  
σηματοδοτικών μορίων στην αναγέννηση των ιστών.**

**ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΟΥ ΑΓΑΠΗ**

**ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΛΙΟΣ 2018**

**Διδακτορική διατριβή της Δημητριάδου Αγάπης της Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ, Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας, με θέμα: «Μηχανισμοί ευπλαστότητας του νευρικού συστήματος και ο ρόλος σηματοδοτικών μορίων στην αναγέννηση των ιστών».**

- Ημερομηνία αίτησης για ορισμό 3 μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: **05-11-2012**

- Ημερομηνία ορισμού 3 μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: **28-01-2013**

- Μέλη της 3 μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

**Χ. Κόνσουλας (Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)-Επιβλέπων**

**Μ. Κουτσιλιέρης (Διευθυντής, Καθηγητής Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)**

**Α. Αρμακόλας (Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)**

- Ημερομηνία ορισμού του θέματος: **30-06-2014**

- Μέλη της 7 μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

**Χ. Κόνσουλας (Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)-Επιβλέπων**

**Μ. Κουτσιλιέρης (Καθηγητής, Διευθυντής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)**

**Α. Αρμακόλας (Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)**

**Μ. Λυμπέρη (Καθηγήτρια, Χειρουργική κλινική, Ιπποκράτειο Νοσοκομείο, ΕΚΠΑ)**

**Μαυραγάνη Κλειώ (Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)**

**Φιλίππου Αναστάσιος (Επίκουρος Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ)**

**Στραβοπόδης Δημήτριος (Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ)**

- Ημερομηνία κατάθεσης διδακτορικής διατριβής: **23-07-2018**

## ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

### ΑΡΧΑΙΟ ΚΕΙΜΕΝΟ:

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ, ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΟΥΜΕΝΟΣ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΤΗΝ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝ ΔΕ.ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΩΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ. ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ. ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΙΑ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩΙ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩΙ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΖΟΜΑΙ ΕΠ'ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΑΙΤΟΥΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α ΔΕ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΓΚΑΛΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ. ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

## ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

### ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ:

Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και σ' όλους τους θεούς και τις θεές, που βάζω μάρτυρες, ότι θα εκπληρώσω τον όρκο μου αυτό και το συμβόλαιο αυτό, σύμφωνα με τη δύναμη μου και την κρίση μου. Ότι θα θεωρώ εκείνον που μου δίδαξε την τέχνη αυτή ίσο με τους γονείς μου, και θα τον κάνω κοινωνικό του βίου μου, και θα του προσφέρω από τα δικά μου ό,τι χρειάζεται. Τους απογόνους του θα θεωρώ ως αδελφούς μου και θα τους διδάξω την τέχνη αυτή, αν επιθυμούν να μάθουν, χωρίς μισθό και χωρίς συμφωνία. Ότι θα μεταδώσω τους επαγγελματικούς κανόνες, τα θεωρητικά μαθήματα και τις υπόλοιπες κάθε είδους ασκήσεις στους γιους μου, στους γιους του διδασκάλου μου, και σε μαθητές που έχουν συνδεθεί μαζί μου με όρκο και συμβόλαιο, κατά τη συνήθεια των ιατρών, και σε κανένα άλλο. Θα χρησιμοποιήσω τη θεραπευτική δίαιτα μόνο για ωφέλεια των αρρώστων, όσο εξαρτάται από τη δύναμη και την κρίση μου, και (υπόσχομαι ότι) θα τους παραφυλάξω από κάθε βλάβη και αδικία. Δεν θα χορηγήσω θανατηφόρο φάρμακο σε κανένα, όσο και αν παρακληθώ, ούτε θα υποδείξω τέτοια συμβουλή. Επίσης δεν θα δώσω σε γυναίκα φάρμακο εκτρωτικό. Αγνή και καθαρή θα διατηρήσω τη ζωή μου και την τέχνη μου. Δεν θα χειρουργήσω οπωσδήποτε αυτούς που χρήζουν (της πράξης), αλλά θα αφήσω την πράξη αυτή στους εξασκημένους. Σε όσα σπίτια προσκαλούμαι, θα μπαίνω για το καλό των αρρώστων, κρατώντας τον εαυτό μου μακριά από κάθε θεληματική αδικία ή διαφθορά και προ πάντων μακριά από κάθε αφροδισιακή πράξη σε σώματα γυναικών και ανδρών, ελευθέρων ή δούλων. Όσα δε κατά τη διάρκεια της θεραπείας θα δω ή θα ακούσω, ή και πέρα από τις ασχολίες μου, στην καθημερινή ζωή, όσα δεν πρέπει ποτέ να κοινολογούνται στους έξω, θα τα αποσιωπώ, θεωρώντας ότι αυτά είναι ιερά μυστικά. Όσο λοιπόν θα τηρώ τον όρκο μου αυτό και δεν θα τον παραβιάζω, είτε να πετυχαίνω στη ζωή και στην τέχνη μου, έχοντας καλό όνομα ανάμεσα στους ανθρώπους. Εάν όμως τον παραβώ και γίνω επίορκος, να πάθω τα αντίθετα.

## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

Αγάπης Δημητριάδου

### *Προσωπικά στοιχεία*

<b>Όνοματεπώνυμο</b>	Αγάπη Δημητριάδου
<b>Ημερομηνία γέννησης</b>	30/04/1987
<b>Τόπος γεννήσεως</b>	Αρμενία
<b>Υπηκοότητα</b>	Ελληνική
<b>Τηλέφωνο επικοινωνίας</b>	6973079868
<b>Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο</b>	agari_demetriadou@live.com
<b>Διεύθυνση κατοικίας</b>	Πάροδος Αγίων Θεοδώρων 23, Άγιος Δημήτριος, Αθήνα

### **Επαγγελματική εμπειρία**

2010-παρόν                      Ιδιαίτερα μαθήματα Βιολογίας

### **Σπουδές**

2013-παρόν                      Υποψήφια διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής, Τομέας Βασικών Επιστημών  
Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό

Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ). Τίτλος διατριβής “ Μηχανισμοί ευπλαστότητας του νευρικού συστήματος και ο ρόλος σηματοδοτικών μορίων στην αναγέννηση των ιστών” Επιστημονικός Υπεύθυνος: Χ. Κόνσουλας, Αναπληρωτής Καθηγητής, Πειραματική Φυσιολογία, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ.

**2012-2013** Τεχνικός εργαστηρίου, Πειραματική Φυσιολογία, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ.

**2012** Πτυχίο Βιολογίας, ΕΚΠΑ με βαθμό «Καλώς»

**2005** Απολυτήριο Λυκείου με βαθμό 19,3 (Άριστα)

**Εκπαίδευση στο εξωτερικό** Σεπτέμβριος 2015- Φεβρουάριος 2016  
Στο εργαστήριο Φυσιολογίας του Βιολογικού τμήματος, Gutenberg University, Mainz, Germany. Εκμάθηση τεχνικών (RNA isolation, qRTPCR, confocal microscopy).

**Ξένες γλώσσες** Αγγλικά Proficiency of Cambridge  
Ρώσικα  
Αρμένικα

**Επιπλέον προσόντα** ECDL Word, Internet, Power Point, Excel, Corel, Graph Pad Prism6 (στατιστική)

## Επιστημονικές Εργασίες

N. Tran, SL Goldsmith, A Dimitriadou, NT Takaesu, C Consoulas and SJ Newfeld (2018). *CORL* expression and function in insulin producing neurons reversibly influences adult longevity in *Drosophila*. *G3: Genes/Genomes/Genetics Early Online*, published on July 13, 2018 as doi:10.1534/g3.118.200572

Gaitanidis A., Dimitriadou A., Dowse H., Sanyal S. Duch C., Consoulas C.  
Pre-death morbidity in *Drosophila* and its compression  
(Υποβλήθηκε προς δημοσίευση)

Gaitanidis A., Dimitriadou A., Kadas D., Sanyal S., Duch C., Consoulas C.  
Selective vulnerability of plastic neuronal circuitry during *Drosophila* late-life pathophysiology.  
(Υπό συγγραφή)

Dimitriadou A., Krikoni S, Fragopoulou A. F., Skouroliakou A. S., Margaritis L.H., Consoulas C.  
Non-ionizing electromagnetic radiation causes irreversible defects in phototaxis behavior and synaptic function in *Drosophila*. (Υπό συγγραφή).

## Ανακοινώσεις σε Συνέδρια

1. A. Dimitriadou, A. F. Fragopoulou, A. S. Skouroliakou, L.H. Margaritis and C. Consoulas. (2013),  
Phototaxis and synaptic function deregulation after exposure of *Drosophila* to wireless DECT and mobile phone electromagnetic fields (EMF). Ελληνική Εταιρεία Νευροεπιστημών, Αθήνα.

2. A. Gaitanidis, D. Kadas, S. Xirou, S. Raikou, A. Dimitriadou, H. Dowse, S. Sanyal, C. Consoulas.

Age-dependent, pre-death morbidity in Drosophila.  
NeuroFly 2014, Hersonisos, Crete, 2014.

3. Norma Takaesu, Agapi Dimitriadou, Janine Quijano, Estela Arciniega, Nancy Tran, Carsten Duch, Christos Consoulas, Stuart Newfeld.  
Connecting dCORL CNS expression and behavioral defects in dCORL mutants. 55<sup>th</sup> Annual Drosophila Research Conference, San Diego, CA March 26-30, 2014.

4. Dimitriadou A, Krikoni S, Fragopoulou A. F., Skouroliakou A. S., Margaritis L.H., Consoulas C. (2016)  
Non-ionizing electromagnetic radiation causes irreversible defects in phototaxis behavior and synaptic function in Drosophila. (Neurofly 2016, Platanias, Chania, Crete).

5. Dimitriadou A., Duch C., and Consoulas C.  
Late life morbidity compression in Drosophila. 27<sup>th</sup> Meeting of the Hellenic Neuroscience Society, 8–10 December 2017.

6. Dimitriadou A., Kadas D., and Consoulas C.  
Functional vulnerability of a plastic neural circuit during drosophila premature death. 27<sup>th</sup> Meeting of the Hellenic Neuroscience Society, 8–10 December 2017.

#### **Παρακολούθηση Συνεδρίων με Πιστοποιητικά:**

1. *Μακροζωία: Ένας ρεαλιστικός στόχος.* Ερευνητικό ινστιτούτο για τη μακροζωία και την πρόληψη των ασθενειών του γήρατος. 8-10 Σεπτεμβρίου, Σάμος.

2. *Παιδιατρική και Παιδοχειρουργική ημερίδα.* Πανεπιστημιακόν Γενικό Νοσοκομείο ΑΤΤΙΚΩΝ. Γενικό Νοσοκομείο Άμφισσας. 15 Οκτωβρίου 2016, Γιάνγιτζειο- Κορδώνειο Πνευματικό Κέντρο, Άμφισσας.

3. Πανελλήνια ημερίδα ιστορίας της ιατρικής. *Η ιστορία της Φυσιολογίας από τους Προσωκρατικούς Φιλοσόφους μέχρι τον Γαληνό.* 25 Νοεμβρίου 2016, Αθήνα. Ίδρυμα



Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ.

4. *Εκεί που η Φιλοσοφία και η Τέχνη συναντούν την Καρδιολογία- Τι νεότερο στην Καρδιολογία;* 7-9 Ιουλίου 2017, Ναύπλιο. Πανελλήνιος Ιατρικός Σύλλογος.

5. *Η Ιστορία της Ενδοκρινολογίας.* Ιστορία της Ιατρικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών. Έρευνα Στη Γυναικεία Αναπαραγωγή, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, 9 Φεβρουαρίου 2018, Αθήνα.

## Ένα μεγάλο ευχαριστώ...

Με το κείμενο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους και στον καθένα ξεχωριστά για την συμβολή τους, ο καθένας με τον τρόπο του, στην επίτευξη ενός μεγάλου στόχου ζωής, της διδακτορικής διατριβής μου.

Πρώτα θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Χ. Κόνσουλα για τη δυνατότητα που μου προσέφερε να εργαστώ στο εργαστήριό του. Η καθοδήγηση του υπήρξε ιδιαίτερα πολύτιμη και με βοήθησε να αποκτήσω τεχνογνωσία σε εργαστηριακό επίπεδο και να αποκομίσω χρήσιμες εμπειρίες γύρω από το πεδίο της έρευνας, οι οποίες πιστεύω ακράδαντα ότι θα με βοηθήσουν στην μελλοντική μου σταδιοδρομία. Ευχαριστώ για τον χρόνο που μου αφιέρωσε και την αμέριστη στήριξη του ώστε να φέρω εις πέρας τη διατριβή μου. Ευχαριστώ επίσης, το μέλος της τριμελούς Συμβουλευτικής μου Επιτροπής τον Καθηγητή-Διευθυντή της Πειραματικής Φυσιολογίας κ. Μιχαήλ Κουτσιλιέρη για την υποστήριξη του και τη δυνατότητα που μου προσέφερε να εργαστώ στο εργαστήριό του. Θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Αθανάσιο Αρμακόλα για τις γόνιμες συζητήσεις που είχαμε και τις συμβουλές του σε επιστημονικά και τεχνικά θέματα. Ιδιαίτερη μνεία οφείλω στην Καθηγήτρια κ. Μαρία Λυμπέρη για την υποστήριξη και το ενδιαφέρον της σε όλους τους τομείς της ζωής μου καθ' όλη τη διάρκεια της διατριβής μου. Τέλος, ευχαριστώ όλα τα υπόλοιπα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής μου επιτροπής.

Ευχαριστώ το συνάδελφό μου, διδάκτορα κ. Δημήτρη Καδά, για την άριστη και εποικοδομητική συνεργασία που είχα μαζί του στο εργαστήριο.

Ευχαριστώ τις συνεργάτιδες και φίλες που απέκτησα στη διάρκεια αυτής της διαδρομής Θεοδοσία και Ανδριάννα.

Ευχαριστώ όλους τους εργαζόμενους του τμήματος της Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής για τη προθυμία τους οποτεδήποτε χρειάστηκα την βοήθειά τους, αλλά και τη συμβολή τους στη δημιουργία ενός θαυμάσιου εργαστηριακού περιβάλλοντος.

Ευχαριστώ επίσης τους στενούς μου φίλους Φιλήρη, Σπυριδούλα, Ντόρα, Θεοδοσία, Μαρία και Ανδρέα που ήταν δίπλα μου κατά τη διάρκεια της διατριβής μου.

Τέλος, θα ήθελα από καρδιάς να ευχαριστήσω, αφιερώνοντάς τους την παρούσα διατριβή, τους γονείς μου Φέλιξ και Αρμίνε και τη μονάκριβη μου αδερφή Αθηνά όπως και τον σύντροφο μου Νίκο που πιστεύουν σε εμένα και με στηρίζουν σε ό, τι και αν αποφασίσω να δοκιμάσω. Ευχαριστώ για την αγάπη τους, την υπομονή τους και τη στήριξή τους.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	11
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	13
SUMMARY	15
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	18
1.1 Γήρανση στον άνθρωπο	19
1.2 Αδυναμία των ηλικιωμένων	25
1.3 Ο γηρασμένος εγκέφαλος	30
1.4 Αδυναμία στους σκελετικούς μύες – σαρκοπενία	33
1.5 Ινσουλίνη/ινσουλινομιμικός αυξητικός παράγοντας (IGFs) στο σκελετικό μυ	34
1.6 Ραπαμικίνη, το mTOR μονοπάτι στη γήρανση	39
1.7 Διατροφικός περιορισμός, μακροζωία και μυικό σύστημα	40
2. Γήρανση στον νηματώδη <i>Caenorhabditis elegans</i>	45
3. Ηλικιοσχετιζόμενη κινητική δυσλειτουργία στη <i>Drosophila</i>	48
4. Οξειδωτικό stress	51
4.1 Η σχέση δίαιτας, δραστηριότητας της αναπνευστικής αλυσίδας και μακροζωίας	53
4.2 Οξειδωτικό stress και γήρανση. Μιτοχονδριακή λειτουργία στους νευρώνες	56
5. Κουρκουμάς	62
6. Super Fruits	70
7. dCORL (η πρωτεΐνη CORL στη <i>D.melanogaster</i> )	71
8. Σύστημα γιγαντιαίων αξόνων (ΣΓΑ)	73
ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ	77
1.1 Διατροφή της <i>Drosophila</i>	78
1.2 Προσθήκη αντιοξειδωτικών	79

1.3 Σειρές-Διασταυρώσεις	81
1.4 Πειραματικό πρωτόκολλο συμπεριφοράς διαφυγής μέσω μηχανικού ερεθίσματος	81
1.5 Ηλεκτοφυσιολογικές καταγραφές	83
1.6 Ηλεκτροφυσιολογικές παράμετροι	85
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	<b>87</b>
1.1 Επιμήκης μελέτη της κινητικής κατάστασης	87
1.2 Διατροφικοί χειρισμοί	92
1.3 Σύγκριση μεταξύ πληθυσμών	120
1.4 Περιβαλλοντικοί χειρισμοί	139
1.5 Σύγκριση παραμέτρων σε σχέση με την αιτία θανάτου	151
1.6 dCORL, dILP2, μακροζωία και ποιότητα ύστερης ενήλικης ζωής	154
1.7 Δυσλειτουργία και αναγέννηση του GFS υπο συνθήκες προκλητού θανάτου	161
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	<b>166</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>180</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το κινητικό σύστημα (ΚΣ), δηλαδή ο κινητικός φλοιός, η παρεγκεφαλίδα, τα βασικά γάγγλια, ο νωτιαίος μυελός, οι κινητικοί νευρώνες, η νευρομυϊκή σύναψη και το μυοσκελετικό σύστημα, χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη δομική και λειτουργική ευπλαστικότητα κατά την εμβρυϊκή και μεταγεννητική ανάπτυξη. Η ευπλαστικότητα του ΚΣ κατά τη γήρανση χαρακτηρίζεται από προσαρμοστικές αλλαγές που αποσκοπούν στην διατήρηση της λειτουργικότητας των επιμέρους μονάδων του ΚΣ και κατά συνέπεια της κινητικότητας του ατόμου. Η καλή κινητική κατάσταση είναι απαραίτητο χαρακτηριστικό της υγιούς γήρανσης που είναι προϋπόθεση για τη μακροζωία.

Η δραματική αύξηση του προσδόκιμου ζωής στον άνθρωπο έχει αυξήσει τον κίνδυνο χρόνιων νοσημάτων, κινητικής δυσλειτουργίας και άνοιας. Κατά συνέπεια, η νοσηρότητα στα χρόνια πριν το θάνατο είναι πολύπλοκη και η συνεισφορά της γήρανσης αυτής καθ' αυτής στο λειτουργικό προφίλ των ηλικιωμένων επισκιάζεται από τη δράση συννοσηροτήτων και είναι δύσκολο να αξιολογηθεί. Μελέτες σε γενετικά συστήματα μοντέλα, όπως η μύγα των φρούτων *Drosophila melanogaster*, μπορεί να βοηθήσουν στην κατανόηση εξελικτικά συντηρημένων μηχανισμών που υπόκεινται τόσο της υγιούς γήρανσης (διατήρηση η και ανανέωση του φυσιολογικού αποθέματος) όσο και της λειτουργικής μετάπτωσης κατά τη φάση της προθανάτιας νοσηρότητας.

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε ο ρόλος διατροφικών παρεμβάσεων και γενετικών μοχλεύσεων στην ευπλαστικότητα του κινητικού συστήματος ηλικιωμένων ατόμων της *Drosophila melanogaster*. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν πληθυσμοί αγρίου τύπου (Oregon R, Lausanne S) γενετικά τροποποιημένα στελέχη (methusaleah, dCORL) και οι γονικές τους σειρές (W1118, yw).

Τα αποτελέσματα από την μελέτη της κινητικής κατάστασης 16 πληθυσμών (~2000 άτομα) όπου το κάθε άτομο εξετάστηκε χωριστά, σε καθημερινή βάση μέχρι το τέλος της ζωής του, έδειξαν ότι: (1) υψηλά επίπεδα υδατανθράκων στη διαίτα αυξάνουν τόσο τη διάρκεια ζωής όσο και την ποιότητα της ύστερης ενήλικης ζωής, (2) Η χορήγηση των αντιοξειδωτικών ουσιών κουρκουμίνη και Super Fruit (μείγμα που περιέχει εκχυλίσματα acai, goji, noni, pomegrante και magnostein μεταξύ άλλων ενώσεων) επέκτεινε τη διάρκεια ζωής χωρίς προσθετικό αποτέλεσμα. (3) Επιπλέον, η χορήγηση ιδιαίτερα της κουρκουμίνης είχε αρνητικό αποτέλεσμα στη ποιότητα ζωής των γερασμένων θηλυκών ατόμων και συνοδεύτηκε με την εμφάνιση ενός μεταβολικού συνδρόμου. Έτσι για δύο αρσενικούς και έναν θηλυκό πληθυσμό (που εκτρέφονταν σε διαίτα με υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες), η επέκταση της διάρκειας ζωής και της υγιούς ζωής συνοδεύονταν από συμπίεση της νοσηρότητας (περισσότερα άτομα με καλύτερη κινητική κατάσταση και ηπιότερες αναπηρίες). Αντίθετα, η νοσηρότητα πριν το θάνατο επεκτάθηκε σε δύο θηλυκούς πληθυσμούς (αυτούς που έλαβαν κουρκουμίνη).

Συνολικά, αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν ότι η παράταση της διάρκειας ζωής στη *Drosophila* δεν αλλάζει ουσιαστικά την περίοδο της αναπηρίας, αλλά την επικράτηση και τη σοβαρότητα της κινητικής δυσλειτουργίας των ηλικιωμένων ατόμων.

Παράλληλη μελέτη αρσενικών και θηλυκών ατόμων μιας άλλης αγρίου τύπου σειράς (*Lausanne S*) με μικρότερη διάρκεια ζωής έδειξε ότι τα βασικά χαρακτηριστικά της κινητικής έκπτωσης δεν εξαρτώνται από το γενετικό υπόβαθρο. Τέλος αρσενικά άτομα που φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο *methusaleah*, η οποία προσδίδει μακροζωία, έδειξαν ότι η επέκταση στη διάρκεια ζωής γίνεται με τεράστιο κόστος στη ποιότητα της ύστερης ενήλικης ζωής τους.

Συμπερασματικά, η κινητική κατάσταση των ηλικιωμένων ατόμων της *Drosophila* μπορεί να βελτιωθεί ή να υποβαθμιστεί ανάλογα με τους γενετικούς ή περιβαλλοντικούς χειρισμούς. Αυτή είναι η πρώτη εργασία στη *Drosophila* που εξέτασε την υπόθεση ότι η μακροζωία μπορεί να επιτευχθεί με ταυτόχρονη συμπίεση της νοσηρότητας (*morbidity compression hypothesis*).

Η ευπλαστότητα του νευρικού συστήματος μελετήθηκε στο νεαρό οργανισμό. Δύο παραδείγματα λειτουργικής η/και δομικής αναγέννηση παρατίθενται παρακάτω.

Μελέτες σε νεαρά άτομα *Oregon* έδειξαν ότι τα χαρακτηριστικά του πρόωρου θανάτου (θάνατος σε νεαρή ηλικία λόγω έλλειψης τροφής η/και νερού ή λόγω οξειδωτικού stress διαμέσου χορήγησης  $H_2O_2$ ) προσομοιάζουν με αυτά του φυσιολογικού ηλικιο-εξαρτώμενου θανάτου. Αυτό το εύρημα επέτρεψε να μελετηθεί κατά τον πρόωρο θάνατο η λειτουργική έκπτωση του νευρωνικού κυκλώματος GFS που ευθύνεται για τη συμπεριφορά διαφυγής του εντόμου. Η ηλεκτροφυσιολογική μελέτη έδειξε ότι άτομα που λιμοκτονούν και χάνουν την ικανότητα για αναρρίχηση, χάνουν επίσης την ικανότητα για διαφυγή λόγω διακοπής του ηλεκτρικού σήματος στο εύπλαστο τμήμα του νευρωνικού κυκλώματος GFS, ενώ το στερεοτυπικό τμήμα του κυκλώματος παραμένει λειτουργικά άθικτο. Το ίδιο χαρακτηριστικό παρατηρήθηκε σε ηλικιωμένα άτομα λίγο πριν το θάνατο τους. Αξιοσημείωτα, στα νεαρά λιμοκτονούντα άτομα η λειτουργία του κυκλώματος επανέρχεται με χορήγηση τροφής σε αντίθεση με τα ηλικιωμένα άτομα ή με τα νεαρά άτομα που υπέστησαν οξειδωτικό stress. Η μελέτη αυτή έδειξε τη χρησιμότητα του μοντέλου πρόωρου θανάτου στη *Drosophila* που επιτρέπει την εξερεύνηση μοριακών στόχων, ιδιαίτερα ευάλωτων κατά τη γήρανση, στο νεαρό οργανισμό.

Δεύτερο, η διάρκεια ζωής και η κινητική κατάσταση κατά την ύστερη ενήλικη ζωή μελετήθηκαν σε μεταλλαγμένα στελέχη για έναν παράγοντα μεταγραφής (*CORL*). Το *dCORL*, ένα γονίδιο στο τέταρτο χρωμόσωμα, εκφράζεται σε νευρώνες του ΚΝΣ που εκκρίνουν *dILP2* (ινσουλινο-μιμητικά πεπτίδια 2). Το ομόλογο γονίδιο στο ποντίκι (*mCORL1,2* ή *mSKOR1,2*) λειτουργεί ως μεταγραφικός συν-καταστολέας και εκφράζεται σε ραχιαίους ενδονευρώνες (*mCORL1*) και σε κύτταρα *purkinje* στην παρεγκεφαλίδα (*mCORL2*). Τα αντίστοιχα γονίδια στον άνθρωπο είναι τα *Fussel15*, ομόλογο με το

mSKOR1 και Fussel18, ομόλογο με το mSKOR2 και μεταλλάξεις στο Fussel15 συνδέονται με δύο αταξίες. Η απαλοιφή του CORL στη *Drosophila* οδήγησε στη ανάπτυξη μειωμένων σε αριθμό dILP2 νευρώνων σε παρθένα αρσενικά και θηλυκά άτομα. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε σε αποτυχία διαφοροποίησης συγκεκριμένων dILP2 νευρώνων από νευροβλάστες είτε στη μη έκφραση των dILP2 πεπτιδίων από τους νευρώνες που κατά τα άλλα διαφοροποιήθηκαν κανονικά. Ο αριθμός των dILP2 νευρώνων ή η έκφραση των dILP2 πεπτιδίων επανέρχεται μετά από ζευγάρωμα και γονιμοποίηση των παρθένων ατόμων. Η ύπαρξη ή όχι των dILP2 νευρώνων είχε μεγάλη επίδραση στη διάρκεια ζωής και στην ποιότητα του κινητικού συστήματος στα ηλικιωμένα άτομα. Παρθένα dCORL άτομα ζουν λιγότερο και παρουσιάζουν καλύτερη ποιότητα ύστερης ενήλικης ζωής σε σχέση με τα γονιμοποιημένα άτομα. Κατά συνέπεια τα δεδομένα προτείνουν την ύπαρξη ενός δικτύου που συνδέει το dCORL με το σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης, τη μακροζωία και τη γονιμοποίηση.

## SUMMARY

The motor system (MS), motor cortex, cerebellum, basal ganglia, spinal cord, motoneurons, neuromuscular junction and musculoskeletal system, is characterized by dramatic structural and functional plasticity during the embryonic and post-natal development. During aging, the MS undergoes adaptive changes at every level of connectivity to maintain its functionality and ensure appropriate levels of mobility. High mobility status level is indicative of healthy aging and a prerequisite of longevity.

The dramatic increase in human life expectancy has raised the risk of disability, dementia and chronic diseases prior to death. Thus, pre-death morbidity is complex and the contribution of aging processes itself on late-life functional phenotypes is not fully defined. Studies in genetic model organisms, such as *Drosophila melanogaster*, may aid to identify evolutionary conserved mechanisms underlying healthy aging and the transition to-impairment-to death.

In a previous study the demography of normal late life behavioral pathophysiologies were described. Here it was shown that all symptoms of motor decay and collapse during aging, found earlier in male Oregon flies were apparent in Oregon females and in both genders of the short-lived, wild type strain Lausanne S, suggesting that they are independent of genetic background. Finally, male flies mutated for the gene *methousaleah* live longer but their longevity comes at the expense of late life quality.

Nine late-life pathological states/signs were quantified, and used to compare late life quality in sixteen cohorts raised in different carbohydrate/protein ratio diets, with/out antioxidant supplementation. The physical status of each individual fly was examined on a daily basis until the end of their lifetime. The results showed that: (1) high levels of carbohydrates in the diet increase lifespan (2) The administration of the antioxidants curcumin and Super Fruit (a mixture containing acai, goji, noni, pomegranate and magnostein extracts among other compounds) extended lifespan without additive effect. (3) In addition, administration of curcumin in particular had a negative effect on the quality of life of aging females and was accompanied by the development of a metabolic syndrome. Thus for two male and one female populations (raised in high carbohydrate diet) lifespan and healthspan extension was accompanied by morbidity compression (more escapers than delayers and milder disabilities for delayers). In contrast, pre-death morbidity was expanded in two female populations (those treated with curcumin).

Overall, these observations show that extending lifespan in *Drosophila* does not substantially change the period of disability but its prevalence and severity among the elderly individuals. This is the first study in *Drosophila* that challenges the hypothesis developed for humans, that lifespan extension can be achieved by reducing morbidity (morbidity compression hypothesis).



The plasticity of the nervous system was studied in young animals. Following are two examples of functional or/and structural regeneration.

It was shown here that premature death in young age caused by desiccation, starvation or oxidative stress (through H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> supply in the food) recapitulates many of the characteristics of normal, age-dependent, death. These findings allowed to study the functional decay of the GFS, the neural network underlying the escape response of the fly. Electrophysiological analysis revealed that starved flies lose their ability for climbing and escape. Escape failure is caused by a functional blockade of signal transmission in the plastic part of GFS, while the stereotypic part of GFS remains intact. Remarkably functionality in GFS returns by providing food to young starvers. In contrast functionality can not be rescued in old individuals or in young flies undergoing oxidative stress. The study provides a model in *Drosophila* that will allow to investigate molecular targets, vulnerable during aging, in the young brain.

Lifespan and late life quality were studied in mutant flies for the transcription factor CORL. The dCORL (*drosophila* CORL) is a gene in the fourth chromosome, expressed in CNS neurons (muchroom body neurons, dILP2 – *drosophila* insulin like peptides 2 neurons) only. The homologue genes in mouse (mCORL1,2 or mSKOR1,2) functions as a transcriptional co-repressor and is expressed in dorsal interneurons (mCORL1) and in Purkinje neurons (mCORL2) of the cerebellum. The human homologous genes are Fussel15, homologous to mSKOR1 and Fussel18, homologous to mSKOR2 and mutations in Fussel15 lead to ataxias. dCORL reporter gene is expressed in all *Drosophila* insulin-like peptide 2 (dILP2) neurons of the pars intercerebralis (PI) of the larval and adult brain. dCORL mutant virgin male and female adult brains are missing a sub-population of dILP2 neurons. This may be caused by failed differentiation of some dILP2 neurons from neuroblasts or by loss of expression of dILP2 peptides in some of the dILP2 neurons. The number of dILP2 peptides expression is rescued by mating and reproduction. dILP2 loss caused a significant effect on longevity and late life quality of dCORL mutant flies. dCORL mutant virgins live shorter with better late life quality compared to mated dCORL mutants. Thus, the data suggest that dCORL participates in a neural network connecting the insulin signaling pathway, longevity and mating.

# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## Γήρανση

### 1.1 Γήρανση στον άνθρωπο

Σε βιολογικό επίπεδο, η γήρανση συνδέεται με τη σταδιακή συσσώρευση μιας ευρείας ποικιλίας μοριακών και κυτταρικών βλαβών (Commission 2012) (Xie, Matthews et al. 2008). Με την πάροδο του χρόνου, η βλάβη οδηγεί σε σταδιακή μείωση των φυσιολογικών αποθεμάτων, αυξημένο κίνδυνο ασθενειών, και μια γενική μείωση της ικανότητας του ατόμου με τελικό αποτέλεσμα το θάνατο. Οι αλλαγές αυτές δεν είναι ούτε γραμμικές ούτε στερεοτυπικές και ελάχιστα σχετίζονται με την ηλικία σε έτη (Commission 2012). Έτσι, ενώ κάποιοι 70χρονοι εμφανίζουν καλή σωματική και πνευματική λειτουργία, άλλοι μπορεί να είναι αδύναμοι και να χρειάζονται σημαντική υποστήριξη για την κάλυψη των βασικών αναγκών τους. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι πολλοί από τους μηχανισμούς της γήρανσης είναι τυχαίοι. Αλλά επίσης και επειδή οι αλλαγές της φυσιολογικής κατάστασης με την ηλικία επηρεάζονται έντονα από το περιβάλλον και τις συμπεριφορές του ατόμου.

Η υγεία ενός γερασμένου ανθρώπου είναι περίπλοκη. Η αύξηση της ηλικίας επιφέρει πολλές φυσιολογικές αλλαγές και αυξάνει τον κίνδυνο χρόνιων ασθενειών. Στην ηλικία των 60 ετών, οι κύριες αιτίες αναπηρίας και θανάτου σχετίζονται με έκπτωση/απώλεια ακοής, όρασης και κινητικότητας, και με καρδιοπάθειες, εγκεφαλικό, χρόνιες αναπνευστικές διαταραχές, καρκίνο και άνοια.

Η γήρανση σχετίζεται επίσης με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ταυτόχρονα περισσότερων από μία χρόνιων καταστάσεων (γνωστή ως συνοσηρότητα), των οποίων το συνολικό αποτέλεσμα είναι διαφορετικό από το ποσοστό επιβάρυνσης στην υγεία από κάθε μια από αυτές τις συνθήκες χωριστά. Στη Γερμανία εκτιμάται ότι το 24% των ατόμων ηλικίας 70-85 ετών βιώνουν ταυτόχρονα πέντε ή περισσότερες ασθένειες (Commission 2012)

Το προσδόκιμο ζωής αυξάνεται με ταχύ ρυθμό (Oeppen and Vaupel 2002) καθώς η καλύτερη υγειονομική περίθαλψη και υγιεινή, οι υγιέστεροι τρόποι ζωής, η επαρκής διατροφή, η βελτιωμένη ιατρική περίθαλψη και η μειωμένη παιδική θνησιμότητα μας επιτρέπουν τώρα να αναμένουμε να ζήσουμε πολύ περισσότερο από τους προγόνους μας πριν από μερικές γενιές. Το προσδόκιμο ζωής στην ΕΕ ήταν περίπου 69 έτη και περίπου τα 80 έτη το 2010, πράγμα που αντιστοιχεί σε ρυθμό αύξησης του προσδόκιμου ζωής κατά 2,2 χρόνια ανά δεκαετία (Oeppen and Vaupel 2002),(Commission 2012). Αν αυτός ο ρυθμός αύξησης παραμείνει αμετάβλητος, όπως έχει παρατηρηθεί για τον περασμένο αιώνα, τότε κάποιος που γεννήθηκε στην ΕΕ σήμερα αναμένεται να ζήσει περίπου 100 χρόνια. Ωστόσο, αυτή η δραματική αύξηση του προσδόκιμου ζωής δεν είναι ανάλογη με την αύξηση της ποιότητας ζωής των ηλικιωμένων. Γενικά, το αυξημένο προσδόκιμο ζωής έχει αυξήσει τον κίνδυνο ασθενειών όπως την αναπηρία και την άνοια. Για παράδειγμα, το 30% του πληθυσμού ηλικίας άνω των 60 ετών στις ΗΠΑ παρουσιάζει άνοια πριν πεθάνει και αυτό το ποσοστό είναι πιθανό να αυξηθεί λόγω της γήρανσης του πληθυσμού και της εκθετικής εξάρτησης από την ηλικία.

Στο παρελθόν, οι άνθρωποι πέθαιναν νέοι και σχετικά γρήγορα, αλλά όλο και περισσότερο οι άνθρωποι πεθαίνουν γηραιότεροι και με πιο αργό ρυθμό, παρουσιάζοντας χρόνια πολλαπλής νοσηρότητας λόγω εκφυλιστικών ασθενειών και προχωρημένης γήρανσης (Brown 2015). Αυτό ασκεί αυξανόμενη πίεση στην οικονομία και τα κοινωνικά συστήματα στις περισσότερες χώρες. Οι τρέχουσες δημόσιες δαπάνες για τον γερασμένο πληθυσμό - κυρίως συντάξεις, για την υγεία και για κοινωνική μέριμνα - ανέρχονται στο 25% περίπου του ΑΕΠ στην ΕΕ, αλλά αναμένεται να αυξηθούν σημαντικά στο μέλλον, προκαλώντας οικονομική ασφυξία (Commission 2012).

Η ιατρική πρόοδος και η υποκείμενη βιοϊατρική έρευνα που παρέχει την δυνατότητα αυτής της προόδου, δεν πρέπει μόνο να έχουν σαν βασικό σκοπό την αύξηση του προσδόκιμου ζωής, αλλά θα μπορούσαν επίσης να συμβάλουν στη μείωση της νοσηρότητας του γηράσκοντος πληθυσμού που απειλεί τα κοινωνικά και οικονομικά συστήματα μας. Αυτό εγείρει το σημαντικό ερώτημα το τι είδους ιατρικής έρευνας πρέπει να επιλεγεί στα επόμενα χρόνια και δεκαετίες. Μια επιλογή είναι να μειωθεί

περαιτέρω η θνησιμότητα και να αυξηθεί έτσι το προσδόκιμο ζωής. Μια δεύτερη επιλογή είναι να μειωθεί η γήρανση και η νοσηρότητα, προκειμένου να αντιμετωπιστεί η αυξανόμενη επικράτηση των χρόνιων ασθενειών, δυσλειτουργιών, και της αδυναμίας (frailty).

Το κύριο πρόβλημα με μόνο την απλή αύξηση του προσδόκιμου ζωής είναι ότι αυξάνει επίσης τη νοσηρότητα και επειδή οι άνθρωποι ζουν περισσότερο είναι πιο πιθανόν να αποκτήσουν περισσότερες ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία, όπως η αναπηρία, η άνοια και η δυσλειτουργία. Πολλές σοβαρές ασθένειες εκδηλώνονται με αυξημένη συχνότητα σε μεγαλύτερες ηλικίες, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου, των καρδιακών παθήσεων, των εγκεφαλικών επεισοδίων, της αναπνευστικής νόσου, της νεφρικής νόσου, της άνοιας, της αρθρίτιδας και της οστεοπόρωσης. Για παράδειγμα, στην Ευρώπη, ο επιπολασμός της άνοιας είναι 0,6% σε άτομα ηλικίας 60-64 ετών, 3,5% σε άτομα ηλικίας 70-74 ετών, 16% σε άτομα ηλικίας 80-84 ετών και 41% σε άτομα ηλικίας 90-94 ετών ([www.alzheimer-europe.org](http://www.alzheimer-europe.org)). Επιπλέον, η αναπηρία αυξάνεται δραματικά με την ηλικία: πάνω από το 80% του πληθυσμού του Ηνωμένου Βασιλείου ηλικίας άνω των 85 ετών αναφέρει ότι έχει αναπηρία. Επιπλέον, οι αναπηρίες στην ύστερη ενήλικη ζωή είναι πιο πιθανό να είναι πολλαπλές και σοβαρές, έτσι ώστε το 50% των ατόμων ηλικίας άνω των 85 ετών να χρειάζεται φροντίδα και/ή βοήθεια στις καθημερινές απλές δραστηριότητες. Η μείωση των ποσοστών θνησιμότητας χωρίς τη μείωση των ποσοστών νοσηρότητας λόγω ηλικίας αναπόφευκτα θα αυξήσει τη νοσηρότητα, συμπεριλαμβανομένης της σοβαρής αναπηρίας και της άνοιας. Υπήρξε έντονη αμφισβήτηση στο παρελθόν σχετικά με το εάν η νοσηρότητα θα επεκταθεί στο μέλλον ή θα συμπιέζεται καθώς η μέση διάρκεια ζωής αυξάνεται (Oerppen and Vaupel 2002). Σύμφωνα με τα σημερινά στοιχεία, η νοσηρότητα αυξάνεται στην Ευρώπη: για παράδειγμα, ενώ το προσδόκιμο ζωής στην ηλικία των 65 ετών αυξήθηκε κατά 1,3 χρόνια μεταξύ 2005 και 2011 (έτη με διαθέσιμα συγκρίσιμα στατιστικά στοιχεία για την ΕΕ), το υγιές προσδόκιμο ζωής παρέμεινε αμετάβλητο κατά την ίδια περίοδο, δηλαδή τα έτη που οι ηλικιωμένοι ζούσαν με αναπηρία αυξήθηκαν κατά 1,3 έτη. Έτσι, ενώ προστίθενται χρόνια στη ζωή μας, η ζωή δεν προστίθεται στα χρόνια μας. Τα επιπλέον χρόνια προστίθενται στο τέλος της ζωής μας και είναι κακής ποιότητας. Ακόμη και εν απουσία ασθένειας και αναπηρίας, οι ανθρώπινες ικανότητες συμπεριλαμβανομένης

της μνήμης, της γνώσης, της κινητικότητας, της όρασης, της ακοής, της γεύσης και της επικοινωνίας μειώνονται με την ηλικία. Έτσι η ποιότητα ζωής για κάποιον άνω των 90 ετών είναι πολύ κακή. Δεδομένης της αυξανόμενης συχνότητας πολλαπλών ασθενειών, αναπηριών, άνοιας και δυσλειτουργιών σε μεγάλη ηλικία, δεν είναι ξεκάθαρο αν η παράταση της διάρκειας ζωής πέραν των 90 ετών είναι ένα σημαντικό εγχείρημα.

### Δημογραφία της γήρανσης και προθανάτιας νοσηρότητας

Το προσδόκιμο ζωής παρουσιάζει αύξηση και είναι αξιοσημείωτο ότι ενώ ο ρυθμός επιδείνωσης της υγείας με την ηλικία φαίνεται να είναι διαχρονικά σταθερός, ο θάνατος φαίνεται ότι καθυστερεί επειδή οι άνθρωποι φθάνουν στο γήρας με καλύτερη υγεία, και είναι πιθανόν να σημειωθεί περαιτέρω πρόοδος στην επέκταση των ορίων επιβίωσης - και της υγιούς επιβίωσης - σε ακόμα μεγαλύτερες ηλικίες.

Αν δεν επιτευχθούν ριζικές ανακαλύψεις, ίσως ως αποτέλεσμα έρευνας σε άλλα είδη, οι άνθρωποι θα συνεχίσουν να υποφέρουν από το γήρας. Η θνησιμότητα έχει αναβληθεί σημαντικά, ως αποτέλεσμα όχι της επαναστατικής προόδου στην επιβράδυνση της διαδικασίας γήρανσης, αλλά της συνεχιζόμενης προόδου στη βελτίωση της υγείας. Η αδυναμία που χαρακτηρίζει συχνά τα τελευταία χρόνια της ζωής των ατόμων φαίνεται επίσης να έχει καθυστερήσει, αν και τα στοιχεία δεν είναι ξεκάθαρα, εν μέρει επειδή η αδυναμία είναι δύσκολο να καθοριστεί και να μετρηθεί (Freedman, Crimmins et al. 2004) (Christensen, McGue et al. 2008) (Engberg, Christensen et al. 2008) (Jeune and Brønnum-Hansen 2008) (.Jagger C 2008) (Wise 2009) (Parker, Schön et al. 2008) (Robine). Εάν η πρόοδος στη μείωση της θνησιμότητας συνεχιστεί με τον ίδιο ρυθμό όπως συμβαίνει κατά τους δύο τελευταίους αιώνες (Oeppen and Vaupel 2002), τότε σε χώρες με μεγάλο προσδόκιμο ζωής τα περισσότερα παιδιά που γεννήθηκαν μετά το 2000 θα γιορτάσουν τα 100α γενέθλιά τους - στον εικοστό δεύτερο αιώνα (Christensen, Doblhammer et al. 2009). Η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής θα αλλάξει τον τρόπο με τον οποίο οι άνθρωποι θα διευθετούν το χρόνο τους κατά τη διάρκεια της ζωής τους και θα απαιτηθεί ριζική αναθεώρηση της απασχόλησης, της συνταξιοδότησης, της υγείας, της εκπαίδευσης και άλλων πολιτικών (Vaupel and Gowan 1986) (Lee 2003),(Vaupel and Loichinger 2006)

Η πρόοδος που σημειώνεται όσον αφορά την επιμήκυνση της ζωής και την καθυστέρηση της γήρανσης οφείλεται εξ ολοκλήρου στις προσπάθειες της ιατρικής, της δημόσιας υγείας, στην αύξηση του βιοτικού επιπέδου, στην καλύτερη εκπαίδευση, στην υγιεινή διατροφή και στον πιο υγιεινό τρόπο ζωής (Oerppen and Vaupel 2002),(Riley 2001). Ωστόσο, η μελλοντική πρόοδος στη βελτίωση της υγείας των ηλικιωμένων πιθανότατα θα τροφοδοτηθεί από παρεμβάσεις που θα αναπτυχθούν λόγω της βαθύτερης κατανόησης των βασικών αιτιών της γήρανσης (Christensen, Johnson et al. 2006),(Gerdes, Jeune et al. 2000) (Fukui, Ackert et al. 1996, Rockwood, Nassar et al. 2008) (Johnson 1990) τόσο στον άνθρωπο όσο και σε άλλα είδη (Hamilton 1966), (Butler, Miller et al. 2008) (Farrelly 2008) (Finch 1990) (Rose) (National Research Council Committee on 1997) (Kirkwood 1999) (Kirkwood and Austad 2000) (Kirkwood 2005) (Vaupel, Baudisch et al. 2004) (Baudisch 2005) (A. 2008).

#### Η καθυστέρηση της θνησιμότητας

Η υπόθεση ότι η θνησιμότητα σε μεγαλύτερες ηλικίες μειώνεται προτάθηκε πριν από δύο δεκαετίες με βάση τη μείωση των ποσοστών θανάτου (Vaupel and Gowan 1986) (Guralnik, Yanagishita et al. 1988) (Kenneth G. Manton 1991). Η πρώτη οριστική διαπίστωση ότι ο θάνατος καθυστερεί οφείλεται στην ανάλυση των σουηδικών δεδομένων θνησιμότητας (Vaupel JW 1994). Η θνησιμότητα είναι μακράν ο πιο αξιόπιστος δείκτης υγείας. Οι περισσότερες χώρες έχουν συγκεντρώσει αξιόπιστα στατιστικά στοιχεία για δεκαετίες με τη Σουηδία να πρωτοστατεί. Υπάρχει μία μόνο αιτία θανάτου σε προχωρημένη ηλικία, το γήρας. Αυτή η αντίληψη, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί στη διάκριση του Αριστοτέλη μεταξύ πρόωρου και γερασμένου θανάτου (Aristotle 1984), οδήγησε στο συμπέρασμα ότι κάθε είδος έχει μια χαρακτηριστική μέγιστη διάρκεια ζωής. Άλλοι μελετητές, ισχυρίστηκαν ότι ο διαιτητικός περιορισμός θα μπορούσε να επεκτείνει τη ζωή, και πολλές άλλες εικασίες προτάθηκαν σχετικά με τα μυστικά της μακροζωίας,(Jeune 2002) (Bacon 1806) (Thomas T Perls 1999). Οι εξελικτική βιολογία θεωρεί ότι η γήρανση, δηλαδή η έκπτωση/επιδείνωση με την ηλικία, είναι αναπόφευκτη για τα πολυκύτταρα είδη (Hamilton 1966) (Finch 1990) (Rose) (National Research Council Committee on 1997) (Kirkwood 1999) (Kirkwood and

Austad 2000) (Kirkwood 2005) (Vaupel, Baudisch et al. 2004) (Baudisch 2005) (A. 2008) αλλά και ότι γενετικές και άλλες παρεμβάσεις θα μπορούσαν να επιβραδύνουν τη διαδικασία της γήρανσης (Finch 1990) (Rose) (National Research Council Committee on 1997) (Kirkwood 2005). Δημογραφικά, αυτές οι παρεμβάσεις στον άνθρωπο ήταν απίθανο να έχουν βραχυπρόθεσμο αποτέλεσμα. Επιπλέον, μία άλλη άποψη θεωρεί ότι εάν η ζωή προστατευτεί σε νεαρότερη ηλικία, τα ευπαθή άτομα θα ζήσουν περισσότερο, καθιστώντας όλο και πιο δύσκολη τη μείωση της θνησιμότητας και της νοσηρότητας σε μεγάλη ηλικία (Gruenberg 1977).

Η προσπάθεια να καθοριστούν γονίδια μακροζωίας στους ανθρώπους είχε ελάχιστη επιτυχία (Christensen, Johnson et al. 2006). Δύο παραλλαγές του γονιδίου της απολιποπρωτεΐνης E (APOE) έχουν δειχθεί σε πολλαπλές μελέτες ως παράγοντες κινδύνου που μειώνουν ή αυξάνουν τις πιθανότητες θανάτου σε υψηλότερες ηλικίες κατά ένα συντελεστή περίπου 1,1 ή 1,2 σε σχέση με τον βασικό κίνδυνο που αντιμετωπίζουν οι άνθρωποι με την κοινή παραλλαγή (Gerdes, Jeune et al. 2000) (Rockwood, Nassar et al. 2008). Αν και οι μελέτες έχουν βρει πολλά γονίδια που φαίνονται να επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής, κανένα δεν έχει τόσο μεγάλο αποτέλεσμα όσο το μέτριο αποτέλεσμα του APOE. Όλα τα λειτουργικά γονίδια σε όλα τα είδη συμβάλλουν άμεσα ή έμμεσα στη γονιμότητα, την επιβίωση ή και τα δύο. Η εξελικτική θεωρία και μερικές εμπειρικές μελέτες δείχνουν ότι οι μεταβλητές που ουσιαστικά αυξάνουν τη μακροζωία είναι πιθανώς σπάνιες υπό φυσικές συνθήκες επειδή μειώνουν την αναπαραγωγή (Rose), (Kirkwood 1999) (Kirkwood 2005) (A. 2008) (Doblhammer and Oerppen 2003). Στο νηματώδες *Caenorhabditis elegans*, εκατοντάδες γονίδια έχουν τροποποιηθεί τεχνητά για να επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής (Tissenbaum 2008), μερικά με πολύ σημαντικά αποτελέσματα. Η ανακάλυψη του πρώτου από αυτά τα γονίδια, *age-1*, ήταν μια σημαντική πρόοδος που έφερε επανάσταση στην γενετική κατανόηση της γήρανσης (Johnson 1990). Στους ανθρώπους, φαίνεται πιθανό ότι οι πολυμορφισμοί σε εκατοντάδες και ίσως χιλιάδες γενετικούς τόπους έχουν καθένα έναν μικρό ρόλο στην αύξηση ή μείωση του κινδύνου θανάτου και αδυναμίας σε προχωρημένη ηλικία.

Η εξελικτική θεωρία της γήρανσης θεωρεί ότι η γήρανση είναι αναπόφευκτη για όλα τα πολυκύτταρα είδη (Hamilton 1966). Η θεωρία θα πρέπει να επεκταθεί ώστε να επιτρέψει την ενσωμάτωση μεγαλύτερη διαφοροποίηση στα πρότυπα γήρανσης,



συμπεριλαμβανομένης της λεγόμενης ανάστροφης γήρανσης - της πτώσης της θνησιμότητας και της βελτίωσης της υγείας για όλα ή για τα περισσότερα χρόνια της ενήλικης ζωής (Vaupel, Baudisch et al. 2004) (Baudisch 2005) (A. 2008). Για ορισμένα είδη και για ορισμένες περιόδους ενήλικης ζωής, η θνησιμότητα μπορεί να μειωθεί με την ηλικία και οι αλλαγές στη διατροφή και άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες καθώς και οι γενετικές μεταβολές μπορούν να μεταβάλουν σημαντικά τις ηλικιακές καμπύλες επιβίωσης (Fukui, Ackert et al. 1996) (Tissenbaum 2008) (Johnson 1990) (Finch 1990) (Rose) (Vaupel, Baudisch et al. 2004) (Mair, Goymier et al. 2003).

## 1.2 Αδυναμία των ηλικιωμένων ατόμων

Έχει παρατηρηθεί παγκοσμίως μια ραγδαία επιτάχυνση στη γήρανση του πληθυσμού, από 461 εκατομμύρια άτομα ηλικίας άνω των 65 ετών το 2004, σε περίπου 2 δισεκατομμύρια ανθρώπους έως το 2050 (Kinsella 2005) (Division. Oct 12. 1999 ), γεγονός που έχει σοβαρές επιπτώσεις στον προγραμματισμό και την παροχή υγειονομικής και κοινωνικής μέριμνας. Η πιο προβληματική έκφραση της γήρανσης του πληθυσμού είναι η κλινική κατάσταση της αδυναμίας. Η αδυναμία (frailty) είναι ίσως το κύριο χαρακτηριστικό της υγιούς γήρανσης. Η αδυναμία εξελίσσεται ως συνέπεια της μείωσης των πολλαπλών φυσιολογικών συστημάτων που οφείλεται στην ηλικία, γεγονός που συνεπάγεται σε συνολική ευαισθησία σε ξαφνικές μεταβολές της κατάστασης της υγείας που προκλήθηκαν από σχετικά μικρά γεγονότα που προκαλούν άγχος. Εκτιμάται ότι το ένα τέταρτο των μισών ατόμων άνω των 85 ετών είναι ευπαθές και αυτοί οι άνθρωποι έχουν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο πτώσης, αναπηρίας, μακροχρόνιας περίθαλψης και θανάτου (Fried, Tangen et al. 2001) (Song, Mitnitski et al. 2010). Είναι σημαντικό ότι έως και τα τρία τέταρτα των ατόμων άνω των 85 ετών μπορεί να μην είναι αδύναμα, θέτοντας τα ερωτήματα για το πώς αναπτύσσεται η αδυναμία, πώς μπορεί να αποφευχθεί και πώς μπορεί να εντοπιστεί αξιόπιστα.

Η αδυναμία είναι μια κατάσταση αυξημένης ευπάθειας με κακή ομοιοστατική απόκριση μετά από stress, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων, όπως πτώσεις, παραλήρημα και αναπηρία (Fried, Tangen et al. 2001) (Walston, Hadley et al. 2006) (Eeles, White et al. 2012). Είναι μια μακροχρόνια καθιερωμένη κλινική

έκφραση που υπονοεί την ευπάθεια ενός ηλικιωμένου ατόμου, ενώ ένα γεγονός όπως η λήψη ενός νέου σκευάσματος, μία "ελάσσοнос σημασία" λοίμωξη ή μια "δευτερεύουσα" χειρουργική επέμβαση έχει ως αποτέλεσμα μια δραματική και δυσανάλογη αρνητική μεταβολή της κατάστασης της υγείας (από τη κατάσταση της ανεξαρτησίας στη κατάσταση της εξάρτησης). Οι ταλαντώσεις της εξάρτησης που παρατηρούνται σε ευπαθείς ηλικιωμένους έχουν αναφερθεί ως "ασταθής αναπηρία" για να αντικατοπτρίζουν τις συχνά σημαντικές αλλαγές στη λειτουργική ικανότητα που είναι γνωστές στους επαγγελματίες που εργάζονται με ηλικιωμένους (Campbell and Buchner 1997).

Η αδυναμία είναι μια διαταραχή πολλαπλών διασυνδεδεμένων φυσιολογικών συστημάτων. Υπάρχει σταδιακή μείωση του φυσιολογικού αποθέματος με τη γήρανση, αλλά στην αδυναμία, αυτή η πτώση επιταχύνεται και οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί αρχίζουν να αποτυγχάνουν (Ferrucci, Cavazzini et al. 2002, Taffett Geriatric Medicine An Evidence Based Approach.). Ως εκ τούτου, μια σημαντική προοπτική για την αδυναμία είναι να εξεταστεί πώς οι περίπλοκοι μηχανισμοί γήρανσης προάγουν τη σωρευτική πτώση των πολλαπλών φυσιολογικών συστημάτων με συνεπεία τη διάβρωση του ομοιοστατικού αποθέματος και της ευπάθειας στις δυσανάλογες αλλαγές της κατάστασης υγείας ύστερα από σχετικά μικρά συμβάντα stress. Αυτοί οι σύνθετοι μηχανισμοί γήρανσης επηρεάζονται από τους υποκείμενους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Kirkwood 2005) σε συνδυασμό με επιγενετικούς μηχανισμούς, οι οποίοι ρυθμίζουν τη διαφορική έκφραση των γονιδίων στα κύτταρα και μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντικοί στη γήρανση (McGowan and Szyf 2010) (Kahn and Fraga 2009).

Η γήρανση θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα της συσσώρευσης μοριακών και κυτταρικών βλαβών που προκαλούνται από πολλαπλούς μηχανισμούς υπό τη ρύθμιση ενός σύνθετου δικτύου συντήρησης και επισκευής (Kirkwood 2005) κατά τη διάρκεια της ζωής. Υπάρχει αβεβαιότητα σχετικά με το ακριβές επίπεδο κυτταρικής βλάβης που απαιτείται για να προκληθεί η διαταραχή της φυσιολογίας των οργάνων, αλλά, πολλά συστήματα οργάνων παρουσιάζουν σημαντικό λειτουργικό δυναμικό, πράγμα που παρέχει το φυσιολογικό απόθεμα που απαιτείται για την αντιστάθμιση των μεταβολών της ηλικίας και της ασθένειας. Για παράδειγμα, ο εγκέφαλος περιέχει περισσότερους

νευρώνες και οι σκελετικοί μύες περισσότερο μυοκύτταρα από ό, τι απαιτείται για την επιβίωση (Lipsitz 2002). Επομένως, ένα βασικό ερώτημα είναι εάν υπάρχει ένα ηλικιοεξαρτώμενο κρίσιμο κατώτατο όριο της συσσώρευσης σε πολλαπλά φυσιολογικά συστήματα πέρα από τα οποία η αδυναμία γίνεται εμφανής. Μια εγκάρσια μελέτη το 2009, στην οποία συμμετείχαν 1.002 γυναίκες, διερεύνησε τη σωρευτική φυσιολογική δυσλειτουργία σε έξι διαφορετικά επίπεδα (αίμα, φλεγμονή, ορμόνες, λιπώδης ιστός, νευρομυϊκό σύστημα και μικροθρεπτικό περιβάλλον) και ανέφερε μια μη γραμμική σχέση μεταξύ του αριθμού των συστημάτων με έκπτωση και της αδυναμίας, ανεξάρτητα από την ηλικία και την συννοσηρότητα (Fried, Xue et al. 2009). Η παρουσία μη φυσιολογικών αποτελεσμάτων σε τρία ή περισσότερα συστήματα ήταν ένας σημαντικός παράγοντας πρόβλεψης της αδυναμίας, που δείχνει ότι όταν η φυσιολογική έκπτωση φτάσει σε μια συγκεντρωτική κρίσιμη μάζα, η αδυναμία καθίσταται εμφανής (Fried, Xue et al. 2009).

Ο εγκέφαλος, το ενδοκρινικό σύστημα, το ανοσοποιητικό σύστημα και ο σκελετικός μυς είναι εγγενώς αλληλένδετοι και επί του παρόντος είναι τα συστήματα οργάνων που έχουν μελετηθεί καλύτερα στην ανάπτυξη της αδυναμίας (Walston, Hadley et al. 2006). Η αδυναμία έχει επίσης συνδεθεί με απώλεια φυσιολογικού αποθέματος στο αναπνευστικό σύστημα (Vaz Fragoso, Enright et al. 2012), καρδιαγγειακό (Afilalo, Karunanathan et al. 2009), νεφρικό (Abadir 2011) και αιμοποιητικό (Chaves, Semba et al. 2005)[, (Walston, McBurnie et al. 2002) και ότι η διατροφική κατάσταση μπορεί επίσης να αποτελέσει μεσολαβητικό παράγοντα.

### Καθυστέρηση της αδυναμίας

Σε σύγκριση με το θάνατο, η υγεία είναι δύσκολο να μετρηθεί και συχνά αναφέρεται αναξιόπιστα. Οι εκτιμήσεις της πληθυσμιακής υγείας βασίζονται συνήθως σε στοιχεία από έρευνες που συχνά παρεμποδίζονται από τη χαμηλή συμμετοχή, ιδίως μεταξύ των ασθενών. Οι δημογράφοι και οι επιδημιολόγοι έχουν αρχίσει να συγκεντρώνουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την καθυστέρηση της γήρανσης όπως καταγράφηκαν από διάφορους δείκτες υγείας (Christensen, Doblhammer et al. 2009) (Freedman, Crimmins et al. 2004) (Christensen, McGue et al. 2008) (Engberg, Christensen et al. 2008) (Robine), αλλά η εικόνα είναι πολύ λιγότερο σαφής, ειδικά όσον αφορά τα

δεδομένα για τα άτομα άνω των 85 ετών και τις γνωστικές τους επιδόσεις, σε σχέση με τα στατιστικά στοιχεία θνησιμότητας.

Η συχνότητα των ασθενειών και των νοσηρών διαταραχών στους ηλικιωμένους τείνει να αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου (Christensen, Doblhammer et al. 2009). Μέρος της αύξησης μπορεί να αποδοθεί στην προηγούμενη διάγνωση, για παράδειγμα, του διαβήτη τύπου 2, της υπέρτασης και κάποιων καρκίνων. Η συχνότητα των καρδιακών παθήσεων και της αρθρίτιδας φαίνεται ότι έχει αυξηθεί και τα άτομα αυτά συχνά παρουσιάζουν πολλαπλές διαταραχές

Η αναπηρία μετριέται συνήθως με περιορισμούς αυτοαξιολόγησης που αφορούν την καθημερινή ζωή, όπως ο ντύσιμο, το μπάνιο, τα ψώνια και ούτω καθεξής. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η συχνότητα της αναπηρίας μπορεί να μειώνεται (Christensen, Doblhammer et al. 2009) (Freedman, Crimmins et al. 2004) (Engberg, Christensen et al. 2008) (Jeune and Brønnum-Hansen 2008) (.Jagger C 2008) (Wise 2009) αντικατοπτρίζοντας την καλύτερη θεραπεία και την καθυστέρηση(αναβολή) της γήρανσης, αλλά μερικές μελέτες διαπιστώνουν αύξηση της επικράτησης της αναπηρίας (.Jagger C 2008) (Parker, Schön et al. 2008) (Robine).

Το προσδόκιμο υγείας μετρά τον αριθμό των ετών υγιούς ζωής που μπορεί να αναμένει κάποιος στις τρέχουσες συνθήκες υγείας (Christensen, Doblhammer et al. 2009). Ο αριθμός των ετών που δαπανάται στην αυτοαντίληψη της καλής υγείας έχει αυξηθεί στις περισσότερες χώρες που έχουν μελετηθεί (Christensen, Doblhammer et al. 2009) , ενώ οι τάσεις στον αριθμό των ετών που διανύονται με αναπηρία έχουν εξελιχθεί διαφορετικά ανάλογα με τη σοβαρότητα της αναπηρίας. Παρατηρήθηκε μια μείωση στα πιο σοβαρά επίπεδα και μια αύξηση για τα λιγότερο, αλλά με σημαντικές διαφορές μεταξύ των χωρών (Christensen, Doblhammer et al. 2009).

Υπάρχουν λίγα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με τη βελτίωση της νοσηρότητας, της λειτουργικότητας και της προσδοκώμενης υγείας μετά την ηλικία των 85 ετών, αλλά φαίνεται ότι, τουλάχιστον στις Ηνωμένες Πολιτείες και τουλάχιστον για την αναπηρία, σημειώθηκαν ουσιαστικές βελτιώσεις στη δεκαετία του 1990 (Christensen, Doblhammer et al. 2009) (Freedman, Crimmins et al. 2004) (Wise 2009). Στη Δανία, οι πληροφορίες για τους αιωνόβιους κατοίκους που γεννήθηκαν το 1895-1896 μπορούν να συγκριθούν με παρόμοιες πληροφορίες για τους αιωνόβιους που γεννήθηκαν το 1905. Η μετέπειτα

ηλικία των αιωνόβιων ήταν 50% μεγαλύτερη από την προηγούμενη πληθυσμιακή μελέτη κυρίως λόγω του ότι η πιθανότητα επιβίωσης μεταξύ των 80 και 100 είχε ουσιαστικά βελτιωθεί (Jeune and Brønnum-Hansen 2008). Παρ όλα αυτά, η σωματική αναπηρία και οι γνωστικές διαταραχές στις δύο ομάδες ήταν συγκρίσιμες, με τις γυναίκες στην πιο πρόσφατη ομάδα να έχουν ελαφρώς καλύτερη υγεία (Engberg, Christensen et al. 2008).

Ο επιπολασμός μιας νόσου ή μιας πάθησης εξαρτάται από την καθαρή ισορροπία μεταξύ θανάτου και συχνότητας εμφάνισης, με τον θάνατο να καθυστερεί με μια πιο αποτελεσματική θεραπεία και με την συχνότητα εμφάνισης να αυξάνεται όχι μόνο από τη μεγαλύτερη συχνότητα της πάθησης αλλά και από καλύτερη εξέταση. Μπορούν να διακριθούν τρεις καταστάσεις υγείας: ένα άτομο μπορεί να είναι υγιές, ασθενικό ή νεκρό. Στο βαθμό που μια ασθενική κατάσταση είναι καλύτερη από το θάνατο, η μεγαλύτερη επικράτηση της νοσηρότητας μεταξύ των ηλικιωμένων μπορεί να είναι μια θετική εξέλιξη. Η ασθενική κατάσταση μπορεί να διαχωριστεί στη περίπτωση που ένα ηλικιωμένο έχει μια χρόνια ασθένεια αλλά είναι σε καλή λειτουργική κατάσταση και στη περίπτωση που το άτομο είναι ανάπηρο.

Τα περισσότερα είδη νοσηρότητας και αναπηρίας, συμπεριλαμβανομένων των καρδιακών παθήσεων και της άνοιας, οδηγούν σε υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας. Επομένως, εάν η κακή υγεία μετά την ηλικία των 85 ετών δεν καθυστερεί, θα είναι δύσκολο να μειωθεί η θνησιμότητα μετά την ηλικία αυτή. Βραχυπρόθεσμα και ανάλογα με τον δείκτη υγείας που μελετάται, το καθαρό αποτέλεσμα των διαδικασιών για τη διάσωση ζώων και τη βελτίωση της υγείας μπορεί να οδηγήσει είτε σε αυξήσεις είτε σε μειώσεις στην συχνότητα της νοσηρότητας και της αναπηρίας. Ωστόσο, μακροπρόθεσμα η καλύτερη υγεία σε προχωρημένη ηλικία μπορεί να αποτελέσει προϋπόθεση για τη συνεχή καλύτερευση της επιβίωσης.

Με την αυξανόμενη ηλικία, οι γυναίκες αποτελούν ένα μεγαλύτερο μερίδιο του πληθυσμού. Στη Σουηδία το 2008, σχεδόν το 52% των γεννήσεων ήταν αγόρια και, παρά τα υψηλότερα ποσοστά θανάτου των ανδρών, οι άνδρες υπερέβαιναν τις γυναίκες στην ηλικίες των 60 ετών. Υπήρχαν τρεις γυναίκες για κάθε δύο άνδρες μέχρι την ηλικία των 80 ετών και έξι γυναίκες για κάθε άνδρα μεταξύ των αιωνόβιων. ωστόσο από πλευράς διάφορων δεικτών υγείας και αναπηρίας, οι ηλικιωμένοι άνδρες αντέδρασαν

γενικά καλύτερα από τις γυναίκες. Αυτό είναι το παράδοξο της υγιούς επιβίωσης: οι άνδρες φαίνεται να είναι πιο υγιείς από τις γυναίκες, αλλά πεθαίνουν νεότεροι (Oksuzyan, Juel et al. 2008). Οι άντρες τείνουν να πιστεύουν ότι η υγεία τους είναι καλύτερη από ότι είναι στην πραγματικότητα και δεν αναζητούν ιατρική περίθαλψη τόσο συχνά όσο οι γυναίκες επίσης έχουν λιγότερες συνεδριάσεις με γενικούς ιατρούς αλλά συχνότερα χρειάζονται θεραπεία έκτακτης ανάγκης (Oksuzyan, Juel et al. 2008). Τα θηλυκά άτομα φαίνονται να είναι ικανότερα να επιβιώσουν με κακή υγεία (Olsen, Dehlendorff et al. 2009). Τα αρσενικά τείνουν να εμπλέκονται σε ριψοκίνδυνες συμπεριφορές. Αυτή η τάση μπορεί να είναι εν μέρει γενετική, με βάση τις διαφορετικές αναπαραγωγικές ευκαιρίες που αντιμετωπίζουν τα αρσενικά σε σύγκριση με τα θηλυκά (Austad 2006) (R., A. et al. 2008).

### 1.3 Ο γερασμένος εγκέφαλος

Η συναπτική γήρανση και η γνωστική εξασθένηση στο προμετωπιαίο φλοιό (prefrontal cortex (PFC) σχετίζεται κυρίως με μια εκτεταμένη απώλεια αξονό-ακανθικών συνάψεων και αυτή η απώλεια είναι ιδιαίτερα επιλεκτική καθώς σχεδόν το 50% των λεπτών δενδριτικών ακανθών χάνονται ενώ οι άλλες τάξεις των ακανθών μένουν ανεπηρέαστες από τη γήρανση. Οι λεπτές άκανθες (ενδεχομένως η θέση των σιωπηλών συνάψεων) είναι εξαιρετικά πλαστικές και δυναμικές, σε σύγκριση με τις μανιταροειδείς άκανθες οι οποίες είναι σταθερές στο χρόνο (Matsuzaki, Ellis-Davies et al. 2001) (Kasai, Matsuzaki et al. 2003) (Zuo, Lin et al. 2005) (Holtmaat, Wilbrecht et al. 2006) (Bourne and Harris 2007) . Οι γνωστικές λειτουργίες διαμεσολαβούμενες από το προμετωπιαίο φλοιό μειώνονται με την ηλικία και αυτή η μείωση είναι πιθανό να συσχετίζεται με τη πλαστικότητα και τη δυναμικότητα των λεπτών ακανθών που είναι ιδιαίτερα σημαντικές για την προσωρινή κωδικοποίηση πληροφοριών. Αντίθετα, η κωδικοποίηση της μνήμης (και η επιτυχής επακόλουθη ανάκτηση) στον ιππόκαμπο συνδέεται με τη συναπτική σταθερότητα και τη μετατροπή των απλών αξονο-ακανθικών συνάψεων σε περίπλοκες συνάψεις οι πολυσυναπτικές τελικές απολήξεις (multisynaptic boutons). Η αύξηση του αριθμού των διάτρητων συνάψεων έχει συσχετισθεί με την επαγωγή και τη διατήρηση της μακροχρόνιας ενίσχυσης (long-term potentiation LTP, (Geinisman, deToledo-Morrell

et al. 1991) (Geinisman, Detoleado-Morrell et al. 1996). Επίσης οι πολυσυναπτικές τελικές απολήξεις αυξάνονται στη περιοχή 1 του ιππόκαμπου, CA1 μετά από συσχετιστική μάθηση (Geinisman, Berry et al. 2001), επαγωγή LTP(109) ή θεραπεία οιστρογόνων (Arnsten, Paspalas et al. 2010). Υπάρχουν συγκεκριμένες κατηγορίες συνάψεων που είναι ευάλωτες στη γήρανση στον ιππόκαμπο. Σε αντίθεση με το προμετωπιαίο φλοιό (PFC), οι μεγάλες, πολύπλοκες συνάψεις φαίνονται πιο ευάλωτες. Από την άποψη αυτή, η μείωση του μήκους των διάτρητων συνάψεων στην περιοχή 1 του ιππόκαμπου CA1 (σε αρουραίους), η απώλεια των διάτρητων συνάψεων στην οδοντωτή έλικα (των αρουραίων) και η μείωση των πολυσυναπτικών τελικών απολήξεων (σε οδοντωτή έλικα ηλικιωμένου πιθήκου) είναι φαινόμενα που σχετίζονται με τη διαταραχή του ιππόκαμπου και της μνήμης εξαρτώμενης από το διάμεσο κροταφικό λοβό (median temporal lobe ,MTL) - είναι πιθανό να αντικατοπτρίζουν τη διακοπή της συναπτικής πολυπλοκότητας και την ικανότητα κωδικοποίησης και ανάκτησης σύνθετων πληροφοριών σε χρονικές περιόδους που υπερβαίνουν το εύρος της προσωρινής μνήμης. Συγκεκριμένα, στον ιππόκαμπο, λεπτές σπονδυλικές αγκάθες, περίπου ~ 40% των οποίων δεν έχουν ανιχνεύσιμη ανοσοαντιδραστικότητα του υποδοχέα AMPA και έτσι μπορούν να φέρουν σιωπηλές συνάψεις (Ganeshina, Berry et al. 2004), δεν χάνονται στη γήρανση. Έτσι, η γήρανση στον προμετωπιαίο φλοιό μπορεί να χαρακτηρίζεται από απώλεια σιωπηλών συνάψεων, ενώ η γήρανση στον ιππόκαμπο μπορεί να χαρακτηρίζεται κυρίως από απώλεια καθιερωμένων, προηγούμενων ενισχυμένων συνάψεων. Ο ιππόκαμπος και ο προμετωπιαίος φλοιός (PFC) έχουν πολύ διαφορετικές συναπτικές στρατηγικές για την εκτέλεση εντελώς διαφορετικών γνωστικών καθηκόντων, φέρουν επίσης πολύ διαφορετικές συναπτικές ευαισθησίες στη γήρανση. Αυτές οι διαφορές υποδηλώνουν ότι διαφορετικοί μοριακοί μηχανισμοί μπορεί να είναι υπεύθυνοι για τη συναπτική γήρανση σε κάθε περιοχή, ο οποίος έχει σημαντικές θεραπευτικές συνέπειες. Η αποτυχία σχηματισμού λεπτών αγκαθών συνεπάγεται ότι η δυναμική της ακτίνης μπορεί να διακυβεύεται σε πυραμιδικά κύτταρα εντός του προμετωπιαίου φλοιού (PFC). Έτσι, οι πρωτεΐνες που ρυθμίζουν τη δυναμική της ακτίνης όπως η κινάση της LIM και η cofilin (Arber, Barbayannis et al. 1998) (Yang, Higuchi et al. 1998) (Maekawa, Ishizaki et al. 1999) είναι δυνητικοί στόχοι για παρέμβαση στο προμετωπιαίο φλοιό (PFC). Εντούτοις, στον ιππόκαμπο, οι διάτρητες

συνάψεις είναι η κύρια κατηγορία των συνάψεων που επηρεάζονται από τη γήρανση, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ρύθμιση της επέκτασης της μετασυναπτικής πυκνότητας PSD (Post synaptic density) στις υπάρχουσες συνάψεις και η συναφής διακίνηση των υποδοχέων AMPA (Nicholson, Yoshida et al. 2004) (Desmond and Weinberg 1998) μπορεί να είναι η βασική κυτταρική διαδικασία που πρέπει να στοχεύει στην προστασία της συναπτικής γήρανσης σε αυτή την περιοχή του εγκεφάλου.

Η γήρανση σχετίζεται με χαρακτηριστικές δομικές και φυσιολογικές αλλαγές στον εγκέφαλο. Η απώλεια μεμονωμένων νευρώνων στην πλειονότητα των φλοιωδών περιοχών είναι ελάχιστη (Bishop, Lu et al. 2010), αλλά οι νευρώνες με υψηλές μεταβολικές απαιτήσεις, όπως για παράδειγμα οι πυραμιδικοί νευρώνες του ιππόκαμπου, μπορεί να επηρεαστούν δυσανάλογα από την αλλοιωμένη συναπτική λειτουργία, τη μεταφορά πρωτεϊνών και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων (Bishop, Lu et al. 2010). Ο ιππόκαμπος έχει αναγνωριστεί ως ένας σημαντικός μεσολαβητής στην παθοφυσιολογία της γνωσιακής έκπτωσης, της άνοιας του Alzheimer (Panegyres 2004) και αποτελεί βασικό συστατικό της απόκρισης στο stress. Η γήρανση του εγκεφάλου χαρακτηρίζεται επίσης από δομικές και λειτουργικές μεταβολές στα μικρογλοιακά κύτταρα, τα οποία αποτελούν τον πληθυσμό των ανοσοκυττάρων του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) και είναι το ισοδύναμο ΚΝΣ των μακροφάγων. Ενεργοποιούνται από εγκεφαλική βλάβη, τοπική και συστηματική φλεγμονή παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του παραληρήματος (Cunningham, Wilcockson et al. 2005) (van Gool, van de Beek et al. 2010) και υπερ-ανταποκρίνονται σε μικρά ερεθίσματα με τη γήρανση, τα οποία ενδεχομένως προκαλούν βλάβη και νευρωνικό θάνατο (Luo, Ding et al. 2010) (Streit 2006) (Cunningham, Wilcockson et al. 2005). Μια πληθυσμιακή μελέτη στην οποία συμμετείχαν 273 νοσηλευόμενοι ηλικιωμένοι, εντόπισε ότι η αδυναμία σχετίζεται τόσο με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης παραληρήματος και μετέπειτα μειωμένη επιβίωση (Eeles, White et al. 2012). Αυτό δείχνει ότι ο συνδυασμός του παραληρήματος και της αδυναμίας εντοπίζει τους ηλικιωμένους με ιδιαίτερα υψηλό κίνδυνο ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων.

Συγκεντρωτικά στοιχεία από μελέτες ηλικιωμένων ομάδων έδειξαν χρονική συσχέτιση μεταξύ αδυναμίας, γνωστικής έκπτωσης και άνοιας. Μια πληθυσμιακή μελέτη (n = 750) ηλικιωμένων χωρίς γνωστική έκπτωση κατά την έναρξη της μελέτης ανέφερε ότι η



αδυναμία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ήπιας νοητικής εξασθένησης μετά από 12 χρόνια παρακολούθησης (Boyle, Buchman et al. 2010). Ο αυξανόμενος βαθμός αδυναμίας συνδέθηκε επίσης με ταχύτερο ρυθμό γνωστικής έκπτωσης. Αντίθετα, σε δύο μεγάλες επιμήκεις μελέτες δεν βρέθηκε σύνδεση μεταξύ αδυναμίας και άνοιας (Buchman, Boyle et al. 2007, Song, Mitnitski et al. 2011).

#### 1.4 Αδυναμία στους σκελετικούς μύες - σαρκοπενία

Η σαρκοπενία έχει οριστεί ως προοδευτική απώλεια μάζας σκελετικών μυών και θεωρείται βασικό συστατικό της αδυναμίας (Howard, Ferrucci et al. 2007, Cruz-Jentoft, Baeyens et al. 2010). Η απώλεια μυϊκής δύναμης μπορεί να είναι πιο σημαντική από τις αλλαγές στη μυϊκή μάζα (Manini and Clark 2012). Υπό κανονικές συνθήκες, η ομοιόσταση των μυών διατηρείται σε μια λεπτή ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού νέων μυϊκών κυττάρων, και της υπερτροφίας και της απώλειας πρωτεϊνών. Αυτή η λεπτή ισορροπία συντονίζεται από τον εγκέφαλο, το ενδοκρινικό σύστημα και το ανοσοποιητικό σύστημα και επηρεάζεται από θρεπτικούς παράγοντες και το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας. Τα αρνητικά νευρολογικά, ενδοκρινικά και ανοσολογικά συστατικά της αδυναμίας έχουν τη δυνατότητα να διαταράξουν αυτήν την λεπτή ομοιοστατική ισορροπία και να επιταχύνουν την ανάπτυξη της σαρκοπενίας. Οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες που περιλαμβάνουν IL-6 και TNF $\alpha$  ενεργοποιούν τη κατανάλωση της μυϊκής μάζας για να παράγουν αμινοξέα για ενέργεια και να διασπάσουν αντιγονικά πεπτίδια (Gaczynska, Rock et al. 1994). Αυτή η προστατευτική απόκριση μπορεί να γίνει παθολογική παρουσία μιας υπερδραστικής, ανεπαρκώς ρυθμισμένης φλεγμονώδους απόκρισης που χαρακτηρίζει την αδυναμία, οδηγώντας σε απώλεια μυϊκής μάζας και δύναμης, με συνεπακόλουθη μείωση της λειτουργικής ικανότητας.

Δεδομένης της δημογραφικής γήρανσης σε παγκόσμιο επίπεδο, η σαρκοπενία αποτελεί σημαντικό παράγοντα για τη νοσηρότητα, την κλιμάκωση του κοινωνικο-οικονομικού κόστους και τελικά τη θνησιμότητα. Στο Ηνωμένο Βασίλειο, 10 εκατομμύρια άνθρωποι σήμερα είναι άνω των 65 ετών ενώ, με τις τελευταίες προβλέψεις να υποδηλώνουν ότι

αυτό θα αυξηθεί σε 19 εκατομμύρια άτομα έως το 2050 (R. 2013). Η ηλικία είναι ο πρωταρχικός παράγοντας κινδύνου για πολλές παθολογικές καταστάσεις, όπως η νόσος του Alzheimer, η καρδιαγγειακή νόσος, ο διαβήτης τύπου II και η σαρκοπενία. Η απώλεια μυών είναι εμφανής σε ανθρώπους που κάνουν καθιστική ζωή ακόμα και στη ηλικία των 25 ετών, 10% απώλεια στην μέγιστη μάζα (SkM) σε ηλικία 40 ετών, η οποία αυξάνεται σε 40% στη ηλικία 70 ετών (Porter, Vandervoort et al. 1995). Πράγματι, από την ηλικία των 50 ετών, η μυϊκή μάζα χάνεται με ρυθμό 1-2% ετησίως (Hughes, Frontera et al. 2001). Η απώλεια αυτή επηρεάζει αρνητικά τη λειτουργική και μεταβολική απόδοση, τη μέγιστη αντοχή και την ποιότητα των μυών (Renault, Thornell et al. 2002), (Morse, Thom et al. 2005, Morse, Thom et al. 2005) (Rossi, Marzani et al. 2008). Είναι σημαντικό ότι η απώλεια της λειτουργικής ικανότητας στον σκελετικό μυ με την ηλικία συσχετίζεται έντονα με τη μειωμένη ποιότητα ζωής, την αυξημένη αδυναμία, τη νοσηρότητα και με την πρόωρη θνησιμότητα (Rantanen, Volpato et al. 2003). Δεδομένου ότι περίπου το 40-50% των ατόμων άνω των 80 ετών πάσχει από σαρκοπενία, αυτή η κατάσταση έχει αναγνωριστεί ως μια σημαντική γηριατρική κλινική διαταραχή (Cruz-Jentoft, Baeyens et al. 2010). Συνεπώς, η μείωση της ηλικιοσχετιζόμενης απώλειας του σκελετικού μυός (ΣΚΜ) έχει μεγάλη κλινική σημασία, αφενός για την ποιότητα ζωής και για τις κοινωνικο-οικονομικές επιπτώσεις της σαρκοπενίας.

Έχει αποδειχθεί ότι η μείωση της αναγεννητικής ικανότητας επιπρόσθετα της απώλειας της σκελετικής μάζας (SkM) με την ηλικία συμπίπτει με την καταστολή των σηματοδοτικών μονοπατιών της ινσουλίνης / ινσουλινομιμητικού αυξητικού παράγοντα (IGF signalling). Γενετικές ή φαρμακολογικές χειραγωγήσεις αυτών των εξαιρετικά διατηρημένων οδών έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνουν σημαντικά τη διάρκεια ζωής και της υγείας σε διάφορα είδη, συμπεριλαμβανομένων και των θηλαστικών.

### 1.5 Ινσουλίνη/ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας (IGFs) στο σκελετικό μυ

Η οικογένεια insulin-like growth factor (IGF) αποτελείται από τους συνδέτες IGF-I και IGF-II, τους υποδοχείς τύπου I και τύπου II, έξι ειδικές πρωτεΐνες δέσμευσης υψηλής συγγένειας (IGFBP-1 έως IGFBP-6) , IGFBP πρωτεάσες και άλλα μόρια που

αλληλοεπιδρούν με τα IGFBP (Holly, Perks et al. 2000). Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης του εμβρυονικού, εμβρυϊκού και ενήλικου σκελετικού μυός (Stewart & Rotwein, 1996a). In vivo μελέτες τρωκτικών έδειξαν ότι η σιώπηση (knockout) του IGF-I, IGF-II ή του υποδοχέα IGF-I (IGF-IR) έχει ως αποτέλεσμα: ζώα φαινοτυπικά μικρά, σημαντική μείωση της σκελετικής μυϊκής μάζας (SkM) και νεογνική θνησιμότητα (Nabeshima, Hanaoka et al. 1993) (Lau, Stewart et al. 1994) (Stewart and Rotwein 1996, Stewart and Rotwein 1996). Αντίθετα, η αύξηση της έκφρασης του κυκλοφορούντος (circulating) IGF-I σε διαγονιδιακά ποντίκια έχει ως αποτέλεσμα την υπερτροφία του σκελετικού μυός (SkM) (Mathews, Hammer et al. 1988). Επιπλέον, η σιώπηση του IGF-IIR έχει επίσης ως αποτέλεσμα την υπερανάπτυξη του σκελετικού μυϊκού συστήματος καθώς το IIR δρα ως υποδοχέας εκκαθάρισης (clearance receptor) για το IGF-II, έτσι η απομάκρυνσή του οδηγεί σε αύξηση του κυκλοφορούντος IGF-II και επακόλουθη υπερτροφία (Lau, Stewart et al. 1994).

Στη σαρκοπενία παρατηρήθηκε 33% μείωση στον κυκλοφορούντα IGF-I (Benbassat, Maki et al. 1997) και μείωση κατά 45% του mRNA του IGF-I που προέρχεται από το σκελετικό μυ SkM σε ηλικιωμένα (70 - 0,3 έτη) σε σχέση με νεότερα (20 - 0,3 έτη) αρσενικά άτομα (Leger, Derave et al. 2008). Επίσης έχει περιγραφεί μια αντίστοιχη εξασθένηση στους κατωφερείς ενδοκυτταρικούς σηματοδοτικούς στόχους που εμπλέκονται στην πρωτεϊνική σύνθεση σε σχέση με την ηλικία. Αυτές περιλαμβάνουν μειώσεις στη δραστικότητα των PI3K, Akt, mTOR, p70S6K1, 4E-BP1 και EIF2B σε ηλικιωμένους σε σχέση με νεότερους (Terada, Patel et al. 1994) (Welsh, Stokes et al. 1997) (Pallafacchina, Calabria et al. 2002) (Cuthbertson, Smith et al. 2005, Leger, Derave et al. 2008). Διαταραχές αυτών των οδών σηματοδότησης παρατηρήθηκαν επίσης με την ηλικία μετά από συστολή μυών (Fry, Drummond et al. 2011), μια πρόσφατη μελέτη που χρησιμοποίησε μοντέλα ποντικών προσπάθησε να συνοψίσει/ανακεφαλαιώσει τα επίπεδα των συγκεντρώσεων του IGF-I στον ανθρώπινο ορό σε σχέση με την ηλικία. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στα τρωκτικά τα επίπεδα του IGF-I στον ορό είναι σταθερά υψηλά και δεν μειώνονται μέχρι τα βαθιά γεράματα όταν παρατηρείται σαρκοπενία, ενώ στους ανθρώπους το IGF-I στον ορό είναι υψηλότερος κατά την εφηβεία και μειώνεται κατά τη μέση ηλικία και παράλληλα με την έναρξη της

σαρκοπενίας. Τα ποντίκια με μειωμένη συγκέντρωση IGF-I στον ορό σε ηλικία 1 έτους είχαν σημαντική επιδεινώσει στην υγεία. Παρουσίασαν αυξημένο βάρος ήπατος, φλεγμονή και αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ηπατικών όγκων. Σημαντικό επίσης είναι ότι παρατηρήθηκε αυξημένη οξειδωση πρωτεϊνών στον σκελετικό μυ (SkM), υποδεικνύοντας αυξημένο οξειδωτικό στρες (Gong, Kennedy et al. 2014), σε γενικές γραμμές υποδηλώνοντας τον σημαντικό ρόλο του IGF-I στη μείωση ορισμένων, αλλά όχι όλων (βλ. Παρακάτω) των ηλικιοσχετιζόμενων παθολογιών.

Πρόσφατα έχει αναπτυχθεί και ξεκινήσει ο χαρακτηρισμός των ρόλων των IGFs, των υποδοχέων τους και των τροποποιητικών πρωτεϊνών πρόσδεσης σε κυτταρικά μοντέλα γήρανσης του σκελετικού μυός (SkM) (Sharples, Al-Shanti et al. 2010) (Sharples, Al-Shanti et al. 2011, Sharples and Stewart 2011, Sharples, Player et al. 2012, Sharples, Al-Shanti et al. 2013). Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι τα επίπεδα της δέσμευσης IGF πρωτεϊνών (IGF binding protein levels) είναι αυξημένα στα κύτταρα που εμφανίζουν φαινοτύπους γήρανσης μέσω μηχανισμών που τελικά μειώνουν τη δραστικότητα του Akt (Sharples, Al-Shanti et al. 2011, Sharples and Stewart 2011, Sharples, Al-Shanti et al. 2013), και προκαλούν υπερτροφία και διαταραχές της διαφοροποίησης στους μυοσωληνίσκους (Sharples, Al-Shanti et al. 2010, Sharples, Al-Shanti et al. 2011, Sharples and Stewart 2011, Sharples, Player et al. 2012, Deane, Hughes et al. 2013). Οι φαινότυποι αυτοί παρατηρούνται επίσης σε πρόδρομα ανθρώπινα σκελετικά μυϊκά κύτταρα (SkM) που απομονώνονται από ηλικιωμένους έναντι νεαρών δοτών (Collins, Zammit et al. 2007) (Bigot, Jacquemin et al. 2008) (Pietrangelo, Puglielli et al. 2009) (Beccafico, Riuzzi et al. 2011). Τα αποτελέσματα αυτά αντιστοιχούν σε απώλεια της μυογονικότητας (Hidestrand, Richards-Malcolm et al. 2008) παρόλο το αμετάβλητο μήκος τελομερούς και τη σταθερότητα στη δραστικότητα της τελομεράσης (O'Connor, Carlson et al. 2009). Η πλειονότητα των ενδείξεων (τόσο in vitro όσο και in vivo) δείχνει την ότι το IGF-I είναι απαραίτητο για την ενεργοποίηση των καθοδικών οδών σηματοδότησης που σχετίζονται με τη διατήρηση της σκελετικής μυϊκής μάζας σε όλη τη διάρκεια της ζωής.

Η σχέση Ινσουλίνης/ινσουλινομιμιακού αυξητικού παράγοντα (IGFs) με τη μείωση της μάζας των μυών και τη μακροζωία

Οι ηλικιοσχετιζόμενες μειώσεις στη δραστηριότητα του IGF-I σχετίζονται με μειώσεις στο μέγεθος και τη λειτουργία του σκελετικού μυός (SkM). Ωστόσο, η μειωμένη σηματοδότηση μέσω της οδού Insulin/Insulin-like-Growth Factor Signalling (IIS) συνδέεται επίσης με την αύξηση της διάρκειας ζωής και της υγείας σε οργανισμούς μοντέλα συστήματα. (Clancy, Gems et al. 2001) (Holzenberger, Dupont et al. 2003) (Barbieri, Bonafe et al. 2003) (Tatar, Bartke et al. 2003) (Selman, Lingard et al. 2008) (Giannakou and Partridge 2007) (Piper, Selman et al. 2008) (Selman, Lingard et al. 2008) (Vallejo, Michel et al. 2009) (Kenyon 2011) (Selman and Withers 2011). Τόσο τα θηλυκά όσο και τα αρσενικά ποντίκια που στερούνται τελείως το υπόστρωμα του υποδοχέα της ινσουλίνης ( $Irs1^{-/-}$ ) παρουσιάζουν μεγάλη διάρκεια ζωής (Selman, Lingard et al. 2008, Selman, Partridge et al. 2011, Selman and Withers 2011). Τα θηλυκά ποντίκια παρουσιάζουν αυξημένο προσδόκιμο ζωής κατά 32% σε σύγκριση με τα άγριου-τύπου μάρτυρες, που αντιστοιχούσαν σε μια μέση διάρκεια ζωής 971 ημερών σε ποντίκια  $Irs1^{-/-}$  σε σύγκριση με τις 738 ημέρες που αντιστοιχούν σε άγριου τύπου ποντίκια(μάρτυρες). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα ποντίκια  $Irs1^{-/-}$  έδειξαν αντίσταση σε αρκετές παραμέτρους που σχετίζονται με τη γήρανση, συμπεριλαμβάνοντας τα οστά, το δέρμα, το μεταβολισμό, την ανοσία και την κινητική δυσλειτουργία (Selman, Lingard et al. 2008). Έτσι, τα ποντίκια  $Irs1^{-/-}$ , όπως και πολλά άλλα μακρόβια μοντέλα, απολαμβάνουν μια μεγαλύτερη περίοδο της ζωής τους χωρίς διάφορες ηλικιοσχετιζόμενες παθολογίες (Selman and Withers 2011). Είναι σημαντικό ότι τα  $Irs1^{-/-}$  ποντίκια παρουσιάζουν μειωμένη ανάπτυξη σε σύγκριση με τα άγριου τύπου ίσως λόγω του σημαντικού ρόλου του IGF and Insulin Receptor Substrate (IRS-1) στην εμβρυϊκή και τη μεταγεννητική ανάπτυξη (Withers, Gutierrez et al. 1998) (Withers, Burks et al. 1999). Επιπλέον, στα ποντίκια τα οποία ήταν ελαττωματικά ως προς την αυξητική ορμόνη (GH) / IGF-I, ενώ η φαινοτυπική τους ανάπτυξη επιβραδύνθηκε σε σύγκριση με τα θηλυκά αγρίου τύπου παρουσίασαν αυξημένο προσδόκιμο ζωής, χαμηλότερες συχνότητες μετάλλαξης του DNA, υψηλότερη επισκευή εκτομής DNA και δευτερογενή εξασθένηση του IIS (Pell and Bates 1992) (Bates and Holder 1988) (Bartke and Brown-Borg 2004) (Bartke 2005) (Garcia, Busuttil et al. 2008) (Masternak, Panici et al. 2009) (Page, Salmon et al. 2009) (Garinis, Uittenboogaard et al. 2009). Ενώ τα οφέλη της

μειωμένης σηματοδότησης IIS για τη διάρκεια ζωής και την καλή φυσική κατάσταση είναι ξεκάθαρα, οι μειώσεις της σκελετικής μυϊκής μάζας (SkM) αντιστοιχούν με μειώσεις του IGF-I με την ηλικία. Πραγματικά, μερικές μελέτες υποδεικνύουν ότι τα οστά, οι καρδιακοί μύες και άλλοι ιστοί παρουσιάζουν χαρακτηριστικά γήρανσης όταν το IGF-I είναι καταστραμμένο (Adamo and Farrar 2006) (Anversa 2005) (Ceda, Dall'Aglio et al. 2005) (Geusens and Boonen 2002). Πράγματι, τα ποντίκια *Irs<sup>-/-</sup>* έχουν μειωμένο σωματικό βάρος, λιπώδη μάζα, σε σύγκριση με ποντίκια μάρτυρες αντίστοιχης ηλικίας (Pete, Fuller et al. 1999) (Selman, Lingard et al. 2008), παρουσιάζουν επίσης μειωμένο βάρος του σκελετικού γαστροκνήμιου μυός (SKM) που είναι αναλογικά μεγαλύτερο από τη μείωση που παρατηρείται στο συνολικό σωματικό βάρος (Pete, Fuller et al. 1999). Ωστόσο, τα *Irs<sup>-/-</sup>* ποντίκια είναι πιο ανθεκτικά στην ηλικιοσχετιζόμενη οστεοπόρωση σε σύγκριση με τους μάρτυρες, γεγονός που μπορεί να αιτιολογήσει κάπως την αντίφαση αυτή. Σε 31 γενετικά διαφοροποιημένα είδη ποντικών, η μειωμένη συγκέντρωση του IGF-I στον ορό συσχετίστηκε με αυξημένη μακροζωία (Yuan, Tsaih et al. 2009). Επιπλέον, οι μελέτες του πληθυσμού δείχνουν ότι οι μειώσεις του IGF-I σε νεαρή ηλικία, αλλά οι αυξήσεις σε γήρας ενδέχεται να μεγιστοποιήσουν την υγιή διάρκεια ζωής, όπως ανασκόπησαν οι Yang et al. (2005) (Yang, Anzo et al. 2005). Συνολικά, είναι σαφές ότι οι μειώσεις στο υπόστρωμα 1 του IGF and Insulin Receptor Substrate IIS ενισχύουν τη διάρκεια ζωής και καθυστερούν ορισμένες ηλικιοσχετιζόμενες παραμέτρους, αλλά οδηγούν σε μικρό σωματικό μέγεθος το οποίο χαρακτηρίζεται τόσο από μειωμένη μάζα λίπους όσο και από πιθανών μικρότερη αναλογική σκελετική μυϊκή μάζα (SkM). Ωστόσο, στο εγγύς μέλλον απαιτούνται περισσότερες έρευνες για τη σκελετική μυϊκή μάζα και την αντίστοιχη κυτταρική σηματοδότηση σε ηλικιωμένα *Irs<sup>-/-</sup>* ποντίκια, ώστε να κατανοηθεί η πιθανή αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των μηχανισμών που ελέγχουν την αύξηση της διάρκειας ζωής και την υγεία, συμβάλλοντας ταυτόχρονα στη μείωση της σκελετικής μυϊκής μάζας με την ηλικία/γήρανση.

## 1.6 Ραπαμικίνη, το mTOR μονοπάτι στη γήρανση

Εκτός από τη μείωση της Insulin/Insulin-like-Growth Factor Signalling (IIS), έχει αποδειχθεί ότι η μειωμένη σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού TOR (target of rapamycin) τροποποιεί τη διάρκεια ζωής και αυξάνει την καλή υγεία σε οργανισμούς μοντέλα συστήματα. (Karahi, Zid et al. 2004) (Kaeberlein, McVey et al. 1999) (Powers, Kaeberlein et al. 2006) (Hansen, Taubert et al. 2007, Harrison, Strong et al. 2009) (Anisimov, Zabezhinski et al. 2010) (Bjedov, Toivonen et al. 2010) (Miller, Harrison et al. 2011) (Robida-Stubbs, Glover-Cutter et al. 2012) (Zhang, Bokov et al. 2014). Η μακροζωία στους ανθρώπους σχετίζεται επίσης με μειωμένη σηματοδότηση mTOR (Slagboom, Beekman et al. 2011) (Passtoors, Beekman et al. 2013). Το TOR ή το mTOR (θηλαστικά) είναι, ωστόσο, ο βασικός ρυθμιστής της ανάπτυξης του σκελετικού μυϊκού συστήματος (SkM), παίζει επίσης κεντρικό ρόλο στην αλληλεπίδραση μεταξύ ανάπτυξης και μεταβολισμού σε ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών τύπων (Inoki, Zhu et al. 2003) και σκελετικών μυών. Στα θηλαστικά το mTOR ρυθμίζει την υπερτροφία του σκελετικού μυός (SkM) μέσω της φωσφορυλίωσης της P70S6 κινάση 1 (S6K1) και της πρωτεΐνης δέσμευσης της eIF4E1 (4E-BP1) (βλέπε (Schiaffino, Dyar et al. 2013). Οι ρόλοι τους στην ανάπτυξη του σκελετικού μυός SkM μετά από συστολή και μηχανική υπερτροφία που προκαλείται από φορτίο, συνεργική αποκοπή, υπερτροφία μωσωληναρίων είναι καλά καθορισμένοι (Fujita, Dreyer et al. 2007) (Drummond, Fry et al. 2009) (Willett, Cowan et al. 2009) (Miyazaki, McCarthy et al. 2011) (Philp, Hamilton et al. 2011) (Jacobs, You et al. 2013) (Hamilton, Philp et al. 2014). Σε ηλικιωμένους, το mTOR γίνεται λιγότερο ευαίσθητο στην επαγόμενη ενεργοποίηση λόγω συστολής (μέσω άσκησης αντίστασης), σε σύγκριση με νέους ενήλικες (Fry, Drummond et al. 2011). Η δραστηριότητα του mTOR ως απόκριση σε διατροφή με αμινοξέα παρουσιάζεται μειωμένη επίσης σε ηλικιωμένα άτομα, ένα φαινόμενο που είναι γνωστό ως «αναβολική» αντίσταση (Cuthbertson, Smith et al. 2005). Η επαγόμενη αναστολή του mTOR από τη ραπαμικίνη έχει, ωστόσο, αποδειχθεί ότι αυξάνει τη διάρκεια ζωής των ζυμομυκήτων, της *drosophila* και των ποντικών (Powers, Kaeberlein et al. 2006) (Harrison, Strong et al. 2009) (Anisimov, Zabezhinski et al. 2010) (Bjedov, Toivonen et al. 2010) (Miller, Harrison et al. 2011) (Robida-Stubbs, Glover-Cutter et al. 2012)

(Wilkinson, Burmeister et al. 2012). Επιπλέον, η ραπαμυκίνη ελαττώνει μια σειρά ηλικιοσχετιζόμενων παθολογιών (Johnson, Rabinovitch et al. 2013), εκτός από μια αμφιλεγόμενη μελέτη που ισχυρίζεται το αντίθετο (Neff, Flores-Dominguez et al. 2013). Κατά γενική συναίνεση υποστηρίζεται ότι η κατάλληλη διαμόρφωση της σηματοδότησης του mTOR θα μπορούσε να αποτελεί σημαντική οδό παρέμβασης για την επιβράδυνση της γήρανσης και την αύξηση της υγείας (Johnson, Martin et al. 2013). Ωστόσο, η αναστολή του mTOR που προκαλείται από τη ραπαμυκίνη στο σκελετικό μυ έχει αποδειχθεί ότι παρεμποδίζει τη μυογονική διαφοροποίηση (Willett, Cowan et al. 2009), αμβλύνει την αναβολική απόκριση σε υπερφόρτωση και θρεπτικά συστατικά (Goodman, Frey et al. 2011), με ειδική μυϊκή απενεργοποίηση του mTOR που οδηγεί σε μυοπάθεια (Rissov, Mazelin et al. 2009). Συνεπώς τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν, ίσως παράδοξα, ότι παρά την αναστολή του mTOR παρατηρείτε αύξηση της διάρκειας ζωής και βελτίωση πολλών ηλικιοσχετιζόμενων παθολογιών, η σηματοδότηση του mTOR διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της μάζας του σκελετικού μυός (SkM) και του αναβολισμού. Παρόλα αυτά, η μόνη μελέτη που μέχρι στιγμής διερεύνησε το μέγεθος και τη λειτουργία των μυών σε ηλικιωμένα ποντίκια, υποδηλώνει ότι η διατομή των μυών και η ισχύς grip/paw δεν επηρεάστηκαν από μια 16μηνιαία θεραπεία με ραπαμυκίνη έναντι μαρτύρων.

### **1.7 Διατροφικός περιορισμός, μακροζωία και μυϊκό σύστημα**

Ο διατροφικός περιορισμός ορίζεται ως η μείωση της πρόσληψης θερμίδων, διατηρώντας ταυτόχρονα την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών, συγκριτικά με εκείνη που καταναλώνεται κανονικά από άτομα με ελεύθερη (κατά βούληση) πρόσβαση στα τρόφιμα (Selman 2014). Ο διατροφικός περιορισμός (DR), μέχρι σήμερα, είναι η πλέον αναπαράξιμη παρέμβαση, που επεκτείνει τη μέση και μέγιστη διάρκεια ζωής σε διάφορα μοντέλα (Mair and Dillin 2008) (Speakman and Selman 2011) (Selman 2014). Στα ποντίκια, φαίνεται να υπάρχει μια έντονη ειδική συσχέτιση ανάμεσα στο διατροφικό περιορισμό (DR) και τη μακροζωία. Στα πρωτεύοντα, η σχέση μεταξύ διατροφικού περιορισμού και επέκτασης διάρκειας ζωής μπορεί επίσης να συγχέεται με γενετική



ετερογένεια (ανασκόπηση από (Selman 2014). Ωστόσο, ο διατροφικός περιορισμός μειώνει τη συχνότητα και τη σοβαρότητα διαφόρων παθολογικών καταστάσεων όπως (η μείωση στην απόκριση ινσουλίνης, η δυσανεξία στη γλυκόζη, η γνωσιακή έκπτωση και η ανοσολογική δυσλειτουργία (Masoro, Yu et al. 1982) (Barger, Walford et al. 2003) (Selman, Phillips et al. 2005) (Mattison, Roth et al. 2012). Συμπερασματικά, στα τρωκτικά και τα πρωτεύοντα, ο διατροφικός περιορισμός από μόνος του είναι ευεργετικός για την υγεία.

Η επίδραση χρόνιας μειωμένης θερμιδικής πρόσληψης στη σκελετική μυϊκή μάζα (SkM) είναι ότι με την πάροδο του χρόνου μειώνεται η απόλυτη μυϊκή μάζα. Αυτό δεν προκαλεί έκπληξη εάν θεωρηθεί ότι με την παρουσία περιορισμών θρεπτικών συστατικών, το κύτταρο απομακρύνεται από την ανάπτυξη σε μια προσπάθεια επιβίωσης. Επιπλέον, πρωτεΐνες από το σκελετικό μυϊκό σύστημα μπορεί να παρέχουν ενέργεια κατά τη διάρκεια αυστηρού θρεπτικού περιορισμού. Μια από τις πρώτες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για να αποδειχθεί αυτό ήταν αυτή των Inoki και συνεργατών (Inoki, Zhu et al. 2003). Χρησιμοποιώντας διάφορους κυτταρικούς τύπους (HEK293, MEF, EEF, LEFs) υπό συνθήκες διατροφικού περιορισμού (ΔΠ), μέτρησαν αυξημένη δραστηριότητα των AMPK και φωσφορυλιωμένη οζώδης σκλήρυνση 2 (TSC2). Το γονίδιο TSC2 αναστέλλει την mTOR και άλλα υποστρώματα, συμπεριλαμβανομένων των S6K, 4EBP-1 και EIF2, με αποτέλεσμα τη πτώση στους ρυθμούς ανάπτυξης και το μειωμένο μέγεθος κυττάρων. Ο ΔΠ καθυστερεί ή εμποδίζει την απώλεια σκελετικής μυϊκής μάζας (SkM) σε αρουραίους και πιθήκους δρώντας ενάντια στην εξασθένηση του μηχανισμού επιδιόρθωσης βλαβών του DNA, του πρωτεοσωμικού μηχανισμού, της αυτοφαγίας, της φλεγμονώδους σηματοδότησης και των μιτοχονδριακών ανωμαλιών (Aspnes, Lee et al. 1997) (Phillips and Leeuwenburgh 2005) (Hepple, Qin et al. 2008) (McKiernan, Colman et al. 2011).

Σε μια πρόσφατη *in vivo* μελέτη, η χρόνια μειωμένη θερμιδική πρόσληψη (με 30% της συνιστάμενης ημερήσιας πρόσληψης) για μια περίοδο που κυμαίνεται από 4 έως 20 έτη (μέση τιμή 9,6 ετών) είχε ως αποτέλεσμα μειωμένα επίπεδα IGF-I και τριπλή μείωση του mRNA της Akt / 30 -50% μείωση της δραστηριότητας Akt, με ταυτόχρονη αύξηση έκφρασης στα FOXO3a και FOXO4 (Mercken, Crosby et al. 2013). Οι μεταβολές αυτές

στο FOXO αναφέρθηκαν ότι τροποποιούν διάφορα γονίδια που σχετίζονται με τη μακροζωία, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων που σχετίζονται με την αντοχή στο στρες, την αντιοξειδωτική άμυνα, την επιδιόρθωση του DNA, την ανανέωση των πρωτεϊνών και τον κυτταρικό θάνατο (Mercken, Crosby et al. 2013). Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ο διατροφικός περιορισμός μείωσε επίσης τα επίπεδα της φλεγμονώδους κυτοκίνης TNF- $\alpha$  και της σχετιζόμενης σηματοδότησης της σε αρουραίους (Phillips and Leeuwenburgh 2005). Συνεπώς αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν ότι η χρόνια μέτρια (~ 30%) διατροφικός περιορισμός οδηγεί σε μεταγραφικό επαναπρογραμματισμό, ο οποίος προσαρμόζει την κυτταρική ρύθμιση από την φάση της ανάπτυξης σε δραστηριότητες συντήρησης / επισκευής, ενώ ενδεχομένως μειώνει την τοπική φλεγμονή. Είναι σημαντικό ότι, οι άνθρωποι και τα ποντίκια στις δίαιτες ΔΠ είχαν υψηλότερες αναλογίες σκελετικής μυϊκής μάζας SkM ως προς τη μάζα λίπους (Mercken, Crosby et al. 2013). Επομένως, υπάρχει δυνητικά ένα βέλτιστο επίπεδο διατροφικού περιορισμού (DR) που έχει ως αποτέλεσμα τη μακροζωία, ενώ πιθανόν να εμποδίζει την ανάπτυξη αλλά δεν προκαλεί απώλεια μυών.

Ένα από τα θέματα που σχετίζονται με τη μειωμένη θερμιδική πρόσληψη είναι η συμβολή των συνολικών θερμίδων από τους υδατάνθρακες έναντι των πρωτεϊνών. Οι περισσότερες μελέτες δεν κάνουν διάκριση μεταξύ των δύο. Είναι γνωστό ότι η πρόσληψη πρωτεΐνης μπορεί να ενισχύσει τη μυϊκή πρωτεϊνική σύνθεση σε δόσεις που ανταποκρίνεται σε νέους ή/και ηλικιωμένους ενήλικες (Cuthbertson, Smith et al. 2005, Moore, Robinson et al. 2009). Επιπλέον, η αύξηση πρόσληψης πρωτεΐνης στη δίαιτα μπορεί να βοηθήσει στη διατήρηση της μάζας του σκελετικού μυϊκού συστήματος κατά τη διάρκεια περιόδων νηστείας (ανασκόπηση στο (Wall and van Loon 2013) και να προκαλέσει μεγαλύτερη αύξηση της υπερτροφίας των σκελετικών μυών μετά από συνδυασμό συμπληρωμάτων διατροφής με άσκηση (αντίσταση) έναντι άσκησης μόνο (Cermak, Res et al. 2012). Η άσκηση σε συνδυασμό με υψηλότερη πρωτεϊνική περιεκτικότητα σε δίαιτες ΔΠ φαίνεται να έχει ως αποτέλεσμα τη διατήρηση του σκελετικού μυϊκού συστήματος (Garthe, Raastad et al. 2011) (Josse, Atkinson et al. 2011) (Mojtahedi, Thorpe et al. 2011) χωρίς αρνητικές επιπτώσεις στους δείκτες μιτοχονδριακής βιογένεσης (Taylor, Bartlett et al. 2013). Είναι ενδιαφέρον το γεγονός

ότι ο διατροφικός περιορισμός (ΔΠ) που είναι πλούσιος σε πρωτεΐνες μειώνει τόσο τη σωματική μάζα όσο και το ποσοστό σωματικού λίπους με συνακόλουθη μείωση των επιπέδων της ινσουλίνης και της ελεύθερης IGF-I (Maestu, Eliakim et al. 2010), αυξάνει τη διάρκεια ζωής, ενώ ενδεχομένως διατηρείται η μάζα του σκελετικού μυϊκού συστήματος. Η συμπλήρωση δίαιτας με αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας (BCAA) όπως η λευκίνη, η ισολευκίνη, η βαλίνη ή οι μεταβολίτες της λευκίνης όπως το β-υδροξυ-β-μεθυλοβουτυρικό (HMB) δείχτηκε ότι ενεργοποιούν το mTOR και τη πρωτεϊνική σύνθεση σε σχέση με άλλα βασικά / μη απαραίτητα αμινοξέα (Atherton, Smith et al. 2010) (Pimentel, Rosa et al. 2011, Churchward-Venne, Burd et al. 2012) (Salles, Chanet et al. 2013). Παλαιότερα, οι Mourier και οι συνάδελφοί τους παρατήρησαν ότι η μειωμένη θερμιδική πρόσληψη σε ανθρώπους (παλαιστές) όταν συνδυάστηκε με συμπληρώματα μικτών αμινοξέων (BCAA) οδήγησε σε μείωση της συνολικής μάζας σώματος και λίπους ( $\geq 17,3\%$ ), ωστόσο, η σκελετική μυϊκή μάζα (SkM) παρέμεινε αμετάβλητη (Mourier, Bigard et al. 1997). Αυτό υποδηλώνει έναν πιθανό ρόλο για τα αμινοξέα της διακλαδισμένης αλυσίδας (BCAAs) στη διατήρηση της σκελετικής μυϊκής μάζας υπό συνθήκες διατροφικού περιορισμού. Επιπλέον, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η β-υδροξυ-β-μεθυλοβουτυρικό οξύ (HMB) εξασθένησε την απώλεια σκελετικής μυϊκής μάζας που παρατηρήθηκε μετά από διατροφικό περιορισμό σε ποντίκια- μοντέλα άσκησης (Park, Henning et al. 2013). Παραδόξως όμως, το mRNA της Akt και mTOR ήταν αυξημένα στο σκελετικό μυϊκό σύστημα υπό συνθήκες διατροφικού περιορισμού. Οι υποθέσεις που βασίζονται σε στοιχεία που παρουσιάζονται στα παραπάνω τμήματα υποδηλώνουν ότι αυτό μπορεί να οφείλεται στην αύξηση του SIRT1, ωστόσο αυτή η υπόθεση απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση. Τέλος, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η αυξημένη πρόσληψη πρωτεϊνών, ειδικά των αμινοξέων της διακλαδισμένης αλυσίδας BCAAs, διεγείρει στόχους όπως το mTOR και το S6K, οι οποίοι είναι downstream της Insulin/Insulin-like-Growth Factor Signalling (IIS), η ακριβής σηματοδότηση του φέρεται να καταστέλλεται παρέχοντας τη δυνατότητα για μακροζωία και τη μείωση των ηλικιοσχετιζόμενων ασθενειών. Ωστόσο, έχει προταθεί ότι η αυξημένη πρόσληψη πρωτεϊνών μπορεί να αυξήσει την εμφάνιση ασθενειών όπως ο καρκίνος και επομένως να επηρεάσει αρνητικά τη μακροζωία (Rehman, Zwahlen et al. 2004). Πράγματι, είναι γνωστό ότι οι ασθενείς με καρκίνο που

δεν ανταποκρίνονται στη χημειοθεραπεία ή είναι ασθενείς που βρίσκονται στο τελικό στάδιο ακολουθούν μειωμένες πρωτεϊνικές δίαιτες οι οποίες, αν και ενδεχομένως προστίθενται στο χρόνιο ερεθισμένο περιβάλλον που προκαλεί απώλεια SkM (καχεξία), μπορούν να επιβραδύνουν την εξέλιξη του όγκου. Παραδείγματα περιλαμβάνουν ζωικά μοντέλα όπου ο διατροφικός περιορισμός μπορεί να εξασθενίσει την ογκογένεση μέσω αναστολής του mTOR, ενώ η διατροφή λευκίνης μπορεί να επιταχύνει την αύξηση του παγκρεατικού όγκου τόσο σε αδύνατους ποντικούς όσο και σε ποντικούς με υπερβολικό βάρος (Vellai, Takacs-Vellai et al. 2003) (Bjornsti and Houghton 2004) (Hursting, Smith et al. 2010) (Lashinger, Malone et al. 2011) (Liu, Lashinger et al. 2014). Ο περιορισμός της μεθειονίνης (ανήκει στην κατηγορία των απαραίτητων αμινοξέων) μπορεί επίσης να περιορίσει την ανάπτυξη του όγκου. Ο περιορισμός της μεθειονίνης αυξάνει τη διάρκεια ζωής στα τρωκτικά (Richie, Leutzinger et al. 1994) (Miller, Buehner et al. 2005, Emran, Yang et al. 2014) (Sinha, Cooper et al. 2014) (Liu, Lashinger et al. 2014). Μεταξύ 2253 ατόμων, ο κίνδυνος καρκίνου και θνησιμότητας αυξήθηκε στα άτομα που είχαν υψηλή πρωτεΐνη στη διατροφή τους οι οποίοι παρουσίασαν επίσης υψηλότερα επίπεδα ορού IGF-I. Είναι βέβαιο ότι οι άνθρωποι με υψηλότερα επίπεδα circulating IGF-I διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου (Hankinson, Willett et al. 1998) (Kaaks, Lukanova et al. 2000) (Giovannucci, Pollak et al. 2003) (Pollak, Schernhammer et al. 2004, Guevara-Aguirre, Balasubramanian et al. 2011).

### Συμπερασματικά

Για την κατανόηση της γήρανσης και τη ανάπτυξη παρεμβάσεων για την αύξηση της υγιούς διάρκειας ζωής βοήθησε σε μεγάλο βαθμό η ανάπτυξη γενετικών μεταλλαγμένων στελεχών για τα μονοπάτια Insulin/Insulin-like-Growth Factor Signalling (IIS), target of Rapamycin (TOR) και (silent information regulator 1–7; Sir1-7) sirtuin καθώς και η χρήση φαρμακολογικών παραγόντων που είναι γνωστό ότι δρουν σε αυτές τις οδούς. Ωστόσο, όλες αυτές οι οδοί είναι θεμελιώδεις για τη ρύθμιση της αντιστάθμισης μεταξύ της επιβίωσης και της συντήρησης έναντι της ανάπτυξης, ιδιαίτερα στους σκελετικούς μύες, όπου παρατηρούνται απώλειες στη σωματική μάζα και τη λειτουργία του σκελετικού μυϊκού συστήματος (SkM) σε προχωρημένη ηλικία. Αυτό παρέχει ένα πρότυπο κατά το οποίο υπάρχει πιθανώς μειωμένη αναγεννητική ικανότητα εντός του

σκελετικού μυϊκού ιστού με την ηλικία σε μια προσπάθεια να προωθηθεί η μακροζωία του οργανισμού και η επιβίωση εντός του ιστού. Η βελτιστοποίηση του διατροφικού περιορισμού/διατροφής ή η χρήση μιμητικών διατροφών σε συνδυασμό με τη χορήγηση αμινοξέων μπορεί να είναι κρίσιμες παρεμβάσεις για να βοηθήσουν στην μείωση της ηλικιοσχετιζόμενης σκελετικής μυϊκής απώλειας επιτρέποντας ταυτόχρονα την υγιή γήρανση.

## 2. Γήρανση στον νηματώδη *Caenorhabditis elegans*

Η μεταβολή του ρυθμού γήρανσης μεταξύ των μεμονωμένων σκουληκιών παρατηρήθηκε στο *C. elegans* (Bolanowski, Russell et al. 1981) (Herndon, Schmeissner et al. 2002) (Johnson 1987). Οι Herndon et al. (2002) παρατήρησαν ότι η απώλεια της υγιούς κινητικής κατάστασης (κατηγορία A) εμφανίζεται σε διαφορετικές ηλικίες, ακόμη και για τα άτομα που προέρχονται από ένα ισογονικό και ηλικιακά συγχρονισμένο πληθυσμό. Να σημειωθεί ότι όλα τα άτομα μοιράζονταν κοινό περιβάλλον από τη ημέρα γέννησής τους. Η ετερογένεια που παρατηρείται στην κινητική έκπτωση σε ένα τέτοιο πληθυσμό αποδεικνύει ότι η γήρανση οφείλεται σε τυχαίες βλάβες ή αποτυχίες (Herndon, Schmeissner et al. 2002). Αυτά είναι στοχαστικά στοιχεία της διαδικασίας της γήρανσης, τα οποία, εκτός από τη γενετική και το περιβάλλον, συμβάλλουν στη γήρανση. Οι Churgin et al. (2017) επίσης παρατήρησαν τη διακύμανση στην κινητική έκπτωση μεταξύ στελεχών άγριου τύπου *C.elegans*. Η ομάδα τους έδειξε ότι τα μακρόβια σκουληκία άγριου τύπου μοιράζονται το ίδιο μοτίβο κινητικής έκπτωσης με μακρόβια μεταλλαγμένα στελέχη (Churgin, Jung et al. 2017). Η παρατήρηση αυτή επαναλήφθηκε και για ζώα που έχουν μικρό προσδόκιμο ζωής. Οι Churgin et al. ,2017 κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι στοχαστικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής επηρεάζουν επίσης και τη διάρκεια υγιούς ζωής (health span).

Η ηλικία έναρξης και η πρόοδος της κινητικής έκπτωσης κυμαινόταν ευρέως μεταξύ μεμονωμένων ατόμων σε έναν πληθυσμό. Τα μακρόβια άτομα σε ένα στέλεχος τείνουν να έχουν καλύτερη φυσική κατάσταση για περισσότερες ημέρες (κατηγορία A). Όταν ένα άτομο παρουσιάζει κάποια κινητική έκπτωση περνάει από την κατηγορία A στην

κατηγορία Β (εκτός από σπάνιες περιπτώσεις όπου παρατηρήθηκε απότομη πτώση στην κατηγορία Γ. Η κατηγορία Γ παρατηρήθηκε λίγο πριν από το θάνατο, καθιστώντας την ως δείκτη αδυναμίας.

Ένα χαρακτηριστικό της έκπτωσης των νηματωδών κινήσεων που παρατηρείται σε αυτή τη μελέτη ήταν η αναστροφή της κλάσης (κλάση Β προς Α, ή Γ έως Β). Αν και σπάνια, παρατηρήθηκαν αναστροφές τάξης σε όλα τα μεταλλαγμένα στελέχη IIS όσο και σε άγριου τύπου άτομα, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αναστροφή τάξης δεν είναι ειδική για το στέλεχος αλλά αποτελεί χαρακτηριστικό της γήρανσης των νηματωδών. Οι αναστροφές των τάξεων δείχνουν ότι ορισμένα άτομα είναι σε θέση να επανακτήσουν την κινητική τους ικανότητα, αλλά μόνο για λίγο.

Μια σειρά από γεγονότα συμβαίνουν στους κινητικούς νευρώνες και στο μυϊκό σύστημα κατά τη διάρκεια της γήρανσης στο *C.elegance*. Μια σημαντική ανακάλυψη ήρθε όταν οι Liu et al.,2013 ανέλυσαν τη λειτουργία των χολινεργικών και GABAεργικών κινητικών συνάψεων με την άμεση καταγραφή των μετασυναπτικών μυϊκών δυναμικών τους (Cai and Sesti 2009). Το μετασυναπτικό ρεύμα (PSC) οφείλεται τόσο στον προσυναπτικό νευρώνα (απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών) όσο και στον μυ (πυκνότητα και λειτουργία των υποδοχέων των νευροδιαβιβαστών). Η συχνότητα των αυθόρμητων mPSCς είναι μια ακριβής ένδειξη για την ποιότητα λειτουργίας της προσυναπτικής απελευθέρωσης. Οι Liu et al.,2013 έδειξαν ότι οι κινητικοί νευρώνες υπόκεινται σε προοδευτική μείωση της λειτουργίας τους σχεδόν από την αρχή της ζωής τους (7<sup>η</sup> ημέρα) η οποία περιλαμβάνει αρχική δυσλειτουργία στη σύντηξη των συναπτικών κυστιδίων. Σε μεταγενέστερες ηλικίες το έλλειμα αυτό μεγεθύνεται και ακολουθείται από ελλείματα όσον αφορά στο μέγεθος του κβαντισμού (δηλαδή ο αριθμός των μορίων νευροδιαβιβαστή ανά κυστίδιο). Ο επιπρόσθετος ηλεκτροφυσιολογικός χαρακτηρισμός οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι κινητικοί νευρώνες σε άτομα μέσης ηλικίας ανέπτυξαν για πρώτη φορά έκπτωση στη σύντηξη των συναπτικών κυστιδίων, στα επίπεδα του νευροδιαβιβαστή και στη προετοιμασία (priming) και προσκόλληση (docking) των συναπτικών κυστιδίων στις προσυναπτικές μεμβράνες των νευρομυϊκών συνάψεων (Liu, Zhang et al. 2013).

Οι μύες του σώματος επίσης αρχίζουν να εκφυλίζονται λειτουργικά με την έναρξη της έκπτωσης στην ταχύτητα κίνησης δηλαδή της περιόδου Β. Οι ίδιοι οι συγγραφείς (Liu et al.,2013) προτείνουν ότι η προοδευτική έκπτωση της κινητικής δραστηριότητας μπορεί κατά κύριο λόγο να οφείλεται σε προοδευτική λειτουργική έκπτωση του κινητικού νευρικού συστήματος από τη νεαρή ηλικία. Στο συμπέρασμα αυτό κατέληξαν λαμβάνοντας υπόψιν τους τα παρακάτω δεδομένα. Πρώτον, οι κινητικοί νευρώνες παρουσιάζουν μια προοδευτική μείωση της λειτουργίας τους από την αρχή της ζωής. Η καμπύλη έκπτωσης της λειτουργίας των κινητικών νευρώνων είναι παράλληλη με αυτή της έκπτωσης της κινητικής δραστηριότητας του ζώου. Δεύτερον στη νεαρή ηλικία, δεν παρατηρήθηκε μείωση στη λειτουργία των υποδοχέων της ακετυλοχολίνης και του GABA στη μετασυναπτική μεμβράνη της νευρομυϊκής σύναψης, και επίσης στη συστολή των μυών. Αντίθετα μάλιστα, φαίνεται ότι υπάρχει μια ανωφερής ρύθμιση (upregulation) της λειτουργίας των υποδοχέων ως αντανακλαστική, αντισταθμιστική απόκριση της έκπτωσης της συναπτικής λειτουργίας από τους κινητικούς νευρώνες. Τρίτον, οι μεταλλάξεις σε *daf-2* που αυξάνουν τη διάρκεια της ζωής μειώνουν τον ρυθμό έκπτωσης της κινητικής δραστηριότητας (Kenyon, Chang et al. 1993)(RRR) και το ρυθμό της λειτουργικής έκπτωσης στους κινητικούς νευρώνες, γεγονός που δείχνει ότι η έκπτωση στη συναπτική λειτουργία των κινητικών νευρώνων είναι ηλικιοεξαρτώμενη. Η ηλικιοεξαρτώμενη αλλοίωση της μορφολογίας των νευρώνων υποδεικνύει ότι η νευρωνική δυσλειτουργία συμβάλλει στην κινητική έκπτωση του γερασμένου *C. elegans*. Οι Cai και Sesti είχαν δείξει ότι η ηλικιοεξαρτώμενη οξειδωτική βλάβη του καναλιού καλίου KVS-1 ήταν υπεύθυνη για την έκπτωση της χημειοτακτικής συμπεριφοράς των γερασμένων σκουληκιών και η έκφραση ενός αλληλόμορφου του γονιδίου KVS-1, το οποίο ήταν ανθεκτικό στην οξειδωτική βλάβη, στους χημειοευαίσθητους νευρώνες παρείχε ανθεκτικότητα σε ηλικιοεξαρτώμενες χημειοτακτικές βλάβες (Cai and Sesti 2009). Η παραπάνω μορφολογική παρατήρηση δεν συνοδεύτηκε από ηλεκτροφυσιολογικά δεδομένα της λειτουργίας των νευρώνων, λόγω της τεχνικής δυσκολίας για την καταγραφή της ηλεκτρικής δραστηριότητας από τους σχετικά μικρούς νευρώνες του *C.elegans*. Τέλος, μια φαρμακολογική διέγερση ενός γερασμένου νευρικού συστήματος μπορεί να ενισχύσει τη κινητική δραστηριότητα σε ηλικιωμένα άτομα.

### 3. Ηλικιοσχετιζόμενη κινητική δυσλειτουργία στη *Drosophila*

Οι μύγες εμφανίζουν διάφορες μορφές κινητικής συμπεριφοράς, όπως η βάδιση και η αναρρίχηση λόγω αρνητικού γεωτακτισμού, της πτήσης και της αυθόρμητης βάδισης. Κάθε μία από αυτές τις μορφές κινητικής συμπεριφοράς μπορεί να αξιολογηθεί στο εργαστήριο. Ο αρνητικός γεωτακτισμός ως δείκτη κινητικής συμπεριφοράς έχει χρησιμοποιηθεί συχνότερα σε μηχανιστικές μελέτες.

Ο αρνητικός γεωτακτισμός είναι η αναγκαστική αναρρίχηση. Σε μελέτες αρνητικού γεωτακτισμού, οι μύγες (Arking and Wells 1990) ή ομάδες από μύγες (Gargano, Martin et al. 2005) τοποθετούνται σε έναν κύλινδρο, όπου παραμένουν για κάποια περίοδο (εγκλιματισμός) και έπειτα πρόσκρουση του πυθμένα του κυλίνδρου πάνω στον πάγκο εργασίας προκαλεί απόκριση διαφυγής (αναρρίχηση στα τοιχώματα του κυλίνδρου). Ενώ οι νεαρές μύγες παρουσιάζουν έντονο αρνητικό γεωτακτισμό, καθώς μεγαλώνουν γίνονται προοδευτικά χειρότερες σε αυτή τη συμπεριφορά (Arking and Wells 1990) (Gargano, Martin et al. 2005).

Η αρνητική γεωτακτική συμπεριφορά κατά κανόνα ποσοτικοποιείται συνήθως με έναν από τους τρεις τρόπους. Στις μελέτες με τη μέθοδο της γρήγορης επαναληπτικής αρνητικής γεωτακτικής ανάλυσης (RING) μετράμε την απόσταση αναρρίχησης από τις μύγες κατά τη διάρκεια καθορισμένου χρόνου (συνήθως 4 δευτερόλεπτα) (Gargano, Martin et al. 2005) . Άλλα πρωτόκολλα μετρούν το ποσοστό των μυγών που πληρούν ένα κριτήριο απόδοσης (το ποσοστό των μυγών που ανεβαίνουν σε καθορισμένο ύψος κατά τη διάρκεια μιας δοκιμασίας καθορισμένου χρόνου) (David and Thomas 1983) ή ο χρόνος που απαιτείται για να ανέβει σε καθορισμένο ύψος (Arking and Wells 1990). Παρά τις διαφορές στις πειραματικές λεπτομέρειες, όλες αυτές οι προσεγγίσεις δείχνουν ότι η αρνητική γεωτακτική ικανότητα εξασθενεί σταδιακά με την ηλικία.

Υπάρχει εκτενής βιβλιογραφία σχετικά με τη ρύθμιση της διάρκειας ζωής στην *Drosophila* και, όπως συνοψίζεται στα προηγούμενα κεφάλαια, υπάρχει επίσης μια αναδυόμενη βιβλιογραφία σχετικά με τη ρύθμιση των κινητικών δυσλειτουργιών που σχετίζονται με την ηλικία (ARLI) σε μύγες. Είναι ενδιαφέρον ότι αρκετές μελέτες υποδεικνύουν ότι ενδέχεται να υπάρχουν μηχανιστικές συνδέσεις μεταξύ του ARLI και



της διάρκειας ζωής. Στις περισσότερες μελέτες που αξιολόγησαν την κινητική λειτουργία σε όλη την έκταση ηλικίας, επιπλέον της μακροζωίας, οι μύγες με παρατεταμένη διάρκεια ζωής παρουσίαζαν καθυστέρηση την ARLI. Αυτό περιλαμβάνει μελέτες με μακρόβιες μύγες, μύγες που υπερεκφράζουν HSP22, PCMT και MSRA και μύγες με μεταλλάξεις στα γονίδια *myospheroid*, *chico*, *Indy*, *ecdysone*, *OR83b*, *Dp110*, *PDK1* και *Akt*. Επιπλέον, ηλικιωμένες μύγες σε υψηλή θερμοκρασία μειώνουν τη διάρκεια ζωής και επιταχύνουν την εμφάνιση κινητικών δυσλειτουργιών, ενώ σε χαμηλή θερμοκρασία παρουσιάζουν τις αντίθετες αλλαγές. Επιπλέον, η θεραπεία με PBA επεκτείνει επίσης τη διάρκεια ζωής και καθυστερεί την ARLI. Φαίνεται ότι οι περισσότεροι χειρισμοί που επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής καθυστερούν επίσης την ηλικιοσχετιζόμενη κινητική δυσλειτουργία στη *Drosophila*.

Υπάρχουν, ωστόσο, δύο αξιοσημείωτες εξαιρέσεις στην υποτιθέμενη σχέση μεταξύ της διάρκειας ζωής και της κινητικής έκπτωσης στις μύγες. Πρώτον, τα μεταλλαγμένα στελέχη *methuselah* έχουν αυξημένη διάρκεια ζωής (Lin, Seroude et al. 1998), αλλά το ARLI εμφανίζεται σε κανονικό ρυθμό σε αυτά τα ζώα (Cook-Wiens and Grotewiel 2002). Δεύτερον, και με μεγαλύτερη έκπληξη, διαπιστώθηκε ότι ενώ ο διατροφικός περιορισμός επεκτείνει τη διάρκεια ζωής σε αρκετά διαφορετικά στελέχη όπως αναμενόταν, ο ΔΠ δεν έχει καμία επίδραση στην ηλικιοσχετιζόμενη κινητική δυσλειτουργία (ARLI) σε αυτά τα ζώα (Poonam, A. et al. 2007). Φαίνεται ξεκάθαρα λοιπόν ότι, οι μεταλλαγμένες μύγες *methuselah* και οι περιορισμένες διατροφικές μύγες είναι μακρόβιες, αλλά έχουν μεγαλύτερη περίοδο κινητικής βλάβης από ό, τι τα ζώα ελέγχου.

Υπάρχουν διάφορες συσχετίσεις από τις μελέτες σχετικά με την ηλικιοσχετιζόμενη κινητική δυσλειτουργία και τη διάρκεια ζωής της μύγας. Πρώτον, το age-related locomotor impairment( ARLI) και η διάρκεια ζωής φαίνεται να ρυθμίζονται από μηχανισμούς που αλληλεπικαλύπτονται, αλλά αυτοί οι μηχανισμοί δεν είναι πανομοιότυποι. Δεύτερον, ενώ το ARLI μπορεί να συμβάλλει στον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής, άλλες λειτουργικές αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία μπορούν επίσης να επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής. Τρίτον, είναι δυνατό να παραταθεί η διάρκεια ζωής χωρίς να επηρεαστούν θετικά όλες οι πτυχές της γήρανσης στις μύγες. Αυτό το τελευταίο σημείο είναι ιδιαίτερα σημαντικό δεδομένου ότι υποδεικνύει ότι η μελέτη αρκετών ειδικών λειτουργιών σε όλη την ηλικία πέραν της διάρκειας ζωής μπορεί να

είναι μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τον εντοπισμό παρεμβάσεων που έχουν πιο παγκόσμιες θετικές επιπτώσεις στη γήρανση.

Μελέτες που χρησιμοποιούν τη *Drosophila* έχουν εντοπίσει αρκετούς μηχανισμούς που σχετίζονται με την κινητική έκπτωση που σχετίζεται με την ηλικία (ARLI) στις μύγες. Το οξειδωτικό στρες είναι ένας δυνητικός μηχανισμός που έχει διερευνηθεί άμεσα ή έμμεσα χρησιμοποιώντας μια ποικιλία προσεγγίσεων. Τα στελέχη μυγών που επιλέγονται για αναπαραγωγή σε μεγαλύτερη ηλικία έχουν αυξημένη αντίσταση σε εξωγενές οξειδωτικό στρες σε συνδυασμό με καθυστερημένη ARLI (Arking and Wells 1990). Επιπλέον, η υπερέκφραση της πρωτεϊνικής καρβοξυλομεθυλοτρανσφεράσης (PCMT) ή της ρεδοκτάσης σουλφοξειδίου μεθειονίνης A (MSRA), δύο ένζυμα που επιδιορθώνουν την οξειδωτική βλάβη σε πρωτεΐνες, ενισχύει αναμφίβολα δύο απλές μορφές κινητικής συμπεριφοράς στην *Drosophila* (Chavous, Jackson et al. 2001) (Ruan, Tang et al. 2002). Οι μύγες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με τον 4-φαινυλοβουτυρικό αναστολέα αποακετυλάσης ιστόνης (PBA) είναι ανθεκτικές στο οξειδωτικό στρες και εμφανίζουν καθυστερημένη γήρανση αρνητικού γεωτακτισμού (Kang, Benzer et al. 2002). Επιπλέον, οι μύγες με μειωμένη έκφραση των κυριότερων αντιοξειδωτικών Sod1 ή Sod2 εμφανίζουν πρόωμη την κινητική έκπτωση ARLI (Martin, Jones et al. 2009, Martin, Jones et al. 2009). Όλες αυτές οι μελέτες συμφωνούν με την υπόθεση ότι το οξειδωτικό στρες ή η βλάβη είναι η κινητήρια δύναμη του ARLI στις μύγες. Είναι ενδιαφέρον ότι η οξειδωτική βλάβη μπορεί επίσης να εμπλέκεται σε ηλικιοσχετιζόμενη κινητική δυσλειτουργία και σε τρωκτικά (Lebovitz, Zhang et al. 1996) (Muller, Song et al. 2006) και ενδεχομένως στον άνθρωπο (Nikolic, Bajek et al. 2005), υποδηλώνοντας ότι οι διατηρούμενοι μηχανισμοί πιθανώς προκαλούν ηλικιοσχετιζόμενες κινητικές δυσλειτουργίες στη *Drosophila* και στα θηλαστικά

Η σύνδεση μεταξύ του οξειδωτικού στρες και της κινητικής έκπτωσης λόγω ηλικίας στις μύγες δεν είναι απόλυτη, ωστόσο μύγες με μετάλλαξη στο γονίδιο *methuselah* έχουν αυξημένη αντοχή σε εξωγενή οξειδωτικό στρες, αλλά η ARLI είναι παραμένει αμείωτη (Cook-Wiens and Grotewiel 2002). Η υπερέκφραση των κυριότερων αντιοξειδωτικών ενζύμων SOD-1 ή SOD2 δεν φαίνεται να έχει θετική επίδραση στην ARLI (Martin, Jones et al. 2009, Martin, Jones et al. 2009) (Grotewiel, Martin et al. 2005) (Jones, Gargano et al. 2009).

#### 4. Οξειδωτικό stress

Τα κύτταρα εξαρτώνται από υγιή και λειτουργικά μιτοχόνδρια για να τροφοδοτήσουν ζωτικές μεταβολικές διεργασίες. Επομένως, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη λήψη αποφάσεων ζωής και θανάτου για το κύτταρο. Συνεπώς η αποτελεσματική λειτουργία των μιτοχονδρίων είναι σημαντική για τη διατήρηση της υγείας στο επίπεδο του οργανισμού. Πράγματι, ένας μεγάλος αριθμός μελετών υποστηρίζει ότι παρουσιάζεται σταδιακή μείωση στη μιτοχονδριακή λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας με την αύξηση της ηλικίας των κυττάρων και των ιστών (Wallace 2005).

Σχεδόν ακριβώς πριν από 40 χρόνια, μια μελέτη που περιγράφει τις αλλαγές της καρδιάς της *Drosophila repleta* που σχετίζονται με την ηλικία (Sohal 1970) ανέφερε ότι τα μιτοχόνδρια σε καρδιές ηλικιωμένων εντόμων παρουσιάζουν δραματικές μεταβολές στη μορφολογία. Έκτοτε, άλλες μελέτες έχουν αναφέρει συγκεκριμένες μεταβολές στην μιτοχονδριακή υπεροχή των ηλικιωμένων εντόμων σε σύγκριση με εκείνη των νεαρών εντόμων. Για παράδειγμα, σε μια μελέτη που εξέτασε τις συνέπειες της γήρανσης στον πτητικό μυ της *Drosophila* (Walker and Benzer 2004), όπου στα μιτοχόνδρια της ηλικιωμένης μύγας τα cristae (εγκολπώσεις) μετασχηματίζονται τοπικά σε ένα μοτίβο που μοιάζει με "στροβιλισμό". Η έκθεση σε δριμύ οξειδωτικό στρες είχε ως αποτέλεσμα την ταχεία και ευρέως διαδεδομένη συσσώρευση της ίδιας παθολογίας ακόμη και σε νεαρές μύγες. Οι cristae που εμπλέκονται σε ένα στροβιλισμό αποδείχθηκε ότι είναι ανεπαρκείς στη δραστικότητα του αναστολέα της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (COX) μέσα σε ένα κατά τα άλλα COX-θετικό μιτοχόνδριο. Επιπλέον, η παρουσία των "στροβιλισμών" σχετίζεται με μια μεταβολή της διαμόρφωσης στο κυτόχρωμα c και τον εκτεταμένο αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο στον μυϊκό ιστό του πτητικού συστήματος.

Η ιδέα ότι οι μεταβολές των μιτοχονδριακών λειτουργιών παίζουν βασικό ρόλο στην έκπτωση της φυσιολογικής των ζώων κατά τη διαδικασία γήρανσης δεν είναι καινούργια (Harman 1972). Ωστόσο, παρά τις δεκαετίες έρευνας, η σχέση μεταξύ της μείωσης της λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC) και της γήρανσης παραμένει κάπως αμφιλεγόμενη. Η μελέτη της λειτουργίας της ETC στη γήρανση της *Drosophila* που ενσωμάτωσε τη δράση της συνθάσης κιτρικού ως μέτρο της μιτοχονδριακής

καθαρότητας και απόδοσης έδειξε επιλεκτική μείωση σε ορισμένες πτυχές της αναπνοής και της μεταφοράς ηλεκτρονίων (Ferguson, Mockett et al. 2005). Συγκεκριμένα, οι συγγραφείς παρατήρησαν μια σημαντική μείωση της δραστηριότητας COX (σύμπλεγμα IV) που σχετίζεται με την ηλικία, αλλά όχι τις άλλες εξεταζόμενες μιτοχονδριακές οξειδοαναγωγάσες. Επιπλέον, η φαρμακολογική απενεργοποίηση του συμπλέγματος IV στα μιτοχόνδρια που απομονώθηκαν από νεαρές μύγες οδήγησε σε αυξημένη παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS). Αυτές οι παρατηρήσεις έχουν οδηγήσει στην έννοια του «φαύλου κύκλου», όπου μια αρχική βλάβη των μιτοχονδρίων που προκαλείται από τα ROS οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών προϊόντων που με τη σειρά της οδηγεί σε περαιτέρω μιτοχονδριακές βλάβες. Μια άλλη πιθανή εξήγηση είναι η πτώση της έκφρασης των γονιδίων που είναι σημαντικά για τη δραστηριότητα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων ETC (McCarroll, Murphy et al. 2004).

Η κεντρική ιδέα της θεωρίας του οξειδωτικού στρες της γήρανσης είναι η συσσώρευση των μοριακών βλαβών που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) που συμβάλλουν στη λειτουργική έκπτωση και την αύξηση της θνησιμότητας που παρατηρείται σε μεγάλη ηλικία (Harman 1956). Τα μιτοχόνδρια είναι η πρωταρχική πηγή κυτταρικών ROS και ως εκ τούτου παίζουν κεντρικό ρόλο στη θεωρία του οξειδωτικού στρες κατά τη γήρανση. Μελέτες σε άλλα είδη, όπως το *C. elegans* και τα ποντίκια, αμφισβήτησαν τη σημασία των ROS για τον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής (Gems and Doonan 2009). Ωστόσο, στην *Drosophila*, υπήρξαν αρκετές μελέτες που υποστηρίζουν ένα σημαντικό ρόλο για τα μιτοχονδριακά ROS στη διάρκεια ζωής.

Ένας άμεσος τρόπος για να ελεγχθεί η μιτοχονδριακή θεωρία του οξειδωτικού στρες της γήρανσης είναι να κατασκευαστούν διαγονιδιακές μύγες με αυξημένη οξειδωτική άμυνα. Η υπερέκφραση της μιτοχονδριακής δισμουτάσης του υπεροξειδίου του μαγγανίου (manganese superoxide dismutase (*MnSOD*) σε διαγονιδιακές μύγες είχε ως αποτέλεσμα την επέκταση της διάρκειας ζωής (Sun, Folk et al. 2002). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν με το Cu / Zn-SOD (Sun and Tower 1999). Μείωση του οξειδωτικού στρες θα μπορούσε να επιτευχθεί με τη μείωση του ρυθμού παραγωγής ROS εντός του μιτοχονδρίου. Για το σκοπό αυτό, οι ερευνητές εξέφρασαν uncoupling

proteins σε διαφορετικούς ιστούς γερασμένων μυγών και εξέτασαν τις συνέπειες στη μακροζωία. Σε μια μελέτη, η έκφραση της human uncoupling protein 2 (hUCP2) σε ενήλικους νευρώνες οδηγεί σε μείωση της παραγωγής ROS και επέκταση της διάρκειας ζωής (Fridell, Sanchez-Blanco et al. 2005).

Οι μελέτες που περιγράφονται παραπάνω αποδεικνύουν ότι η μείωση των μιτοχονδριακών ROS μπορεί να παρατείνει τη διάρκεια ζωής της *Drosophila*. Ωστόσο, η ερμηνεία αυτών των ευρημάτων πρέπει να γίνεται με προσοχή. Προς το παρόν, δεν είναι ξεκάθαρο ότι αυτές οι μελέτες υποστηρίζουν τη θεωρία της οξειδωτικής βλάβης της γήρανσης ή μια μείωση στην προκαλούμενη από ROS μακρομοριακή βλάβη και μια επακόλουθη αύξηση της μακροβιότητας. Μια άλλη πιθανότητα είναι ότι η μείωση των μιτοχονδριακών ROS μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην κυτταρική σηματοδότηση και / ή γονιδιακή έκφραση και ότι αυτές οι αλλαγές προωθούν τη μακροζωία ανεξάρτητα από οποιεσδήποτε επιδράσεις της μακροσκοπικής βλάβης που προκαλείται από ROS.

Αν και θα είναι δύσκολο να διαχωριστούν αυτοί οι μη-αλληλοαποκλειόμενοι μηχανισμοί επέκτασης της ζωής, η μεταγραφική διαμόρφωση των μακρόβιων μυγών που εκφράζουν MnSOD έχει δώσει κάποια κατεύθυνση (Curtis, Landis et al. 2007). Αξιοσημείωτα, διαπιστώθηκε ότι το πρότυπο γονιδιακής έκφρασης που προκαλείται από την υπερέκφραση του MnSOD ήταν παρόμοιο με αυτό που παρατηρήθηκε σε μακρόβια στελέχη *C. Elegans* μεταλλαγμένα για τη σηματοδοτική οδό της ινσουλίνης (*Caenorhabditis elegans* insulin-like signalling mutants). Επί του παρόντος, ωστόσο δεν είναι γνωστό το κατά πόσον αυτές οι μεταβολές στην έκφραση γονιδίου είναι μία αιτία ή συνέπεια της επέκτασης ζωής με τη μεσολάβηση MnSOD.

#### 4.1 Η σχέση δίαιτας, δραστηριότητας της αναπνευστικής αλυσίδας και μακροζωίας.

Ο διατροφικός περιορισμός (DR), δηλαδή η μείωση ~ 60% στην κατανάλωση της τροφής κατά βούληση, μπορεί να αυξήσει τη διάρκεια ζωής σε ένα ευρύ φάσμα ειδών. Πρόσφατες μελέτες, σε ζυμομύκητες, σκουλήκια και ποντίκια, έχουν δείξει ότι μεταβολές στη λειτουργία της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC) μπορεί να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη διαμεσολάβηση των επιδράσεων του διατροφικού περιορισμού (DR) στη μακροζωία (Guarente 2008). Τον τελευταίο χρόνο, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι

οι αλλοιώσεις στη δραστηριότητα της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη μακροζωία που οφείλεται σε διατροφικό περιορισμό στην *Drosophila*.

Για την καλύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών της μεσολαβούμενης από τη διατροφή μακροζωίας στη μύγα, οι μεταβολές σε όλη την έκφραση του mRNA στο γονιδίωμα προσδιορίστηκαν μετά από διατροφικό περιορισμό (Zid, Rogers et al. 2009). Σε συνθήκες διατροφικού περιορισμού η μετάφραση των πρωτεϊνών της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (σύμπλοκα I και IV) και μιτοχονδριακών ριβοσωμικών πρωτεϊνών ενισχύθηκε, υποδηλώνοντας μια συνολική αύξηση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών. Επιπλέον, οι μύγες κάτω από διατροφικό περιορισμό παρουσίασαν αύξηση της δραστηριότητας του συμπλόκου I όσο και του συμπλόκου IV. Συνεπώς, η RNAi-μεσολαβούμενη σιώπηση των δύο υπομονάδων συμπλόκου I ή IV μείωσε την διάρκεια ζωής που επετεύχθη με τον διατροφικό περιορισμό. Η μερική δυσλειτουργία του συμπλόκου V με τη βοήθεια γενετικών και φαρμακολογικών χειρισμών αποκλειστικά στο στάδιο του ενήλικα, απέδειξε ότι απαιτείται πλήρης δραστηριότητα του συμπλόκου V για την επίτευξη μακροβιότητας μέσω διατροφικού περιορισμού. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι υποέκφραση του συμπλόκου V μέσω RNAi κατά τη διάρκεια τόσο της ανάπτυξης όσο και της ενήλικης ζωής οδηγεί σε αύξηση της διάρκειας ζωής υπό συνθήκες πλούσιας δίαιτας αλλά όχι υπό συνθήκες διατροφικού περιορισμού (Copeland, Cho et al. 2009, Bahadorani, Hur et al. 2010).

Πώς ερμηνεύονται αυτά τα ευρήματα; Εάν ο διατροφικός περιορισμός (ΔΠ) οδηγεί σε αύξηση δραστηριότητας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC) τότε θα ήταν λογικό ότι η γενετική ή/και φαρμακολογική βλάβη της ETC θα μείωνε τη μακροζωία με τη μεσολάβηση του ΔΠ. Τέτοιες μελέτες έδειξαν ότι οι μύγες με μειωμένη κυτταρική αναπνοή δεν ανταποκρίνονται κανονικά στο ΔΠ (Bahadorani, Hur et al. 2010) (Zid, Rogers et al. 2009). Από την άλλη πλευρά, πώς η καταστροφή των γονιδίων της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων έχει ως αποτέλεσμα την επέκταση της ζωής υπό κανονικές συνθήκες διατροφής; Με άλλα λόγια, γιατί οι μύγες με μειωμένη δραστηριότητα της αναπνευστικής αλυσίδας ζουν περισσότερο από εκείνες με ανέπαφη (άθικτη) αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων;

Οι μακρόβιες μύγες με μειωμένη έκφραση των γονιδίων ETC δεν εμφανίζουν σταθερά μειωμένη φυσιολογική σφριγηλότητα ή ακόμη και μειωμένα επίπεδα ATP (Copeland, Cho et al. 2009). Επομένως, φαίνεται απίθανο ότι η αυξημένη μακροζωία προκύπτει από μειωμένο μεταβολικό ρυθμό. Ομοίως, στο *C. elegans*, αυτός ο τρόπος επέκτασης ζωής δεν φαίνεται να προκύπτει από ένα βραδύτερο «ρυθμό διαβίωσης». Αντ' αυτού, τα μακρόβια *C. elegans* με μεταλλάξεις στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων ETC (π.χ. *clk-1*) εμφανίζουν μεταβολές στην γονιδιακή έκφραση που θυμίζουν την "οπισθοδρομική απόκριση" στην κυτταρική καλλιέργεια ζυμομυκήτων και θηλαστικών (Cristina, Cary et al. 2009). Αυτή η συντηρημένη και προφανώς προσαρμοστική απόκριση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ρύθμισης των γονιδίων που προστατεύουν το ζώο. Επί του παρόντος, δεν είναι γνωστό κατά πόσον η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στη μύγα οδηγεί σε παρόμοιες μεταβολές στην έκφραση γονιδίων ή/και εάν αυτές οι αλλαγές είναι σημαντικές στην επέκταση της ζωής μέσω των γονιδίων αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων ETC.

Το γονίδιο Indy αντιπροσωπεύει μια άλλη πιθανή σχέση μεταξύ του διατροφικού περιορισμού, των μιτοχονδρίων και του προσδιορισμού της διάρκειας ζωής. Η πρωτεΐνη INDY είναι ένας διαμεμβρανικός μεταφορέας των ενδιάμεσων κύκλων του Krebs και βρίσκεται κυρίως στη μεμβράνη του πλάσματος των κυττάρων στο λιπαρό σώμα και στα ωκύτταρα - όλοι οι ιστοί που είναι σημαντικοί για την πρόσληψη, αξιοποίηση και αποθήκευση θρεπτικών ουσιών και οι κύριες θέσεις του ενδιάμεσου μεταβολισμού στη μύγα (Inoue, Fei et al. 2002) (Knauf, Rogina et al. 2002). Σχεδόν μια δεκαετία πριν, αναφέρθηκε ότι οι μύγες που φέρουν μεταλλάξεις στο Indy ήταν μακρόβια (Rogina, Reenan et al. 2000). Από τότε, ωστόσο, αμφισβητήθηκε η σημασία της γονιδιακής δραστηριότητας του Indy στη διαμόρφωση της διάρκειας ζωής της *Drosophila* (Toivonen, Walker et al. 2007). Πράγματι, φαίνεται ότι οι μεταλλάξεις στο Indy δεν επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής σε όλα τα γενετικά υπόβαθρα (Toivonen, Walker et al. 2007) (Wang, Neretti et al. 2009). Μια πρόσφατη μελέτη που εξέτασε τη σχέση μεταξύ γονιδίου *indy* και διατροφικού περιορισμού ανέφερε ότι οι χαμηλές συνθήκες διατροφής αναστέλλουν την έκφραση Indy και ότι η μακροζωία που προκαλείται από το Indy εξαρτάται από τις πλούσιες συνθήκες διατροφής (Wang, Neretti et al. 2009). Επειδή διαφορετικά εργαστήρια χρησιμοποιούν διαφορετικές συνταγές τροφίμων, αυτό μπορεί

να εξηγεί τις αποκλίσεις που αναφέρθηκαν από διαφορετικά εργαστήρια σχετικά με το ρόλο του Indy στη ρύθμιση της διάρκειας ζωής.

Υπάρχει ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων που υποδηλώνουν ότι ο διατροφικός περιορισμός σχετίζεται με αύξηση της δραστηριότητας της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας (Guarente 2008). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αυτό φαίνεται να συμβαίνει και στην *Drosophila* (Zid, Rogers et al. 2009). Μερικές μελέτες έχουν αναφέρει ότι απαιτείται φυσιολογική αναπνοή για μακροζωία με τη μεσολάβηση του ΔΠ (Bahadorani, Hur et al. 2010) (Guarente 2008, Zid, Rogers et al. 2009).

#### 4.2 Οξειδωτικό stress και γήρανση. Μιτοχονδριακή λειτουργία στους νευρώνες

Τα μιτοχόνδρια είναι απαραίτητα για τη σωστή λειτουργία και τη βιωσιμότητα των κυττάρων. Επίσης παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή ATP, στον μεταβολισμό δραστικών ειδών οξυγόνου, στη ρύθμιση της δυναμικής του  $Ca^{2+}$  και στην απόπτωση (Mattson, Gleichmann et al. 2008) (Bernardo, Marques-Aleixo et al. 2016). Στους νευρώνες, τα μιτοχόνδρια είναι κρίσιμα για τη διατήρηση των ιοντικών συγκεντρώσεων εκατέρωθεν της μεμβράνης ( $Na^+$  και  $Ca^{2+}$ ), τη νευροδιαβίβαση και τη συναπτική πλαστικότητα (Fontan-Lozano, Lopez-Lluch et al. 2008). Το μεγαλύτερο μέρος του ATP που παράγεται στους νευρώνες παράγεται από τη μιτοχονδριακή μεμβράνη και σχετίζεται με την συνθετάση της ATP η οποία είναι το τελικό ενζυμικό σύμπλοκο στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Οι νευρώνες έχουν περιορισμένη γλυκολυτική ικανότητα. Μόνο περίπου το 10% του ATP παράγεται από τη γλυκόλυση (Rolfe and Brown 1997). Συνεπώς, τα βιοενεργειακά μιτοχόνδρια είναι ζωτικής σημασίας για τις πολλές διαφορετικές διαδικασίες που εξαρτώνται από την ATP, οι οποίες δίνουν τη δυνατότητα στους νευρώνες να λειτουργούν και να ανταποκρίνονται προσαρμοστικά στις περιβαλλοντικές προκλήσεις. (Rolfe and Brown 1997) (Chan 2006) (Hoppins, Lackner et al. 2007) (Knott, Perkins et al. 2008) (Stranahan, Norman et al. 2008) (Marques-Aleixo, Oliveira et al. 2012). Τα νευρωνικά μιτοχόνδρια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στο οξειδωτικό στρες επειδή η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων τους είναι πολύ δραστική και ως εκ τούτου παράγουν σε μεγάλες ποσότητες ελεύθερες ρίζες ανιόντων υπεροξειδίου (Mattson, Gleichmann et al. 2008). Το μιτοχονδριακό



αντιοξειδωτικό ένζυμο του υπεροξειδίου της δισμουτάσης 2 (SOD2), και πρωτεΐνες όπως η sirtuin 3 (SIRT3) που αυξάνουν τη δραστηριότητα SOD2, είναι πολύ σημαντικές στην απομάκρυνση του υπεροξειδίου (Cheng, Yang et al. 2016). Ένα άλλο χαρακτηριστικό των μιτοχονδρίων είναι ότι περιέχουν υψηλές ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων οι οποίες είναι ιδιαίτερα ευάλωτες στα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) (Monteiro, Oliveira et al. 2013). Όταν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα οξειδώνονται, ένα από τα υποπροϊόντα είναι η αλδεΐδη 4-υδροξυεπενάλη (HNE), η οποία, μέσω της μη ενζυματικής διαδικασίας προσθήκης κατά Michael, μπορεί να τροποποιήσει ομοιοπολικά υπολείμματα πρωτεϊνών : κυστεΐνης, λυσίνης και ιστιδίνης τα οποία μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στη λειτουργία των πρωτεϊνών (Mattson 2009). Ορισμένες από τις πρωτεΐνες που τροποποιούνται από τη HNE(αλδεΐδη 4-υδροξυεπενάλη) είναι πρωτεΐνες μιτοχονδριακής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, μεταφορείς ιόντων και θρεπτικών ουσιών, υποδοχείς αυξητικών παραγόντων και νευροδιαβιβαστών, πρωτεασωμικές πρωτεΐνες και κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες (Mattson 2009) (Poli, Schaur et al. 2008) (Petersen and Doorn 2004). Το μιτοχονδριακό DNA είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στο οξειδωτικό στρες λόγω της μικρής απόστασης από την αναπνευστική αλυσίδα και της απουσίας προστατευτικών ιστονών (Marques-Aleixo, Oliveira et al. 2012). Επειδή το μιτοχονδριακό DNA κωδικοποιεί 13 πρωτεϊνικά δομικά συστατικά της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, η οξειδωτική βλάβη στο DNA μπορεί να επηρεάσει την παραγωγή ATP και να προκαλέσει έναν φαύλο κύκλο στον οποίο το ROS βλάπτει το DNA με αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής ROS (Mattson 2009). Ο αριθμός των μιτοχονδρίων σε ένα κύτταρο και το μέγεθος των μεμονωμένων μιτοχονδρίων είναι μεταβλητό και ρυθμίζεται από τις διαδικασίες μιτοχονδριακής σχάσης και σύντηξης. Η διχοτόμηση παίζει ρόλο στη μιτοχονδριακή βιογένεση και είναι επίσης θεμελιώδης για την εξάλειψη των δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων με μια διαδικασία που ονομάζεται μιτοφαγία (Bernardo, Marques-Aleixo et al. 2016) (Chen and Chan 2009) (Westermann 2010) (Detmer and Chan 2007) (Youle and Narendra 2011) . Οι πρωτεΐνες που μεσολαβούν στην μιτοχονδριακή σχάση περιλαμβάνουν την dynamin-related protein 1 (Drrp 1) και fission1 (Fis1) και οι πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη μιτοχονδριακή σύντηξη περιλαμβάνουν τις μιτοφουσίνες 1 και 2 (Mfn1 / 2) και την οπτική ατροφία τύπου 1 (Opa1) (Burte, Carelli et al. 2015) (Onyango, Dennis et al.

2016). Οι διαδικασίες της σχάσης και της σύντηξη σχετίζονται με την κίνηση των μιτοχονδρίων σε συγκεκριμένες υποκυτταρικές θέσεις, οι οποίες μπορούν επίσης να επηρεάσουν την ικανότητα του κυττάρου να επισκευάσει τα μιτοχονδριακά DNA που έχουν υποστεί βλάβη (Marques-Aleixo, Oliveira et al. 2012). Η διαδικασία της μιτοχονδριακής βιογένεσης δεν περιλαμβάνει μόνο τη σχάση των μιτοχονδρίων, αλλά και την αύξηση του μεγέθους των μιτοχονδρίων πριν και μετά την σχάση. The protein peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α) είναι ένας ρυθμιστής μεταγραφής που προάγει την έκφραση ή τη μεταγραφική ενεργότητα κρίσιμων πρωτεϊνών για τη μιτοχονδριακή βιογένεση, συμπεριλαμβανομένου του παράγοντα μεταγραφής A των μιτοχονδρίων (TFAM) και των πυρηνικών αναπνευστικών παραγόντων 1 και 2 (Scarpulla 2008). PGC-1α μπορεί να προκληθεί από μεταβολικές προκλήσεις όπως άσκηση, από ROS και cyclic AMP response element binding protein (CREB). Η μιτοφαγία είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη διαδικασία με την οποία τα μιτοχόνδρια συνοδεύονται(συνδέονται) με το μονοπάτι αυτοφαγίας που καταλήγει στην καταστροφή των μιτοχονδριακών συστατικών στα λυσοσώματα. Η μιτοφαγία είναι μια συνεχής διαδικασία σε υγιή κύτταρα που αφαιρεί επιλεκτικά κατεστραμμένα ή δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια που θα μπορούσαν να βλάψουν το κύτταρο δημιουργώντας υπερβολικές ποσότητες ROS και με την απελευθέρωση προ-αποπτωτικών σημάτων όπως το κυτόχρωμα C. Η μιτοφαγία μπορεί να διεγερθεί με μέτρια επίπεδα μεταβολικού και οξειδωτικού στρες και με αναστολή της οδού mTOR .Ο περιορισμός της διατροφικής ενέργειας, και η άσκηση είναι γνωστό ότι βελτιώνουν τη λειτουργία του εγκεφάλου και αυξάνουν την αντίσταση των νευρώνων στο οξειδωτικό, μεταβολικό και διεγερτικό στρες. Επίσης αναστέλλουν την οδό mTOR και διεγείρουν τόσο τη μιτοφαγία όσο και τη μιτοχονδριακή βιογένεση (Cheng, Wan et al. 2012) (Hood, Tryon et al. 2016).

Τρεις βιοενεργειακές προκλήσεις που διεγείρουν προσαρμοστικές αποκρίσεις των μιτοχονδρίων σε νευρώνες είναι η άσκηση, ο ενεργειακός περιορισμός/ νηστεία και η δραστηριότητα των νευρωνικών κυκλωμάτων (Σχήμα 2). Αντίθετα, μια τυπική δυτική διατροφή, ιδιαίτερα όταν συνδυάζεται με καθιστική και έλλειψη διανοητικής άσκησης ως τρόπος ζωής, ρυθμίζει αρνητικά (προς τα κάτω) τις ίδιες προσαρμοστικές αποκρίσεις και έτσι μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση δυσλειτουργικών / κατεστραμμένων

μιτοχονδρίων στους νευρώνες (Massaad, Washington et al. 2009) (Stranahan and Mattson 2012). Όταν αρουραίοι ή ποντίκια ασκούνται οικειοθελώς σε έναν τροχό, τα οποία υπόκεινται κατά διαστήματα σε διατροφή νηστείας ή στεγάζονται σε ένα εμπλουτισμένο περιβάλλον παρατηρείται, η δραστηριότητα νευρωνικού δικτύου σε πολλές διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου, συμπεριλαμβανομένων των κυκλωμάτων στο ιππόκαμπο που παίζουν βασικούς ρόλους στη μάθηση και τη μνήμη (Fusco, Ripoli et al. 2012) (Eckert and Abraham 2013) (Malvache, Reichinnek et al. 2016). Οι διεγερτικές συνάψεις που ενεργοποιούνται κάτω από τέτοιες συνθήκες χρησιμοποιούν το γλουταμινικό ως νευροδιαβιβαστή που δεσμεύεται στους υποδοχείς στην μεσουαπτική μεμβράνη με αποτέλεσμα την εκπόλωση της μεμβράνης και την εισροή  $Ca^{2+}$  μέσω του γλουταμικού υποδοχέα (κυρίως υποδοχέας NMDA) και των τασοεξαρτώμενων καναλιών. Το  $Ca^{2+}$  ενεργοποιεί κινάσες όπως  $Ca^{2+}$  / καλμοδουλινο-εξαρτώμενες πρωτεϊνικές κινάσες II και IV και πρωτεϊνική κινάση που ενεργοποιούνται από το μιτογόνο (MAP). Στη συνέχεια οι κινάσες φωσφορυλιώνουν και ενεργοποιούν τους παράγοντες μεταγραφής συπεριλαμβάνοντας της (CREB) cyclic AMP response elementbinding protein (CREB), τον πυρηνικό παράγοντα κάρπα Β (NF-κΒ) και την καταλυτική πρωτεΐνη-1 (AP-1). Οι γονιδιακοί στόχοι αυτών των παραγόντων μεταγραφής περιλαμβάνουν εκείνους που κωδικοποιούν BDNF, τον ινοβλαστικό αυξητικό παράγοντα 2 (FGF2), SOD2 και ένζυμα επιδιόρθωσης DNA (Stranahan and Mattson 2012).

Ο περιορισμός της διατροφικής ενέργειας (DER) λόγω μείωσης της ημερήσιας πρόσληψης θερμίδων ή/και διακεκομμένης νηστείας (IF) κατά την οποία καταναλώνεται ελάχιστη ή καθόλου ενέργεια για παρατεταμένες χρονικές περιόδους 16 ωρών ή περισσότερο κατά διαστήματα (π.χ. δύο ημέρες / εβδομάδα) (Mattson, Allison et al. 2014) μπορεί να αυξήσει τη μέση διάρκεια ζωής των ποντικών, αρουραίων και πιθήκων (Longo and Mattson 2014). Το DER μειώνει το οξειδωτικό στρες σε πολλούς ιστούς και μπορεί να ενισχύσει τη μιτοχονδριακή βιογένεση και την αποτελεσματικότητα των μιτοχονδρίων και να μειώσει την οξειδωτική κυτταρική βλάβη (Sohal, Ku et al. 1994) (Gonzalez-Freire, de Cabo et al. 2014). Το DER έχει επίσης αποδειχθεί ότι ενισχύει την νευρογένεση και τη συναπτική πλαστικότητα και μπορεί να προστατεύσει τους

νευρώνες του εγκεφάλου και να βελτιώσει παθολογικούς φαινοτύπους σε ζωικά μοντέλα εγκεφαλικής αποπληξίας, ασθένειας Parkinson και ασθένειας Alzheimer (Yu, Luo et al. 1999) (Qin, Chachich et al. 2006) (Qin, Yang et al. 2006) (Duan and Mattson 1999) (Halagappa, Guo et al. 2007) (Arumugam, Phillips et al. 2010) (Griffioen, Rothman et al. 2013). Οι κυτταρικοί και μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους το DER μπορεί να βελτιώσει τη λειτουργία του εγκεφάλου και την αντίσταση των νευρώνων σε τραυματισμό και νευροεκφυλιστικές διαταραχές αποκαλύφθηκε στα ποντίκια. Το IF (διακεκομμένη νηστεία) εμπλέκεται σε μονοπάτια σηματοδότησης που οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα διαφόρων διαφορετικών πρωτεϊνών που είναι γνωστό ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη νευροπλαστικότητα ή/και στην αντίσταση σε στρες. Για παράδειγμα, ποντίκια που διατηρήθηκαν σε δίαιτα με διαστήματα ημερήσιας νηστείας για 3 μήνες εμφάνισαν σημαντικές αυξήσεις του BDNF, FGF2, HP 70, glucose-regulated protein 78, and heme oxygenase 1 (Arumugam, Phillips et al. 2010). Κάθε μία από τις παραπάνω πρωτεΐνες έχει αναφερθεί ότι προστατεύει τους νευρώνες από τον εκφυλισμό που οφείλεται στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία (Cheng, Wan et al. 2012) (Yu, Luo et al. 1999) (Guo and Mattson 2000) (Sun, Ren et al. 2015). Ένας άλλος μηχανισμός με τον οποίο το DER μπορεί να προστατεύει τα νευρωνικά μιτοχόνδρια είναι μέσω της ρύθμισης του SIRT3. Οι Qiu et al. (2010) έδειξαν ότι το SIRT3 μειώνει τα επίπεδα ROS σε μη νευρωνικά κύτταρα με αποακετυλίωση και έτσι ενεργοποιεί τη SOD2. Οι Cheng et al. (2016) διαπίστωσαν ότι οι νευρώνες που στερούνται SIRT3 είναι εξαιρετικά ευαίσθητοι στο μεταβολικό, οξειδωτικό και διεγερτικό τοξικό στρες, και οι Amigo et al. (2016) έδειξαν ότι η περιορισμένη θερμιδική πρόσληψη ρυθμίζει το SIRT3 στα μιτοχόνδρια του εγκεφάλου (Cheng, Yang et al. 2016) (Qiu, Brown et al. 2010) (Amigo, Menezes-Filho et al. 2017). Εκτός από τη μείωση του μιτοχονδριακού οξειδωτικού στρες, το SIRT3 μπορεί να προστατεύει τους νευρώνες από την απόπτωση μέσω αποακετυλίωσης και έτσι να αναστείλει την κυκλοφιλίνη D, μια πρωτεΐνη που μεσολαβεί στο άνοιγμα των πόρων διαπερατότητας της μεμβράνης των μιτοχονδρίων που προκαλούν απόπτωση (Cheng, Yang et al. 2016). Οι περιφερικές μεταβολικές προσαρμογές σε απόκριση στη νηστεία μπορεί να έχουν ωφέλιμες επιδράσεις στον εγκεφαλο. Μία σημαντική μεταβολική συνέπεια της νηστείας είναι η αλλαγή της πηγής καυσίμου από το γλυκογόνο του ήπατος σε λιπαρά οξέα (από λιπώδη ιστούς) τα οποία

μεταβολίζονται στα 3-υδροξυβουτυρικά (3OHB) και ακετοξικό. Ως αποτέλεσμα, τα επίπεδα της κυκλοφορούμενης γλυκόζης διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα και τα επίπεδα κετόνης είναι αυξημένα. Το 3OHB μεταφέρεται στον εγκέφαλο και σε νευρώνες όπου μεταβολίζεται σε ακετυλο συνένζυμο Α το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ATP στον κύκλο τρικαρβοξυλικού οξέος. Όταν η παροχή γλυκόζης είναι περιορισμένη, τα λίπη μετατρέπονται σε κετόνες οι οποίες καθίστανται η κύρια πηγή ενέργειας για τα εγκεφαλικά κύτταρα (Cunnane, Nugent et al. 2011) (Seyfried and Mukherjee 2005). Τα μιτοχόνδρια που απομονώθηκαν από τον εγκεφαλικό ιστό ζώων που τράφηκαν με μια κετογόνο διατροφή παρουσίασαν μειωμένη παραγωγή ROS (Sullivan, Rippey et al. 2004). Παρομοίως, η άμεση έκθεση *in vitro* φλοιωδών νευρώνων αρουραίου σε 3OHB οδήγησε σε μειωμένη παραγωγή ROS από το σύμπλοκο I της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας (Maalouf, Sullivan et al. 2007). Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η μεταβολική μετατόπιση προς κετογένεση τροφοδοτεί τις ενεργειακές απαιτήσεις του εγκεφάλου και μπορεί επίσης να μειώσει την ποσότητα οξειδωτικού στρες των νευρώνων. Είναι ενδιαφέρον ότι το 3OHB μπορεί επίσης να επηρεάσει τις οδούς σηματοδότησης που εμπλέκονται στην πλαστικότητα των νευρώνων και στην αντοχή στο κυτταρικό στρες. Η ικανότητα του 3OHB να περιορίζει τη νευρωνική διεγερσιμότητα μέσω της αύξησης της GABAνεργικής επίδρασης, επιδρά προστατευτικά στην επιληψία (Maalouf, Rho et al. 2009) (Yudkoff, Daikhin et al. 2007). Επιπροσθέτως, το 3OHB μπορεί να επάγει την έκφραση του BDNF σε νευρώνες μέσω ενός μηχανισμού που περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του παράγοντα μεταγραφής NF-κΒ (Marosi, Kim et al. 2016). Επιπλέον, οι νευρώνες που υποβάλλονται σε θεραπεία με κετόνες εμφανίζουν αυξημένη δραστηριότητα SIRT1, η οποία μπορεί να οφείλεται σε αυξημένα επίπεδα NAD<sup>+</sup> (ένας συνπαράγοντας για τη ενεργοποίηση του SIRT1) και στη ενεργοποίηση της αυτοφαγίας (McCarty, DiNicolantonio et al. 2015).

## 5. ΚΟΥΡΚΟΥΜΑΣ

Ο κουρκουμάς ή κουρκούμη ή τουρμερικό (Turmeric, Safran) είναι ένα μπαχαρικό που έχει λάβει μεγάλο ενδιαφέρον τόσο από τον ιατρικό / επιστημονικό κόσμο όσο και από τον γαστρονομικό κόσμο. Το κουρκούμη παράγεται από τους κονδύλους του ριζώματος του τροπικού ποώδους, πολυετούς φυτού Κουρκούμη η μακρά [*Curcuma longa*], της οικογενείας των Σκιταμινωδών (Zingiberaceae-τζίντζερ (Priyadarsini 2014). Το ρίζωμα του κουρκουμά έχει ένα έντονα λαμπρό πορτοκαλοκίτρινο χρώμα, το οποίο οφείλεται κυρίως σε λιποδιαλυτές πολυφαινολικές χρωστικές που ονομάζονται κουρκουμινοειδή. Το κύριο κουρκουμινοειδές του κουρκουμά είναι η κουρκουμίνη. Εκτός από τα κουρκουμινοειδή ο κουρκουμάς περιέχει τουρμερίνη [turmerin] και τουρμερικές ελαιορρητίνες.

Οι θεραπευτικές ιδιότητες του κουρκούμη, πηγή κουρκουμίνης, είναι γνωστές εδώ και χιλιάδες χρόνια. Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός δράσης και ο προσδιορισμός των βιοδραστικών συστατικών μόλις πρόσφατα ερευνήθηκε (Gupta, Patchva et al. 2013). Η κουρκουμίνη (1,7-δισ (4-υδροξυ-3-μεθοξυφαινυλο) -1,6-επταδιενο-3,5-διόνη) είναι η κύρια φυσική πολυφαινόλη που βρίσκεται στο ρίζωμα *Curcuma longa* σε άλλα είδη *Curcuma* (Aggarwal, Kumar et al. 2003). Το *Curcuma longa* έχει παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί στις ασιατικές χώρες ως ιατρικό βότανο λόγω των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, αντιμυκητιασικών, αντιμικροβιακών (Mahady, Pendland et al. 2002) (Reddy, Vatsala et al. 2005) και αντικαρκινικών ιδιοτήτων (Vera-Ramirez, Perez-Lopez et al. 2013) (Wright, Frye et al. 2013).

Η κουρκουμίνη, μία πολυφαινόλη, έχει αποδειχθεί ότι στοχεύει πολλαπλά μόρια σηματοδότησης ενώ ταυτόχρονα επιδεικνύει δραστηριότητα σε κυτταρικό επίπεδο, γεγονός που βοήθησε να υποστηριχθούν τα πολλαπλά οφέλη για την υγεία της (Gupta, Patchva et al. 2013). Έχει αποδειχθεί ότι ωφελεί τις φλεγμονώδεις καταστάσεις (Aggarwal and Harikumar 2009), το μεταβολικό σύνδρομο (Panahi, Hosseini et al. 2016), τον πόνο (Kuptniratsaikul, Dajratham et al. 2014) και βοηθά στη διαχείριση φλεγμονωδών και εκφυλιστικών οφθαλμικών καταστάσεων (Mazzolani and Togni 2013) (Allegri, Mastromarino et al. 2010). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι ωφελεί τα νεφρά (Trujillo, Chirino et al. 2013). Παρόλο που φαίνεται ότι υπάρχουν αμέτρητα θεραπευτικά οφέλη στα συμπληρώματα της κουρκουμίνης, τα περισσότερα από αυτά τα οφέλη

οφείλονται στις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις της (Gupta, Patchva et al. 2013) (Aggarwal and Harikumar 2009). Παρά τα αναφερθέντα οφέλη μέσω φλεγμονωδών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών, ένα από τα κύρια προβλήματα με την κατανάλωση κουρκουμίνης από μόνη της είναι η κακή βιοδιαθεσιμότητά της (Anand, Kunnumakkara et al. 2007), η οποία φαίνεται ότι οφείλεται κυρίως στην κακή απορρόφηση και τον ταχύ μεταβολισμό της.

Η κουρκουμίνη αναγνωρίζεται και χρησιμοποιείται παγκοσμίως σε πολλές διαφορετικές μορφές για πολλαπλά πιθανά οφέλη για την υγεία. Για παράδειγμα, στην Ινδία, η κουρκουμίνη που περιέχει κουρκουμά χρησιμοποιείται στο κάρυ, στην Ιαπωνία σεβρίρεται σε τσάι, στην Ταϊλάνδη χρησιμοποιείται στα καλλυντικά, στην Κίνα χρησιμοποιείται ως χρωστική ουσία, στην Κορέα σεβρίρεται σε ποτά, στη Μαλαισία χρησιμοποιείται ως αντισηπτικό, στο Πακιστάν χρησιμοποιείται ως αντιφλεγμονώδης παράγοντας και στις Ηνωμένες Πολιτείες, χρησιμοποιείται σε σάλτσα μουστάρδας, τυρί, βούτυρο και ως συντηρητικό και χρωστικός παράγοντας. Η κουρκουμίνη διατίθεται σε διάφορες μορφές, όπως κάψουλες, δισκία, αλοιφές, ενεργειακά ποτά, σαπούνια και καλλυντικά (Gupta, Patchva et al. 2013). Τα κουρκουμινοειδή έχουν εγκριθεί από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ως «Γενικά Αναγνωρισμένα ως Ασφαλή» (GRAS) (Gupta, Patchva et al. 2013) και έχουν αποδειχθεί καλά ανοχή και προφίλ ασφάλειας με κλινικές δοκιμές ακόμη και σε δόσεις μεταξύ 4000 και 8000 mg / ημέρα (Basnet and Skalko-Basnet 2011) και δόσεων έως 12.000 mg / ημέρα συγκέντρωσης 95% τριών κουρκουμινοειδών: κουρκουμίνη, δισμεδιθοξουρκουμίνη και δεμεθοξουρκουμίνη (Lao, Ruffin et al. 2006).

Οι πλέον ερευνηθέντες μοριακοί στόχοι της κουρκουμίνης είναι οι παρακάτω:

1. Μεταγραφικοί παράγοντες, όπως ο πυρηνικός παράγοντας-κΒ [nuclear factor-κB] (Zhong, Yu et al. 2014)
2. Αυξητικοί παράγοντες, όπως ο ενδοθηλιακός, αγγειακός παράγοντας κυτταρικής ανάπτυξης [vascular endothelial cell growth factor] (Deng, Yu et al. 2008).
3. Φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου [tumor necrosis factor (TNF)], ιντερλευκίνη 1 και ιντερλευκίνη 6 (Zhong, Yu et al. 2014). Ο TNF και οι σχετικές προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες έχει αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο κλειδί στις περισσότερες χρόνιες παθήσεις, όπως ο καρκίνος, ρευματοειδής αρθρίτιδα,

καρδιαγγειακές νόσοι η ψωρίαση, νευρολογικές νόσοι, νόσος του Crohn και μεταβολικά νοσήματα (Gupta, Tyagi et al. 2014).

4. Πρωτεϊνικές κινάσες, όπως η κινάση στόχος ραπαμυκίνης των θηλαστικών [mammalian target of rapamycin (mTOR)], Η οδός σηματοδότησης mTOR ενεργοποιείται συνήθως στους ανθρώπινους καρκίνους. Οι πρωτεϊνικές κινάσες ενεργοποιημένου μιτογόνου [mitogen-activated protein kinases] (Son, Kim et al. 2014).

5. Μια ποικιλία ενζύμων που έχουν στενή σχέση με τη φλεγμονή και τον καρκίνο έχει βρεθεί ότι τροποποιούνται από την κουρκουμίνη. Στα ένζυμα αυτά περιλαμβάνεται η κυκλοοξυγενάση-2 [COX-2] η συνθάση του προκλητού νιτρικού οξειδίου [inducible nitric oxide synthase (iNOS)], 5 λιποξυγενάση και φωσφολιπάσες A2 (PLA2) (Camacho-Barquero, Villegas et al. 2007).

Επειδή τα ένζυμα αυτά, αλλά και άλλα, συμμετέχουν στη ρύθμιση της κυτταρικής αύξησης, του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης και άλλων φυσιολογικών λειτουργιών, η ανακοπή της δραστηριότητάς τους από την κουρκουμίνη, ξεκάθαρα αποτελεί μέρος της όλης αντικαρκινικής-αντιοξειδωτικής δράσης της κουρκουμίνης (Hong, Bose et al. 2004). Η ιδιαίτερη ικανότητα της κουρκουμίνης να αλλάζει τη γονιδιακή μεταγραφή και να προκαλεί απόπτωση σε προκλινικά μοντέλα μας παραπέμπει στην πιθανή χρησιμότητά της στη χημειοπροφύλαξη και χημειοθεραπεία του καρκίνου (Schiborr, Kocher et al. 2014).

6. Συγκολλητικά μόρια ή συναπτικά μόρια. Τα συγκολλητικά μόρια κυττάρων [Cell adhesion molecules (CAMs)] είναι γλυκοπρωτεΐνες που εντοπίζονται στην κυτταρική επιφάνεια και χρειάζονται, διότι συνδέονται με άλλα κύτταρα ή με την εξωκυττάρια μήτρα κατά τη διαδικασία που ονομάζεται κυτταρική συνάφεια [cell adhesion] (Bruijn and de Heer 1995)

7. Πρωτεΐνες που σχετίζονται με την απόπτωση. Η απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ορίζεται ως ο μηχανισμός αυτοκτονίας των κυττάρων, που εκδηλώνεται μετά από επαρκή βλάβη τους (Burz, Berindan-Neagoe et al. 2009). Η απόπτωση είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής ομοιοστασίας στους μονοκύτταρους και πολυκύτταρους οργανισμούς (Singh and Anand 1995).



Η απορρύθμιση της απόπτωσης μπορεί να οδηγήσει σε καρκίνο, αυτοάνοσα νοσήματα και εκφυλιστικές νόσους

8. Η κουρκουμίνη δρα στο σύμπλοκο TOR (Target of Rapamycin) στις μύγες *in vivo* (Bjedov, Toivonen et al. 2010) και *in vitro* σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές (Zhou, Beevers et al. 2011). Το TOR και μέσω αυτού η κουρκουμίνη επιδρά στη μακροβιότητα της μύγας (Bjedov, Toivonen et al. 2010) (Kaphi, Zid et al. 2004) (Arking, Buck et al. 2002) (Soh, Marowsky et al. 2013).

#### Αντιοξειδωτική δράση της κουρκουμίνης

Η κουρκουμίνη έχει λάβει παγκόσμια προσοχή για τα πολλαπλά οφέλη για την υγεία της, τα οποία φαίνεται να δρουν κυρίως μέσω των αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονωδών μηχανισμών (Lin, Kunnumakkara et al. 2007) (Marchiani, Rozzo et al. 2014). Η κουρκουμίνη έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει συστηματικούς δείκτες οξειδωτικού στρες (Sahebkar 2014). Υπάρχουν στοιχεία ότι μπορεί να αυξήσει τις δραστηριότητες των αντιοξειδωτικών στον ορό, όπως η δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD) (Banach, Serban et al. 2014) (Menon and Sudheer 2007) (Panahi, Alishiri et al. 2016)26]. Η δράση της κουρκουμίνης στις ελεύθερες ρίζες διεξάγεται από διάφορους διαφορετικούς μηχανισμούς. Μπορεί να εξουδετερώσει διάφορες μορφές ελεύθερων ριζών, όπως ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και αζώτου (ROS και RNS, αντίστοιχα) (Menon and Sudheer 2007). Η κουρκουμίνη μπορεί να διαμορφώσει τη δραστηριότητα των ενζύμων GSH, καταλάσης και SOD τα οποία παίζουν ρόλο στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών (Lin, Kunnumakkara et al. 2007) (Marchiani, Rozzo et al. 2014). Επίσης, η κουρκουμίνη μπορεί να αναστέλλει ένζυμα που παράγουν ROS όπως λιποξυγενάση / κυκλοοξυγενάση και υδρογονάση / οξειδάση ξανθίνης (Lin, Kunnumakkara et al. 2007). Επιπλέον, η κουρκουμίνη είναι μια λιπόφιλη ένωση, η οποία την καθιστά αποτελεσματική "ρακοσυλλέκτη" των υπεροξυλικών ριζών, ως εκ τούτου, όπως η βιταμίνη E, η κουρκουμίνη θεωρείται επίσης ως αλυσιδωτός αντιοξειδωτικός παράγοντας (Priyadarsini, Maity et al. 2003).

## Αντι-φλεγμονώδη δράση της κουρκουμίνης

Το οξειδωτικό στρες έχει εμπλακεί σε πολλές χρόνιες ασθένειες και οι παθολογικές διεργασίες του είναι στενά συνδεδεμένες με εκείνες της φλεγμονής. Στην πραγματικότητα, είναι γνωστό ότι τα φλεγμονώδη κύτταρα απελευθερώνουν έναν αριθμό δραστικών ουσιών στη θέση της φλεγμονής που οδηγεί σε οξειδωτικό στρες, γεγονός που αποδεικνύει τη σχέση μεταξύ οξειδωτικού στρες και φλεγμονής (Biswas 2016). Επιπρόσθετα, ένας αριθμός δραστικών ριζών οξυγόνου / αζώτου μπορεί να εκκινήσει έναν ενδοκυτταρικό καταρράκτη σηματοδότησης ο οποίος ενισχύει την προ-φλεγμονώδη γονιδιακή έκφραση. Η φλεγμονή έχει εντοπιστεί στην ανάπτυξη πολλών χρόνιων παθήσεων και καταστάσεων (Panahi, Hosseini et al. 2016) (Lao, Ruffin et al. 2006) (Jurenka 2009) (Recio, Andujar et al. 2012). Αυτές οι ασθένειες περιλαμβάνουν το Alzheimer, τη νόσο του Parkinson, πολλαπλή σκλήρυνση, επιληψία, εγκεφαλική βλάβη, καρδιαγγειακή νόσο, μεταβολικό σύνδρομο, καρκίνο, αλλεργία, άσθμα, βρογχίτιδα, κολίτιδα, αρθρίτιδα, νεφρική ισχαιμία, η ψωρίαση, διαβήτη, παχυσαρκία, κατάθλιψη, κόπωση, και το σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας AIDS (Panahi, Hosseini et al. 2016). Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) είναι ένας κύριος μεσολαβητής φλεγμονής στις περισσότερες ασθένειες, και αυτό το αποτέλεσμα ρυθμίζεται από την ενεργοποίηση ενός παράγοντα μεταγραφής, πυρηνικού παράγοντα (NF) - $\kappa$ B. Ενώ ο TNF- $\alpha$  θεωρείται ότι είναι ο ισχυρότερος ενεργοποιητής του NP- $\kappa$ B, η έκφραση του TNF- $\alpha$  ρυθμίζεται επίσης από το NP- $\kappa$ B. Εκτός από τον TNF- $\alpha$ , το NF- $\kappa$ B ενεργοποιείται επίσης από τις περισσότερες φλεγμονώδεις κυτοκίνες: gram-αρνητικά βακτήρια, διάφορους ιούς που προκαλούν ασθένεια, περιβαλλοντικούς ρύπους, χημικό, φυσικό, μηχανικό και ψυχολογικό στρες. υψηλή γλυκόζη, λιπαρά οξέα, υπεριώδης ακτινοβολία, καπνός τσιγάρου και άλλους παράγοντες που προκαλούν ασθένεια. Ως εκ τούτου, οι παράγοντες που υπορυθμίζουν το NF- $\kappa$ B και NF- $\kappa$ B-ρυθμισμένα γονιδιακά προϊόντα έχουν πιθανά αποτελέσματα έναντι πολλών από αυτών των ασθενειών. Η κουρκουμίνη έχει αποδειχθεί ότι εμποδίζει την ενεργοποίηση της NP- $\kappa$ B που αυξάνεται από ποικίλα φλεγμονωδών ερεθισμάτων (Panahi, Hosseini et al. 2016). Η κουρκουμίνη έχει επίσης αποδειχθεί ότι καταστέλλει τη φλεγμονή μέσω

πολλών διαφορετικών μηχανισμών και κατά συνέπεια θεωρείται αντιφλεγμονώδης παράγοντας (Panahi, Hosseini et al. 2016).

### Μεταβολικό σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο (MetS), είναι μια συστηματική φλεγμονώδη κατάσταση και περιλαμβάνει την αντίσταση στην ινσουλίνη, την υπεργλυκαιμία, την υπέρταση, τη χαμηλή χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (HDL-C), την αυξημένη χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL-C), τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και την παχυσαρκία, ιδιαίτερα την σπλαχνική παχυσαρκίας. Η κουρκουμίνη έχει αποδειχθεί ότι εξασθενεί διάφορες πλευρές του MetS βελτιώνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Na, Li et al. 2013) (Chuengsamarn, Rattanamongkolgul et al. 2012), καταστέλλοντας την λιπογένεση (Bradford 2013) και μειώνοντας την αυξημένη αρτηριακή πίεση (Hlavackova, Janegova et al. 2011), τη φλεγμονή (Sahebkar 2014) και το οξειδωτικό στρες (Ak and Gulcin 2008) (Sahebkar, Mohammadi et al. 2013). Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα κουρκουμινοειδή ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων και τη δραστηριότητα των ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών τα οποία οδηγούν σε μείωση των τριγλυκεριδίων του πλάσματος και της χοληστερόλης (Mohammadi, Sahebkar et al. 2013) (DiSilvestro, Joseph et al. 2012)52] και αυξάνουν τις συγκεντρώσεις της HDL-C (Soni and Kuttan 1992). Τόσο το υπερβολικό βάρος όσο και η παχυσαρκία συνδέονται με χρόνιες ήπιες φλεγμονές, αν και οι ακριβείς μηχανισμοί δεν είναι σαφείς, είναι γνωστό ότι απελευθερώνονται προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Αυτές οι κυτοκίνες πιστεύεται ότι βρίσκονται στον πυρήνα των επιπλοκών που σχετίζονται με τον διαβήτη και τις καρδιαγγειακές παθήσεις. Ως εκ τούτου, η αντιμετώπιση της φλεγμονής είναι σημαντική. Η κουρκουμίνη μειώνει σημαντικά τις συγκεντρώσεις ορού των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών σε άτομα με MetS , έχει επίσης θετική επίδραση στη μείωση ολικής και LDL χοληστερόλη (Cox, Piringas et al. 2015). Αυτά τα οφέλη επιτυγχάνονται καλύτερα όταν η κουρκουμίνη συνδυάζεται με παράγοντες όπως η πιπερίνη, οι οποίοι αυξάνουν σημαντικά τη βιοδιαθεσιμότητα της. Η έρευνα δείχνει ότι η κουρκουμίνη μπορεί να βοηθήσει στη διαχείριση οξειδωτικών και φλεγμονωδών συνθηκών, μεταβολικού συνδρόμου,

αρθρίτιδας, άγχους και υπερλιπιδαιμίας. Μπορεί επίσης να βοηθήσει στη διαχείριση των φλεγμονών που προκαλούνται από την άσκηση ή σε περιπτώσεις μυϊκής ευαισθησίας.

Η κουρκουμίνη δεν είναι τοξική για τους ανθρώπους, όταν λαμβάνεται σε μεγάλες δόσεις. Πρόκειται για ένα πολύπλοκο χημικό μόριο με πολλαπλούς βιολογικούς στόχους και διάφορα κυτταρικά αποτελέσματα. Η κουρκουμίνη είναι δυσδιάλυτη στο νερό και έχει ένα μακροχρόνιο ιστορικό ασφαλείας. Για παράδειγμα, σύμφωνα με την JECFA (η επιτροπή εμπειρογνομόνων για τα πρόσθετα τροφίμων της Κοινής Οργάνωσης των Ηνωμένων Εθνών και της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας) και τις εκθέσεις της EFSA (Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων), η επιτρεπόμενη ημερήσια πρόσληψη (curricin value) της κουρκουμίνης είναι 0-3 mg / kg σωματικού βάρους (Kocaadam and Sanlier 2017).

Η κουρκουμίνη αυξάνει τη διάρκεια ζωής στη *Drosophila*

Η *Drosophila* είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για τη μελέτη της λειτουργικής γήρανσης, λόγω της μικρής διάρκειας ζωής (50-80 ημέρες), το χαμηλό κόστος εκτροφής και διατήρησης, και τη σαφώς καθορισμένη γενετική της. Μύγες έχουν χρησιμοποιηθεί για να εξεταστεί η επίδραση των διατροφικών περιορισμών (Troen, French et al. 2007) βιταμίνες, και N-ακετυλοκουστεΐνη, για επέκταση της διάρκειας ζωής (Driver and Georgiou 2003) (Brack, Bechter-Thuring et al. 1997) . Ένας αριθμός από τις ηλικιό- σχετιζόμενες λειτουργικές εκπτώσεις που παρουσιάζονται στην *Drosophila* παρατηρούνται επίσης σε ανθρώπους.

Γονίδια Μακροζωίας (LAGs) ορίζονται τα γονίδια τα οποία μπορούν να αυξήσουν τη διάρκεια ζωής όταν μεταλλαχθούν. Αρκετά τέτοια γονίδια (LAGs) έχουν ταυτοποιηθεί στη *Drosophila*, συμπεριλαμβανομένων των υποδοχέα της ινσουλίνης (INR), Μαθουσάλας (mth), υποδοχέα εκδυσόνης (EcR), Indy, SOD, καταλάση, πρωτεΐνη θερμικού σοκ 70 (hsp70), πεπτιδίδιο μεθειονίνη σουλφοξειδίου αναγωγάσης (PMSR), c-Jun N-τερματικής κινάσης (JNK; Silent Information regulator two) SIR2, και (πρωτεΐνη 53) p53. Ο χειρισμός αυτών των γονιδίων στη *Drosophila*, πολλά από τα οποία έχουν γνωστά ορθόλογα σε ανθρώπους, έχει αποκαλύψει γενετικά μονοπάτια και μοριακούς

μηχανισμούς που παρέχουν ενδείξεις για τις διαδικασίες της γήρανσης (Lee, Lee et al. 2010).

Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν μύγες αγρίου τύπου (wild type) για εξεταστεί η επίδραση της κουρκουμίνης στη διάρκεια ζωής. Οι Suckow και Suckow (Suckow and Suckow 2006) έδειξαν ότι η μέση διάρκεια ζωής των ατόμων-μάρτυρες (control) οι οποίες διατηρήθηκαν σε μέσα χωρίς κουρκουμίνη ήταν 64 ημέρες, ενώ παρατηρήθηκε μία μέση διάρκεια ζωής των 80 ημέρες σε μύγες που τράφηκαν με δίαιτες που περιείχαν 1,0 mg κουρκουμίνη / γραμμάριο μέσων (Brack, Bechter-Thuring et al. 1997). Η δεύτερη έρευνα για την επίδραση της κουρκουμίνης σε διάρκεια ζωής της *Drosophila* διεξήχθη από τον Lee et al., 2010 (Lee, Lee et al. 2010). Δύο διαφορετικά στελέχη μύγας, Canton-S μύγες στην Κορέα, και οι Ives μύγες («IV») στις ΗΠΑ χρησιμοποιήθηκαν κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Στην Κορέα, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κουρκουμίνη σε 100 mM παρατείνει τη διάρκεια ζωής των θηλυκών Canton-S κατά 19%, χωρίς θετική επίδραση στα αρσενικά. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το αντίθετο αποτέλεσμα της κουρκουμίνης όσον αφορά τη παράταση ζωής βρέθηκε σε Ives μύγες, όπου η κουρκουμίνη (250 mM) δεν είχε καμία επίδραση στις θηλυκά, αλλά επεκτείνει τη διάρκεια ζωής στα αρσενικά Ives κατά 16%.

Για να καθοριστεί εάν η επίδραση της κουρκουμίνης επί της παρατηρούμενης παράτασης ζωής θα μπορούσε να οφείλεται στις δευτερεύουσες φυσιολογικές επιδράσεις. Οι Lee et al., 2010 (Lee, Lee et al. 2010) εξέτασαν την επίδραση των συμπληρωμάτων κουρκουμίνης στη θερμιδική πρόσληψη και στη γονιμότητα των μυγών. Παρατηρήθηκε ότι και στα δύο στελέχη Canton-S και Ives, τα συμπληρώματα κουρκουμίνης δεν μείωσαν την γονιμότητα, σε δόσεις, που αύξησαν τη διάρκεια ζωής. Επιπλέον, η κουρκουμίνη δεν μετέβαλε τη διατροφική συμπεριφορά σε Canton-S μύγες καθώς μετράται η πρόσληψη με χρωστική κυανού, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης για τη μέτρηση της σίτισης με κουρκουμίνη. Επιπλέον, η επίδραση της κουρκουμίνης στην κινητική δραστηριότητα, ένας βιοδείκτης που καθορίζει την καλή υγεία, εξετάστηκε σε Ives μύγες. Τόσο αρσενικά όσο και θηλυκά Ives άτομα που τράφηκαν με κουρκουμίνη έδειξαν αυξημένη ικανότητα αναρρίχησης: 42 και 15% αύξηση στα 7- και 35 ημερών αρσενικά, αντιστοίχως, και μια αύξηση 30% σε 35-ημερών θηλυκά (Lee, Lee et al. 2010).

Όσον αφορά την επίδραση της ποσότητας κουρκουμίνης στη διάρκεια ζωής σε Oregon-r μύγες οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι: Η επιβίωση διέφερε σημαντικά μεταξύ δίαιτας με κουρκουμίνη. Στα θηλυκά άτομα, οι δίαιτες που ήταν ενισχυμένες με κουρκουμίνη στα 0,5 mg / g media (C1) και 1,0 mg / g media (C2) αύξησαν τη μέση διάρκεια ζωής κατά 15,5% και 12,7%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με την δίαιτα ελέγχου. Στα αρσενικά, οι δίαιτες C1 και C2 αύξησαν τη μέση διάρκεια ζωής κατά 6,2 και 25,8% σε σύγκριση με μύγες που ετράφησαν με την κανονική δίαιτα. Αυτό δείχνει ότι η μέση διάρκεια επέκτασης της ζωής στα αρσενικά συσχετίζεται με την ποσότητα κουρκουμίνης. Η C2 (1,0 mg /g δίαιτας) είναι πιο αποτελεσματική για την επέκταση της μέσης διάρκειας ζωής στα αρσενικά, ενώ C1 (0,5 mg / g δίαιτας) ήταν πιο αποτελεσματική στα θηλυκά άτομα (Shen, Parnell et al. 2013).

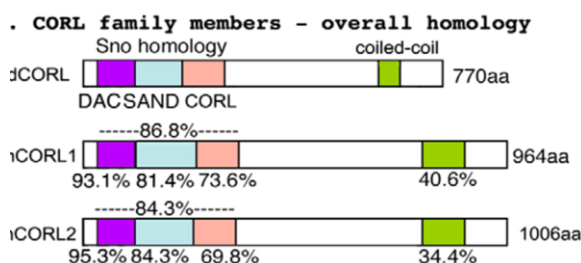
## **6 Super Fruits (SF, Nature's plus Co.)**

Το Super Fruit περιέχει τις παρακάτω ουσίες: acai, goji, ρόδι, μάνγκο (mangosteen), noni, φυτική κυτταρίνη, μικροκρυσταλλική κυτταρίνη, φυσικό χρώμα, στεατικό οξύ, στεατικό μαγνήσιο, διοξείδιο του πυριτίου, και απεσταγμένο νερό. Το SF (με κύριο συστατικό το acai) παρέχει ισχυρή αντιοξειδωτική προστασία σε δύο μοντέλα στη *Drosophila*, σε ενήλικα αγρίου τύπου άτομα τα οποία είχαν υποστεί χημικό οξειδωτικό stress μέσω της θρέψης με H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ή εντομοκτόνο (paraquat), και σε μεταλλαγμένα άτομα (P38 Map K) με έντονο νευροεκφυλισμό, μικρότερη διάρκεια ζωής και κινητικά προβλήματα (Vrailas-Mortimer, del Rivero et al. 2011).

## 7. dCORL (η πρωτεΐνη CORL στη *D.melanogaster*)

Η TGFβ-σηματοδοτική οδός (Transforming Growth Factor β-signaling) ενέχεται στην εμβρυονική ανάπτυξη, ενώ στον ενήλικο οργανισμό, μεταλλάξεις που την διακόπτουν οδηγούν σε όγκους. Οι ογκογονικές πρωτεΐνες Sno/Ski συνδέονται με τους μεταγραφικούς παράγοντες Smad κατωφερώς της TGFβ/Activin και είναι από τους ρυθμιστές της TGFβ-σηματοδοτικής οδού. Κατ' αρχήν, gain-of-function μελέτες σε κύτταρα θηλαστικών έδειξαν ότι οι πρωτεΐνες Sno/Ski είναι ανταγωνιστές της TGFβ (Jahchan and Luo, 2010). Κατόπιν, δεδομένα από *Drosophila*, *C. elegans* και RNAi- (σιώπηση RNA) σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές έδειξαν ότι οι Sno είναι σηματοδοτικοί διακόπτες: Οι Sno σε φυσιολογικές συνθήκες ενεργοποιούν την οδό TGFβ/Activin και σε συνθήκες υπερ-έκφρασης την αναστέλλουν (da Graca et al., 2003; Sarker et al., 2005; Sarker et al., 2008; Ο διπλός ρόλος των Sno δείχτηκε στην καρκινογένεση. Το ανθρώπινο *Sno* μπορεί να λειτουργήσει τόσο ως ογκογονίδιο όσο και ως ογκοκατασταστικό γονίδιο (Jahchan and Luo, 2010).

Οι πρωτεΐνες που συσχετίζονται με τις Sno/Ski αποτελούν 3 υπο-οικογένειες (Sno/Ski, Dachсанд, και CORL) με χαρακτηριστική ομόλογη περιοχή Sno που αλληλεπιδρά με τις Smad (Εικ. 1; Takaesu et al., 2006). Η υπο-οικογένεια CORL στο ποντίκι περιέχει δύο πρωτεΐνες, τις Corl1 και Corl2, που εκφράζονται σε κύτταρα Purkinje της παρεγκεφαλίδας (Minaki et al., 2008).



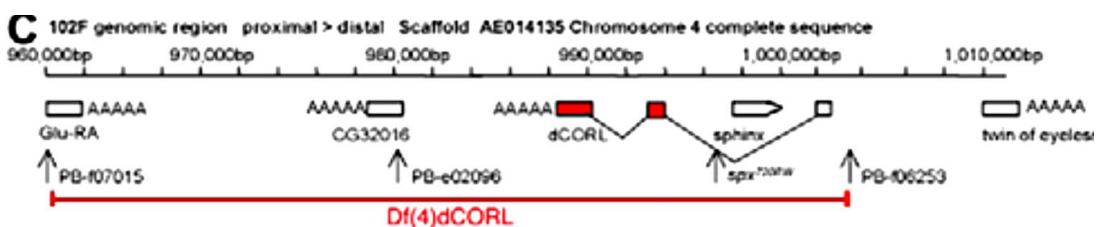
**Εικόνα 1. Ομολογία στη SNO περιοχή μεταξύ των CORL στη μύγα και το ποντίκι (dCORL/mCORL1,2)**

Οι ανθρώπινες πρωτεΐνες CORL: FUSSEL15 (SKOR1 στον άνθρωπο, Corl1 στον ποντικό) και FUSSEL18 (SKOR2 στον άνθρωπο, Corl2 στον ποντικό), εμφανίζουν διατηρημένη έκφραση σε πρόδρομα και ενήλικα κύτταρα Purkinje. Επιπλέον,

μεταλλάξεις στη χρωμοσωμική περιοχή που περιέχει τη SKOR1 συνδέονται με μια αταξία γνωστή ως σύνδρομο ανήσυχων ποδιών (Kemlink et al., 2009). Να τονιστεί ότι η παρεγκεφαλίδα είναι το τμήμα του εγκεφάλου που είναι υπεύθυνο για τον συντονισμό των κινήσεων, ενώ παρεγκεφαλιδικές βλάβες συσχετίζονται με κινητικές δυσλειτουργίες όπως οι αταξίες (ataxias - Orr, 2010).

Οι Takaesu et al. το 2012 κλωνοποίησαν και μόχλευσαν γενετικά το γονίδιο *CORL* στη *Drosophila* (Εικόνα) . Η πρωτεΐνη d-CORL εκφράζεται σε συγκεκριμένες ομάδες κυττάρων στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα και η απαλοιφή της σε ομόζυγα προκαλεί θάνατο κατά τη μεταμόρφωση, με συνέπεια πολύ λίγα άτομα να γίνονται ενήλικα. Τόσο τα ενήλικα όσο και οι προνύμφες εμφανίζουν βλάβες στα μανιταροειδή σωματίδια του εγκεφάλου. Η dCORL είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του υποδοχέα της εκδυσόνης (EcR-B1), της ορμόνης υπεύθυνης για την έκδυση του ενήλικου εντόμου, γεγονός που εξηγεί τον αναπτυξιακό φαινότυπο (Takaesu et al., 2012).

Η απαλοιφή (deletion) *Df(4)dCORL* παρήχθη μέσω FLP-FRT ενδοχρωμοσωμικού ανασυνδυασμού. Οι θέσεις των δύο FRT-Piggy-bac παρεμβολών [insertions; *Pbac{WH}f07015* (956,754 bp), *Pbac{WH}f06253* (1,000,397 bp)], μιας Piggy-bac παρεμβολής στη CG32016 και μιας μεταλλαγής στο γονίδιο *sphinx* φαίνονται στην παρακάτω Εικόνα.





## 8. ΣΥΣΤΗΜΑ ΓΙΓΑΝΤΙΑΙΩΝ ΑΞΟΝΩΝ (ΣΓΑ)

Η ταχεία προσέγγιση ενός θηρευτή, που γίνεται αντιληπτή από την *Drosophila* ως οπτικό ερέθισμα απειλητικό για την επιβίωση, προκαλεί την αιφνίδια απομάκρυνση του εντόμου και αυτή η αντανάκλαστική συμπεριφορά έχει χαρακτηριστεί ως συμπεριφορά διαφυγής (escape response). Κατά την έναρξη της αντίδρασης διαφυγής τα φτερά βρίσκονται σε θέση ηρεμίας (Trimarchi and Schneiderman 1995) ή κατ'άλλους ανυψωμένα (Hammond and O'Shea 2007) και το έντομο κατόπιν απογειώνεται με άλμα, μέσω της έκτασης των μεσοθωρακικών ποδιών. Η έκταση των μεσοθωρακικών ποδιών οφείλεται στη σύσπασση του αμφίπλευρου ζεύγους των δύο αλτικών μυών (AM) (tergotrochanteral muscle-TTM) (Mulloney September 1969) (M 1977) (Hughes 1973) (Schouest L 1986) (Koenig and Ikeda 2005) (Trimarchi and Schneiderman 1993).

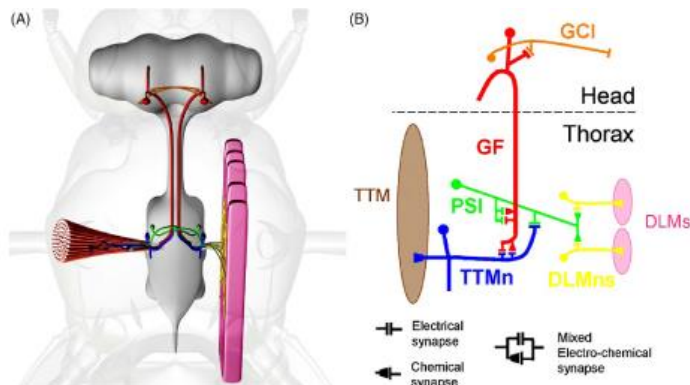
Η κίνηση των φτερών, που ενεργοποιούνται αμέσως μετά την έκταση των μεσοθωρακικών ποδιών, οφείλεται σε τρία ζεύγη πτητικών μυών. Η βύθιση των φτερών οφείλεται στη σύσπασση των 6 ραχιαίων επιμηκών μυών (PEM1-6) (Dorsal Longitudinal Muscles-DLMs). Η ανύψωση των φτερών επιτυγχάνεται με τη σύσπασση των 3 ραχιαίων κοιλιακών μυών (PKMI, PKMII, PKMIII) (Dorsal Ventral Muscles-DVMs) (Hughes 1973) (Trimarchi and Schneiderman 1993). Η εναλλασσόμενη σύσπασση των ανταγωνιστών PEMς και PKMς, προκαλεί την παραμόρφωση του ραχιαίου θωρακικού εξωσκελετού, με αποτέλεσμα την βύθιση και ανύψωση των φτερών κατά την πτήση (Miyan JA 1985).

Η παραγωγή ενός δυναμικού ενέργειας στον άξονα του γιγαντιαίου νευρώνα (ΓΝ) του ΣΓΑ είναι επαρκής για να προκαλέσει τη διαδοχική σύσπασση όλων των προαναφερθέντων μυών (Thomas and Wyman 1984). Ιδιαίτερα, έχει διαπιστωθεί ότι το χρονικό διάστημα ενεργοποίησης κάθε μυ μετά από διέγερση του ΓΝ είναι σχετικά σταθερό (Tanouye and Wyman 1980), συμβάλλοντας κατ' αυτόν τον τρόπο στη συντονισμένη λειτουργία των παραπάνω μυών που αποτελούν τη βάση του άλματος και της πτήσης στη συμπεριφοράς διαφυγής (Tanouye and Wyman 1980) (Trimarchi and Schneiderman 1993).

## Μορφολογία και φυσιολογία του συστήματος γιγαντιαίων νευρώνων

Η ταυτοποίηση των νευρώνων που απαρτίζουν το σύστημα γιγαντιαίων αξόνων (ΣΓΑ), τουλάχιστον όσον αφορά τα δύο υποκυκλώματα που συνδέουν το γιγαντιαίο νευρώνα με τους ραχιαίους επιμήκεις μύες (ΓΝ-PEMς) ή το μυ για άλμα (ΓΝ-AM), κατέστη δυνατή, σε πρώτη φάση, χάρη στο ιδιαίτερο σχήμα ή μέγεθος που διαθέτουν κάποιοι από τους νευρώνες του κυκλώματος αυτού (Εικ. 1Ε; (King and Wyman 1980) (Consoulas, Restifo et al. 2002), (Koto, Tanouye et al. 1981) (Thomas and Wyman 1982) (Krishnan, Frei et al. 1993) (Phelan, Nakagawa et al. 1996) (Sun and Wyman 1996). Έγχυση ουσιών όπως το κοβάλτιο, HRP, rhodamine-dextran, Biocytin, και μία σειρά από ιστοειδικούς επαγωγείς, οι οποίοι εκφράζονται ειδικά σε νευρώνες του ΣΓΑ συνέβαλε στην ταυτοποίηση της μορφολογίας των κινητικών νευρώνων (Coggshall 1978) (Ikeda and Koenig 1988) (Trimarchi and Schneiderman 1993) (Sun and Wyman 1997) (Consoulas et al. 2002), (Phelan, Nakagawa et al. 1996) (Allen, Drummond et al. 1998) (Allen, Shan et al. 1999) (Jacobs, Todman et al. 2000).

Οι δύο άξονες του ζεύγους των ΓΝ προβάλλουν από τον εγκέφαλο μέσω του αυχενικού συνδέσμου στο θωρακικό τμήμα του ΚΝΣ. Ο κάθε άξονας του ΓΝ, στο επίπεδο του μεσοθωρακικού νευρομερούς (T2), συνάπτεται τόσο με τον ομόπλευρο περιφερειακό ενδιάμεσο νευρώνα (ΠΕΝ) όσο με τον ομόπλευρο κινητικό νευρώνα του αλτικού μυ (ΑΜν; (King and Wyman 1980). Οι τελικές αξονικές απολήξεις του ΠΕΝ, με τη σειρά τους, σχηματίζουν συνάψεις με τους άξονες των κινητικών νευρώνων των ραχιαίων επιμηκών μυών (PEMνς) κατά μήκος του περιφερειακού νεύρου ΟΡΜΝ. Αυτές οι συνάψεις είναι αξονο-αξονικού τύπου διεγερτικές συνάψεις.



**Εικόνα 1Ε.** Σύστημα γιγαντιαίων αξόνων (ΣΓΑ). (Α) Απεικόνιση του ΣΓΑ στο εσωτερικό του κεντρικού νευρικού συστήματος της *Drosophila*. Οι κινητικοί νευρώνες του συστήματος νευρώνουν τους πτητικούς μύες (PEMς-δεξιά) και το μυ για άλμα (AM-αριστερά). (Β) Παρουσίαση των νευρώνων, και των συνάψεων τους

(χημικές, ηλεκτρικές ή μεικτές), που απαρτίζουν το ΣΓΑ. GF: ΓΝ, DLMs: PEM<sub>ς</sub>, DLMns: PEM<sub>νς</sub>, TTM: AM, TTMn: AM<sub>ν</sub>, PSI: ΠΕΝ.

Οι μύες PEM<sub>ς</sub>1-4 νευρώνονται από 4 ομόπλευρους κινητικούς νευρώνες (MN1-4). Αντίθετα, οι δύο πιο ραχιαίοι πτητικοί μύες (PEM<sub>ς</sub>5-6) νευρώνονται από τον άξονα του ετερόπλευρου MN5 (Coggshall 1978) (King and Wyman 1980) (Costello and Wyman 1986) (Ikeda and Koenig 1988, Sun and Wyman 1997, Consoulas, Restifo et al. 2002)..

Παράλληλα, οι King και Wyman (1980) περιγράφουν συνάψεις τόσο μεταξύ του κινητικού νευρώνα για το μυ του άλματος (AM<sub>ν</sub>) και του περιφερειακού ενδιάμεσου νευρώνα (ΠΕΝ) (ζεύγη AM<sub>ν</sub>/ΠΕΝ), όσο και μεταξύ των αξόνων των δύο γιγαντιαίων νευρώνων (ΓΝ) (ζεύγη ΓΝ/ΓΝ) όπως και των δύο ΠΕΝ (ζεύγη ΠΕΝ/ΠΕΝ), στην περιοχή του νευρομερούς T2. Τέλος οι δύο ΓΝ επικοινωνούν επιπρόσθετα στην περιοχή του εγκεφάλου, μέσω ενδιάμεσων νευρώνων (Giant Commissural Interneurons-GCIs). Αυτοί οι νευρώνες σχηματίζουν εκατέρωθεν ηλεκτρικές συνάψεις με τους δενδρίτες των δύο ΓΝ (Phelan, Nakagawa et al. 1996).

Η διέγερση ενός εκ των δύο ΓΝ είναι σε θέση να ενεργοποιήσει τόσο τους ομόπλευρους όσο και τους ετερόπλευρους μύες (PEM<sub>ς</sub> ή AM), λόγω των συνάψεων που έχουν μεταξύ τους ετερόπλευροι νευρώνες (π.χ. ΓΝ/ΓΝ, ΠΕΝ/ΠΕΝ, ΠΕΝ/AM<sub>ν</sub>). Στην περίπτωση αυτή, μετρήσεις της βραχύχρονης απόκρισης έδειξαν ότι οι συνάψεις, τόσο μεταξύ των ετεροπλευρικών αξόνων των δύο ΓΝ ή των δύο ΠΕΝ, όσο μεταξύ των ΠΕΝ και AM<sub>ν</sub>, είναι ηλεκτρικές (King and Wyman 1980) (Tanouye and Wyman 1980) (Phelan, Nakagawa et al. 1996) (Sun and Wyman 1996) (Jacobs, Todman et al. 2000) (Phelan, Nakagawa et al. 1996).

Η αξονοαξονική σύναψη μεταξύ του ΠΕΝ και των PEM<sub>νς</sub> είναι χολινεργική (Gorczyca and Hall 1984). Επίσης η χημική σύναψη μεταξύ του ΓΝ και του AM<sub>ν</sub> είναι χολινεργική. Ο ΓΝ είναι ένας χολινεργικός νευρώνας, γεγονός που υποδεικνύει ότι και η χημική σύναψη μεταξύ των ΓΝ και ΠΕΝ θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως χολινεργική (Allen and Murphey 2007). Σε αντίθεση, οι νευρομυϊκές συνάψεις του ΣΓΑ, όπως όλες γενικά οι νευρομυϊκές συνάψεις στη *Drosophila*, χρησιμοποιούν ως διαβιβαστή το γλουταμινικό οξύ (Koenig and Ikeda 2005) (DiAntonio 2006).

Σε αντίθεση με τα δύο πολύ καλά μελετημένα υποκυκλώματα ΓΝ-PEM<sub>3</sub> και ΓΝ-AM του ΣΓΑ, το νευρωνικό κύκλωμα, διαμέσου του οποίου το οπτικό σήμα φθάνει στο ΓΝ, δεν είναι ταυτοποιημένο σε επίπεδο αναγνωρισμένων νευρώνων. Σε γενικές γραμμές εικάζεται ότι μεταξύ των αισθητικών νευρώνων του οφθαλμού (φωτοϋποδοχείς) και το ΓΝ παρεμβάλλονται περίπου τέσσερις, χημικές συνάψεις (K. and J. 2003). Οι δενδρίτες του ΓΝ λαμβάνουν το οπτικό σήμα από τους Col A νευρώνες της νευροπίλης lobula (lobula columnar neurons) (Fischbach 1989), (Hausen K 1980) (Gilbert C 1991). Και από τους μηχανοαισθητικούς νευρώνες του χορδοτονικού οργάνου της κεραίας (Strausfeld 1983) (Bacon 1986) (J. and J. 1990). Τόσο το οπτικό σύστημα, όσο και το οσφρητικό, αποτελούνται από χολινεργικούς νευρώνες (Yasuyama and Salvaterra 1999) (Salvaterra and Kitamoto 2001).

# ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

## 1.1 ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ ΓΙΑ *Drosophila*

Υλικά:

Άγαρ (Scharlau/Serva)

Ξηρή μαγιά (Γιώτης/Mac magic)

Αλεύρι καλαμποκιού (Φυσιοθεραπευτική-προϊόν βιολογικής γεωργίας)

Ζάχαρη καγιάνα (Φυσιοθεραπευτική-προϊόν βιολογικής γεωργίας)

Γλυκόζη (D-glucose) (Gibco)

Προπιονικό οξύ (Sigma)

Methyl-4-hydroxybenzoate(nipagine) (Sigma)

Αιθανόλη (absolute) (Scharlau)

Αποσταγμένο H<sub>2</sub>O

Συστατικά για 1000ml H<sub>2</sub>O

Συστατικά	Υδ/πρ 2/1
agar	7.5g
μαγιά	50g
αλεύρι	35g
ζάχαρη	35g
γλυκόζη	20g
προπιονικό	4ml
10% nipagine in EtOH	25ml

Η τροφή διατηρείται στο ψυγείο(4<sup>0</sup>C) περίπου μια βδομάδα.

### Διατροφικά πρωτόκολλα

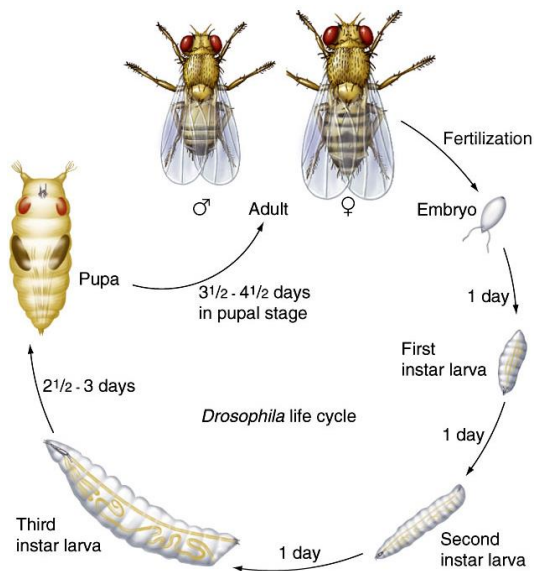
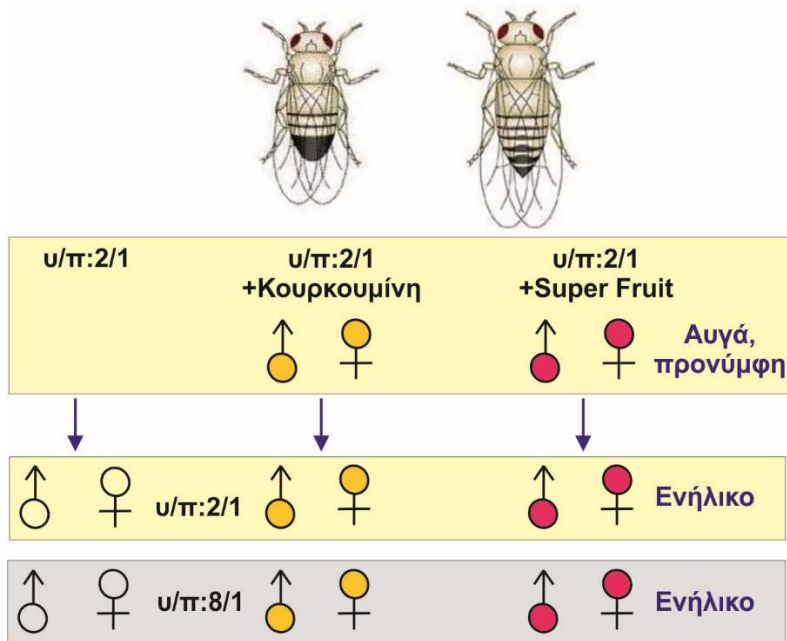
Η κourkouμίνη που χρησιμοποιήθηκε ήταν >95% καθαρή (Sigma as, Fluka brand at >95% pure, #28260). Το Super fruits περιέχει (açai, goji, pomegranate, mangosteen,

noni, vegetable cellulose, microcrystalline cellulose, natural colors, stearic acid, magnesium stearate, silica, and purified water; Nature's Plus). Κουρκουμίνη (100 mM, Soh et al., 2013) ή Super Fruit (50 mg/ml, Vrailas-Mortimer et al., 2012) προστέθηκε στη τροφή. Standard τροφή με υδατάνθρακες/πρωτεΐνες 2/1 περιείχαν 0.75% (w/v) άγαρ, 4.5% (w/v) ξηρή μαγιά, 3.5% (w/v) καλαμποκάλευρο, 5.5% (w/v) Σουκρόζη, 0.4% (v/v) Προπιονικό οξύ, 2.5% (v/v) nipagen διαλυμένο σε 10% απόλυτη αιθανόλη. Standard τροφή με υδατάνθρακες/πρωτεΐνες 8/1 περιείχε τις ίδιες συγκεντρώσεις συστατικών με τετραπλή αύξηση της συγκέντρωσης της Σουκρόζης (22% w/v).

## **1.2 Προσθήκη αντιοξειδωτικών**

### **Κουρκουμίνη, Super fruit (Natures's Plus co.)**

Η συγκέντρωση της κουρκουμίνης στη τροφή (υ/π:2/1) ήταν 100 mM ενώ του SF ήταν 50 mM. Τα αντιοξειδωτικά προστέθηκαν κατά την παρασκευή της τροφής αφού η θερμοκρασία της είχε πέσει κάτω από ~35 °C. Ενήλικα αρσενικά και θηλυκά άτομα καλλιεργήθηκαν σε τροφή με προσθήκη των αντιοξειδωτικών (Εικόνα). Τα αυγά που αφέθηκαν και οι προνύμφες οι οποίες προήλθαν από αυτά συνέχισαν να μεγαλώνουν μέχρι το στάδιο της μεταμόρφωσης στην ίδια τροφή. Τα ενήλικα άτομα αποτελούσαν 3 ομάδες. Η πρώτη ομάδα (μάρτυρες) αποτελούνταν από άτομα που προήλθαν από προνύμφες που τράφηκαν σε δίαιτα χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικών. Η δεύτερη και η Τρίτη ομάδα αποτελούνταν από άτομα που προήλθαν από προνύμφες που τράφηκαν σε δίαιτα με την προσθήκη αντιοξειδωτικών SF και Κουρκουμίνη αντίστοιχα. Κατόπιν οι τρεις αυτές ομάδες διαχωρίστηκαν ως προς το φύλο. Τέλος δημιουργήθηκαν δύο σύνολα από έξι πληθυσμούς; το ένα σύνολο με άτομα τα οποία τράφηκαν καθόλη τη διάρκεια της ζωής τους με δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας υδατανθράκων (υ/π:2/1), το δεύτερο σύνολο με άτομα τα οποία τράφηκαν καθόλη τη διάρκεια της ζωής τους με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας υδατανθράκων (υ/π:8/1; Εικόνα).



Εικόνα. Πειραματική διαδικασία διατροφικού χειρισμού στο Oregon. Κύκλος ζωής της *Drosophila*. Φωτογραφία φιαλιδίου με τροφή και ένα αρσενικό άτομο.



### 1.3 ΣΕΙΡΕΣ-ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΙΣ

Η καλλιέργεια των μυγών (*Drosophila melanogaster*) έλαβε χώρα σε πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια ( 8x3 cm) που περιέχουν περίπου 12 ml θρεπτικού μέσου. Το θρεπτικό μέσο χρησιμοποιήθηκε τόσο για τη θρέψη των ζώων όσο και για την εναπόθεση των αυγών τους. Τα φιαλίδια με τις μύγες διατηρούνται σε συνθήκες υψηλής υγρασίας (60-80%) και σταθερής θερμοκρασίας (24°C). Για τα πειράματα της παρούσας διατριβής χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες σειρές: Οι αγρίου τύπου σειρές Oregon-R και Lausanne'S, οι διαγονιδιακές σειρές W1118 και Methuselah και μεταλλαγμένα στελέχη CORL, yw (πατρική σειρά) .

### 1.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΔΙΑΦΥΓΗΣ μέσω μηχανικού ερεθίσματος

Σε πολλά είδη εντόμων συμπεριλαμβανομένου του είδους *Drosophila melanogaster* εμφανίζεται αρνητικός γεωτακτισμός, ο οποίος ορίζεται ως η τάση των ατόμων να αναρριχώνται αυθόρμητα προς τα πάνω, σε αντίθετη κατεύθυνση από αυτήν της βαρύτητας. Αυτή η εγγενής συμπεριφορά γίνεται αντιληπτή όταν ένα άτομο εν ηρεμία δεχτεί κάποιο οπτικό ή μηχανικό ερέθισμα το οποίο αντιλαμβάνεται ως απειλητικό. Επειδή η συμπεριφοράς διαφυγής απαιτεί ταχεία και πλήρη ενεργοποίηση του εγκεφάλου και του νευρομυϊκού συστήματος, αποτελεί μία αξιόπιστη δοκιμασία ελέγχου της κινητικής κατάστασης του ατόμου. Πιθανές αλλαγές στην κινητική κατάσταση κατά την γήρανση αφορούν: (1) στα γενικά επίπεδα κινητικής δραστηριότητας του ατόμου και (2) την ταχύτητα αντίδρασης στο μηχανικό ερέθισμα (3) την ύπαρξη ή όχι δυσλειτουργιών.

Ενήλικα άτομα στην ηλικία των εξήντα ημερών απομονώθηκαν σε φιαλίδια με τροφή (1 άτομο/φιαλίδιο) και μελετήθηκε η συμπεριφορά διαφυγής καθημερινά για το υπόλοιπο της ζωής τους. Για την μελέτη της συμπεριφοράς διαφυγής, εφαρμόστηκε ένα

πρωτόκολλο ερεθισμού με 3 ελαφρά χτυπήματα του φιαλιδίου, που περιέχει το έντομο, στην επιφάνεια της πειραματικής τράπεζας. Ανάμεσα στα τρία αυτά ερεθίσματα μεσολαβούσε ένα διάστημα πέντε δευτερολέπτων κατά το οποίο καταγραφόταν η συμπεριφορά διαφυγής της μύγας σε κάθε ερέθισμα. Τα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς που καταγράφηκαν ήταν τα εξής: 1) Φυσιολογική συμπεριφορά διαφυγής ως απόκριση στο ερέθισμα, όπου το έντομο καταφέρνει να αναρριχηθεί μέχρι την κορυφή του φιαλιδίου. 2) Η εμφάνιση κάποιου κινητικού προβλήματος, π.χ. χλωτότητα, μη συμμετοχή κάποιου(ων) ποδιού(ών) κατά τη βάρδιση. 3) Ελαφρά δυσλειτουργία αναρρίχησης. Όταν κάποιο κινητικό πρόβλημα στα πόδια εμποδίζει την αναρρίχηση μέχρι την κορυφή του φιαλιδίου. 4) Βαριά δυσλειτουργία αναρρίχησης. Η δυσλειτουργία αυτή κυμαίνεται από περιπτώσεις μερικής αποτυχίας αναρρίχησης (το άτομο πέφτει μετά από αναρρίχηση μικρής απόστασης) έως περιπτώσεις ολικής επιτυχίας αναρρίχησης (το άτομο αποτυγχάνει πλήρως να αναρριχηθεί). 5) Μειωμένη ανταπόκριση στο ερέθισμα. Το άτομο είτε αντιδρά μόνο με μερικά βήματα ή δεν αντιδρά στο ερέθισμα καθόλου.

Τέλος, βρέθηκαν και μερικά άτομα ανάσκελα που ήταν ανίκανα να περπατήσουν και τα οποία όπως παρατηρήθηκε πεθαίνουν εντός εικοσιτεσσάρων ωρών. Τα άτομα που παρουσίαζαν αυτή την κατάσταση χαρακτηρίζονταν ως άτομα που βρίσκονταν στο τελευταίο στάδιο ζωής τους.

Πρωτόκολλα προκλητού θανάτου σε νεαρή ηλικία.

1. Πρωτόκολλο στέρησης τροφής και νερού.

Αρσενικά και θηλυκά άτομα ηλικίας 5 ημερών τοποθετήθηκαν σε άδεια φιαλίδια (αποστέρηση νερού και τροφής) ή σε φιαλίδια τα οποία περιείχαν 1% άγαρ διαλυμένο σε νερό (αποστέρηση νερού).

2. Πρωτόκολλο επαγωγής οξειδωτικού θανάτου

Αρσενικά και θηλυκά άτομα ηλικίας 5 ημερών τοποθετήθηκαν σε άδεια φιαλίδια (αποστέρηση νερού και τροφής) για 7 ώρες και κατόπιν μεταφέρθηκαν σε φιαλίδια με τροφή που περιείχε 1% άγαρ, 5% Sucrose και 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Η φυσική κατάσταση των ατόμων ελεγχόταν κάθε τρεις ώρες μέσω μηχανικού ερεθίσματος.

## 1.5 ΗΛΕΚΤΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΓΡΑΦΕΣ

Το ηλεκτροφυσιολογικό σύστημα (electrophysiological set-up) αποτελείται από μία αντικραδασμική τράπεζα, έναν κλωβό Faraday, ένα στερεοσκόπιο και έξι μικροχειριστές. Ο ένας μικροχειριστής χρησιμοποιείται για την οπτική ίνα ψυχρού φωτισμού, ο δεύτερος για το μεταλλικό στήριγμα πάνω στο οποίο ακινητοποιείται η μύγα. Οι υπόλοιποι τέσσερις μικροχειριστές, τέλος, χρησιμεύουν για τη μετακίνηση των ηλεκτροδίων που περιγράφονται παρακάτω.

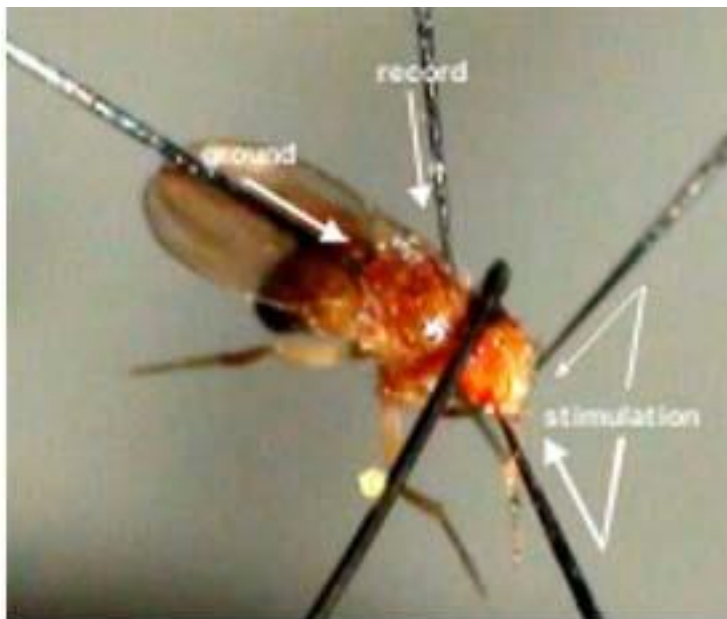
Δύο διεγερτικά μεταλλικά ηλεκτρόδια (στηριζόμενα σε δύο μικροχειριστές) συνδέονται με έναν εξωκυτταρικό διεγέρτη τύπου Grass S88 (Quincy, Mass., U.S.A.). Ομοίως, το καταγραφικό ηλεκτρόδιο και το ηλεκτρόδιο γείωσης (στηριζόμενα σε άλλους δύο μικροχειριστές) συνδέονται με έναν ενισχυτή (AC amplifier, model 1700). Η μετατροπή του αναλογικού σήματος σε ψηφιακό πραγματοποιείται μέσω analogue-to-digital converter, Digidata (1200 series interface, Axon Instruments), ο οποίος συνδέεται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Τα μεταλλικά ηλεκτρόδια ('tungsten') λεππύνονταν στην άκρη τους με ηλεκτρόλυση. Η ηλεκτρόλυση πραγματοποιείται σε διάλυμα (3.4g KOH και 7.1g NaNO<sub>2</sub> σε 10ml dH<sub>2</sub>O) με τη βοήθεια παλμών ρεύματος 20V, διάρκειας 4-5ms και συχνότητας 10Hz. Η όλη διαδικασία γίνεται με οπτική επίβλεψη μέσω στερεοσκοπίου ώστε να επιτυγχάνεται η κατάλληλη λέπτυνση του ηλεκτροδίου.

Για τα πειράματα αυτής της διατριβής χρησιμοποιήθηκαν ενήλικα άτομα (♀ & ♂) του εντόμου *Drosophila melanogaster*, ηλικίας 5 ημερών μετά την εκκόλαψη (eclosion). Τα άτομα αυτά υποβλήθηκαν σε συνθήκες στέρξης τροφής η/και νερού και σε οξειδωτικό stress μέσω χορήγησης H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (βλ. αντίστοιχα πρωτόκολλα). Το υποψήφιο προς καταγραφή άτομο αρχικά αναισθητοποιείται σε πορώδη επιφάνεια από την οποία εξερχόταν συνεχές ρεύμα CO<sub>2</sub>. Κατόπιν, το άτομο προσκολλάται με κυανοακρυλική κόλλα μεταξύ κεφαλής και θώρακα σε λεπτό μεταλλικό στέλεχος από 'tungsten' (υλικού από το οποίο κατασκευάζονται και τα ηλεκτρόδια). Το μεταλλικό στέλεχος με το έντομο τοποθετείται σε υποδοχέα που μετακινείται στις τρεις διαστάσεις μέσω μικροχειριστή. Πριν την τοποθέτηση των ηλεκτροδίων, η ακινητοποιημένη μύγα παρέμενε για 30-60

min σε χώρο υψηλής υγρασίας (60-80%) και σταθερής θερμοκρασίας (24°C) για να ανανήψει από την αναισθησία.

Για την άμεση ή έμμεση διέγερση του ΓΝ τα διεγερτικά ηλεκτρόδια εισέρχονται στα μάτια. Η διέγερση του κυκλώματος των ενδονευρώνων του οπτικού λοβού που δίνουν σήμα εισόδου στον ΓΝ (έμμεση διέγερση του ΓΝ) απαιτεί επιφανειακή εισχώρηση της άκρης των ηλεκτροδίων στους οφθαλμούς, ενώ η διέγερση επιτυγχάνεται με ρεύμα χαμηλής τάσης (7-8V). Η εισχώρηση των ηλεκτροδίων σε βαθύτερα στρώματα του οφθαλμού και η διέγερση με υψηλότερη τάση (15-20V) προκαλεί κατευθείαν διέγερση του ΓΝ (Engel and Wu, 1992, 1996). Το ηλεκτρόδιο της γείωσης εισέρχεται στον θυρεό (scutellum) του εντόμου, τη ραχιαία περιοχή μεταξύ θώρακα και κοιλιάς. Το καταγραφικό ηλεκτρόδιο εισέρχεται στη ραχιαία περιοχή του θώρακα για να καταγραφεί το μυϊκό δυναμικό από τους ραχιαίους επιμήκεις μυς (PEMs) (Dorsal Longitudinal Muscles-DLMs) (Tanouye and Wyman, 1980; Engel and Wu, 1992) .



**Τοποθέτηση ηλεκτροδίων σε ζωντανό άτομο**

## 1.6 Ηλεκτροφυσιολογικές παράμετροι

### **Απόκριση (A) (Latency Response-LR)**

Μακρόχρονη απόκριση (MA) (Long-Latency Response-LLR): Είναι ο χρόνος (ms) που απαιτείται για τη μετάδοση του σήματος από τους προσυναπτικούς νευρώνες του ΓΝ στους ΡΕΜς.

Βραχύχρονη απόκριση (BA) (Short-Latency Response-SLR): Είναι ο χρόνος (ms) που απαιτείται για τη μετάδοση του σήματος από τον ΓΝ (άμεση διέγερση) στους ΡΕΜς. Τόσο για την μακρόχρονη όσο και για τη βραχύχρονη απόκριση, ο χρόνος μετάδοσης του σήματος υπολογίστηκε ως το χρονικό διάστημα ανάμεσα στην αρχή του παράσιτου ερεθίσματος (stimulus artifact) και την έναρξη του μυϊκού δυναμικού ενέργειας. Η τελική τιμή του χρόνου μετάδοσης του σήματος (MA ή BA) προέκυψε από τον μέσο όρο 5 τιμών δυναμικών ενέργειας.

### **Ανερέθιστη περίοδος (ΑΠ) (Refractory Period-RP)**

Ανερέθιστη περίοδος, στη συγκεκριμένη περίπτωση, είναι ο ελάχιστος δυνατός χρόνος (ms) που απαιτείται, ανάμεσα σε δύο συνεχόμενα ερεθίσματα (twin pulse stimuli) που δίνονται στον ΓΝ (άμεσα ή έμμεσα) ώστε να προκληθούν δύο επιτυχείς απαντήσεις (δυναμικά ενέργειας) από τους μυς ΡΕΜς. Στην περίπτωση που ο χρόνος ανάμεσα στα δύο ερεθίσματα (interstimulus interval) είναι μικρότερος της ανερέθιστης περιόδου, τότε επιτυχημένη απάντηση (δυναμικό ενέργειας) λαμβάνεται μόνο μετά το πρώτο ερέθισμα, κι όχι μετά το δεύτερο. Μετά το τέλος κάθε δοκιμασίας (trial) υπήρχε αναμονή 5sec, πριν την έναρξη της επόμενης, ώστε το αποτέλεσμα να μην αλλοιωνόταν από πιθανή κόπωση του κυκλώματος (Engel and Wu, 1992).

### **Επαγόμενη συχνότητα (ΕΣ) (Following Frequency-FF)**

Επαγόμενη συχνότητα 50% (ΕΣ50) (Following Frequency-FF50): Πρόκειται για μέτρηση της πιστότητας μετάδοσης του σήματος σε υψηλές συχνότητες. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο αυτής της παραμέτρου, ο ΓΝ διεγείρεται με 3 διαδοχικές ριπές (train), 10 ερεθισμάτων η καθεμία, τα οποία έχουν την κατάλληλη συχνότητα ώστε από τα 30

συνολικά ερεθίσματα να καταγραφούν 15 (50%) συνολικά απαντήσεις (μυϊκά δυναμικά ενέργειας). Μεταξύ των τριών διαδοχικών ριπών μεσολαβούσε χρόνος των 5sec, έτσι ώστε η τελική τιμή της συχνότητας (ΕΣ50) να μην επηρεάζεται από πιθανή κόπωση του κυκλώματος (Engel and Wu, 1992).

## ΛΟΓΙΣΜΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

**α) Axon Clampex 8.1:** Χρησιμοποιήθηκε στον υπολογιστή της διάταξης ηλεκτροφυσιολογικών πειραμάτων για τη λήψη και την ανάλυση των καταγραφών.

**β) CorelDRAW 12.0 Graphic:** Πρόκειται για γραφιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία των καταγραφών και τη σχεδίαση εικόνων.

**γ) Microsoft Excel:** Χρησιμοποιήθηκε για την αποθήκευση δεδομένων, το σχεδιασμό διαγραμμάτων και τη στατιστική ανάλυση.

**δ) Graphpad 6:** Χρησιμοποιήθηκε για τη στατιστική ανάλυση. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μετρήθηκαν ως εξής: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ ).

**ε) Microsoft Word:** Χρησιμοποιήθηκε για τη συγγραφή της διδακτορικής διατριβής.

**ζ) EndNote X7:** Χρησιμοποιήθηκε για τη συγγραφή της βιβλιογραφίας της διδακτορικής διατριβής

# **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

## 1. Γήρανση και φυσιολογικός θάνατος στη *Drosophila*

### 1.1 Επιμήκης μελέτη της κινητικής κατάστασης

Οι μεταβολές της κινητικής κατάστασης της τελευταίας περιόδου της ζωής μέχρι και την ημέρα του θανάτου μελετήθηκαν μέσω της παρατήρησης της κινητικής κατάστασης στη δοκιμασία διαφυγής μετά από ερέθισμα. (βλ. Μέθοδοι και υλικά: Η δοκιμασία διαφυγής περιελάμβανε την αντίδραση του ζώου μετά από σειρά ερεθισμάτων (κρούση του φιαλιδίου που περιείχε το άτομο σε σκληρή επιφάνεια). Η πλέον συχνή αντίδραση διαφυγής είναι η άμεση αναρρίχηση του εντόμου στα τοιχώματα του φιαλιδίου. Εναλλακτικά το ζώο μπορεί να αντιδράσει στο ερέθισμα με άλμα ή μια μικρή πτήση. Η κινητοποίηση του ζώου παρέχει την δυνατότητα να εξεταστεί η κινητική κατάσταση του. Τα υγιή ζώα αντιδρούν άμεσα και αναρριχώνται με ταχύτητα μέχρι την κορυφή του φιαλιδίου. Λίγο πριν τον θάνατο τα περισσότερα ζώα εμφανίζουν δυσλειτουργίες που μπορούν να κατηγοριοποιηθούν:

1. Εμφάνιση δυσλειτουργιών στη βάδιση (Εικ. 1Α) ή/και στη στάση του σώματος (Εικ. 1Β).
2. Μερική ή ολική αποτυχία αναρρίχησης (Εικ. 1Γ, Δ). Ανάλογα με το βαθμό δριμύτητας διακρίνονται 4 υποκατηγορίες: I. Υπία δυσλειτουργία (το άτομο διατηρεί την ικανότητα αναρρίχησης παρά την εμφάνιση κάποιας άλλης δυσλειτουργίας, II. Μέτρια δυσλειτουργία (το άτομο είναι ικανό για μερική αναρρίχηση), III. Βαριά δυσλειτουργία (το άτομο είναι ικανό να αναρριχηθεί αλλά όχι να κρατηθεί στα τοιχώματα του φιαλιδίου με αποτέλεσμα την πτώση του) και IV. Ολική δυσλειτουργία (το άτομο εμφανίζει πλήρη αποτυχία αναρρίχησης).
3. Εκπτώση της ταχύτητας αντίδρασης στο ερέθισμα.
4. Εκπτώση της ταχύτητας βάδισης και αναρρίχησης.
5. Παράδοση συμπεριφορά. (έντονη και παρατεταμένη βάδιση στην επιφάνεια της τροφής χωρίς διάθεση αναρρίχησης, επιθετική συμπεριφορά ελλείψει αντιπάλου, ύπτια θέση χωρίς κίνηση (Εικ.1Ε), κώμα και αυθόρμητη επαναφορά στη φυσιολογική κατάσταση).



6. Προθανάτιες δυσλειτουργίες. Όλα τα άτομα ανεξάρτητα από την εμφάνιση δυσλειτουργιών (1-5) ή όχι μέχρι την τελευταία ημέρα θανάτου, διέρχονται από το στάδιο κατάρρευσης του οργανισμού που διαρκεί κατά μέσο όρο 90 λεπτά (Α. Γαιτανίδης Δ.Δ 2013; Gaitanidis et al, submitted). Κατά το στάδιο αυτό το άτομο χάνει αρχικά την ικανότητα αναρρίχησης κατόπιν την ικανότητα βάδισης, καταλαμβάνει την ύπτια προθανάτια στάση, εμφανίζει αυθόρμητες, επαναλαμβανόμενες κινήσεις των άκρων -κλωνική διαταραχή-, επαναλαμβανόμενη εξώθηση και απόσυρση της προβοσκίδας.

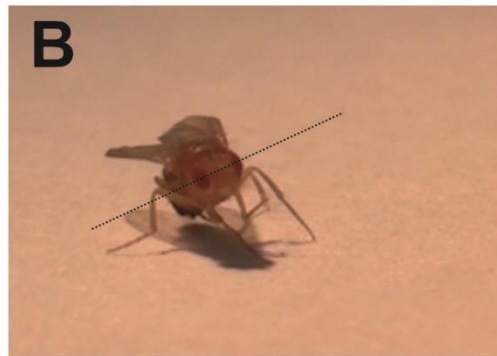
7. Απώλεια αυθόρμητων και αντανακλαστικών κινήσεων, γεγονός που υποδηλώνει τον θάνατο του ατόμου.

Για όλους τους πληθυσμούς (βλ. παρακάτω), κάθε άτομο διερχόταν τη δοκιμασία διαφυγής μια φορά την ημέρα από την ηλικία των 60 ημερών μέχρι το θάνατο του. Κατά αυτόν τον τρόπο έγινε δυνατό να δημιουργηθεί το ιστορικό της κινητικής κατάστασης για κάθε άτομο μέχρι και τη στιγμή του θανάτου του. Στην εικόνα 2Α, Β περιγράφεται η κινητική κατάσταση κάθε ενός από τα 102 άτομα του πληθυσμού σε όλη τη διάρκεια της ζωής (Εικ.2Α). Τα περισσότερα άτομα εμφάνισαν δυσλειτουργίες για 1 ή περισσότερες ημέρες πριν το θάνατο (Εικ. 2Α, μαύρη μπάρα). Ένα σημαντικό ποσοστό των ατόμων όμως δεν παρουσίασε καμία δυσλειτουργία μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. 2Α, γκρι μπάρα). Αυτά τα άτομα καταρρέουν μέσα σε διάστημα ωρών και πεθαίνουν.

Δυσλειτουργία στη βάδιση



Δυσλειτουργία στη στάση



Δυσλειτουργία στην αναρρίχηση



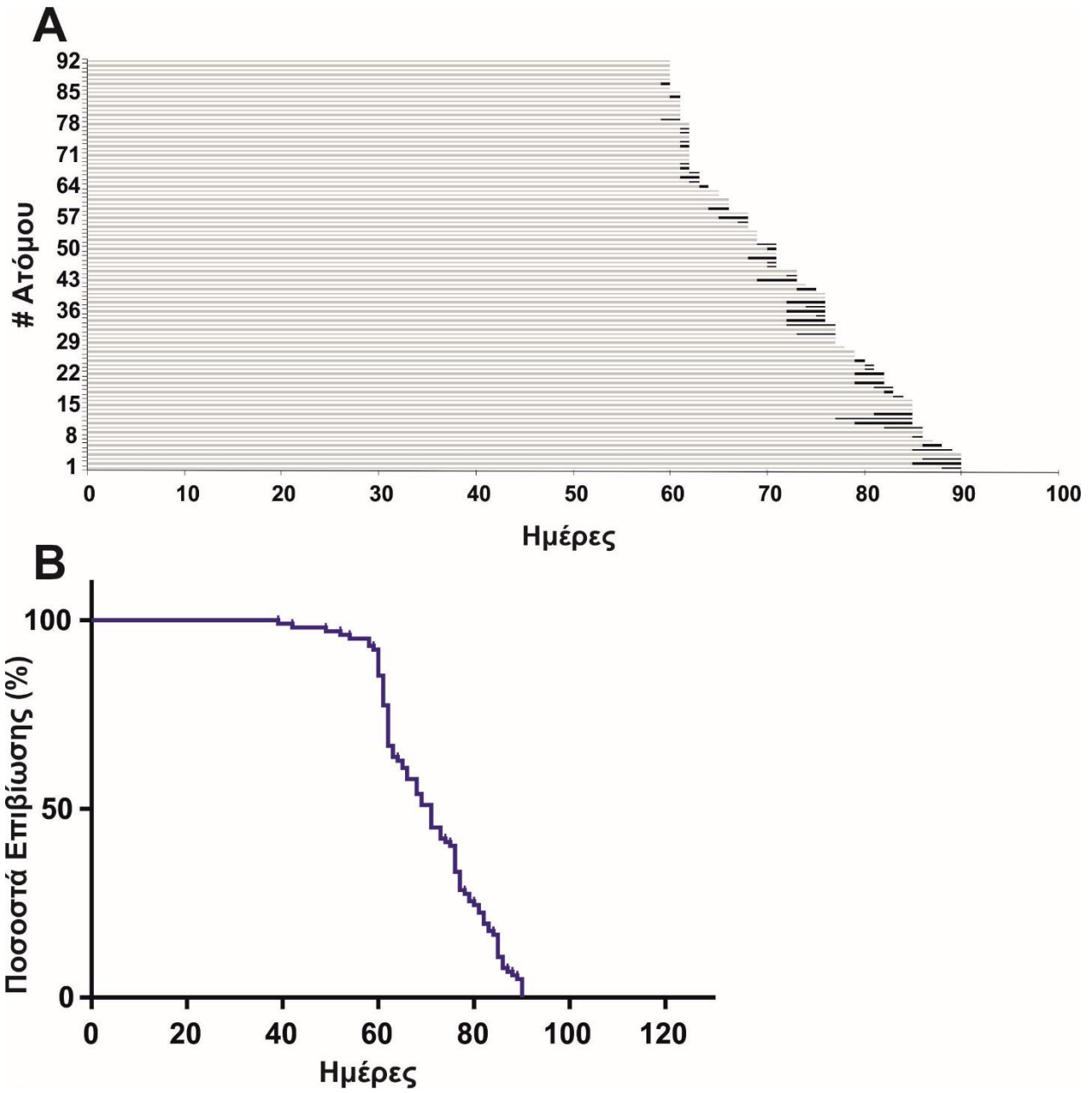
Προθανάτια στάση (ανάσκελα)



Νεκρό άτομο



**Εικόνα 1:** Α-Δ. Φωτογραφίες από ηλικιωμένα άτομα με κινητικές δυσλειτουργίες. Ε. Άτομο στο τελευταίο στάδιο ζωής. Ζ. Νεκρό άτομο.



**Εικόνα 2. A.** Διαγραμματική απεικόνιση της περιόδου υγιούς και μη-υγιούς συμπεριφοράς που εμφάνισε καθένα από τα 102 άτομα. Οι καταγραφές γίνονταν σε κάθε ένα από τα άτομα του πληθυσμού καθημερινά από την ηλικία των 60 ημερών έως τον θάνατο τους. **B.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού.

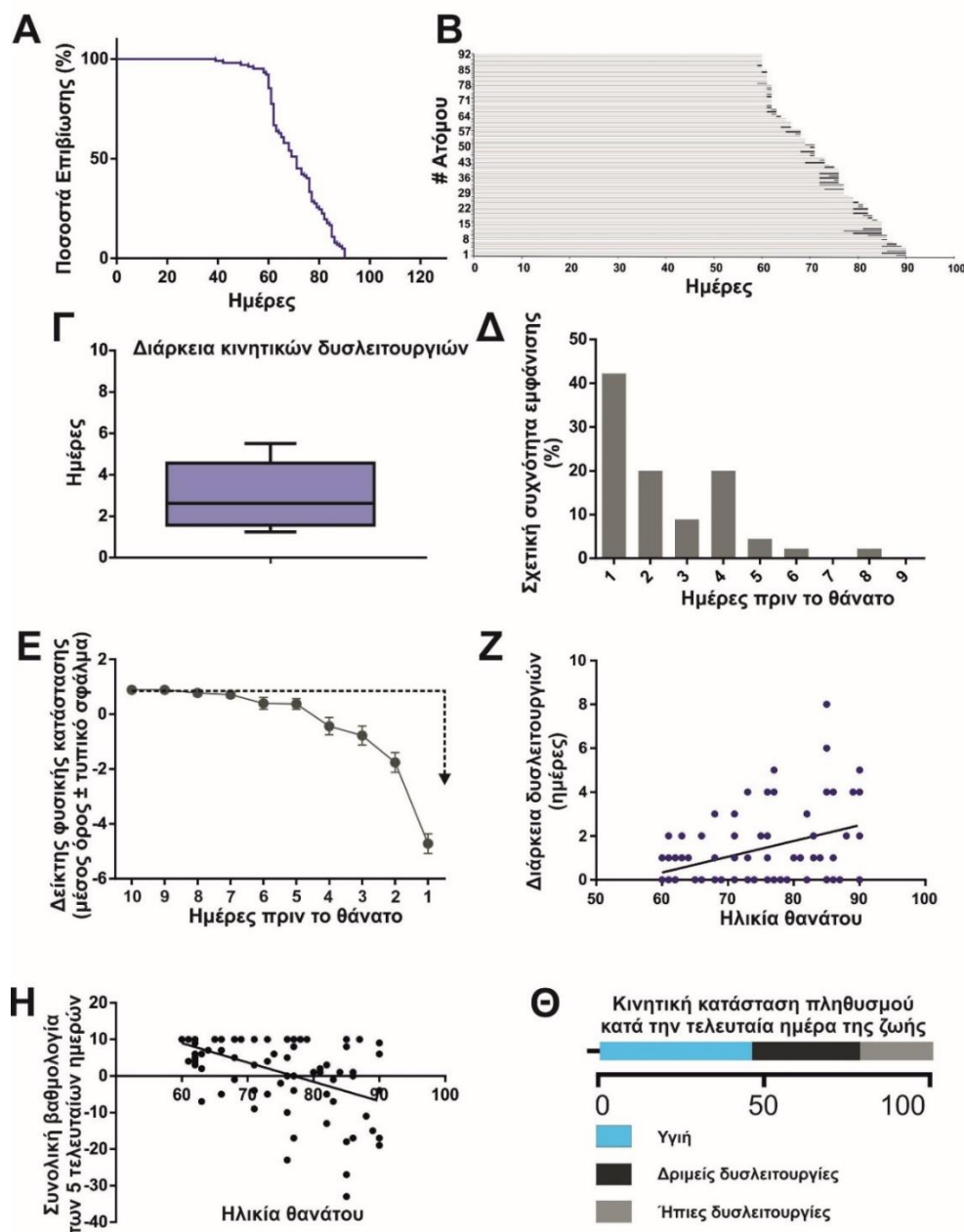
## 1.2 Διατροφικοί χειρισμοί

Πληθυσμός Oregon-R

1. Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. 3Α., N=102 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 71ης ημέρας (P50=71). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο αρσενικό πέθανε την 90η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. 3Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-8 ημέρες (Εικ. 3Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 60% των ατόμων τις 2 τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ λιγότερο από το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 4 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. 3Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. 3Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Μέτριος θετικός συσχετισμός ( $r=0.3565$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Ισχυρός αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.5477$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 45.88% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).

## Oregon-R; Αρσενικά - Υ/Π: 2/1



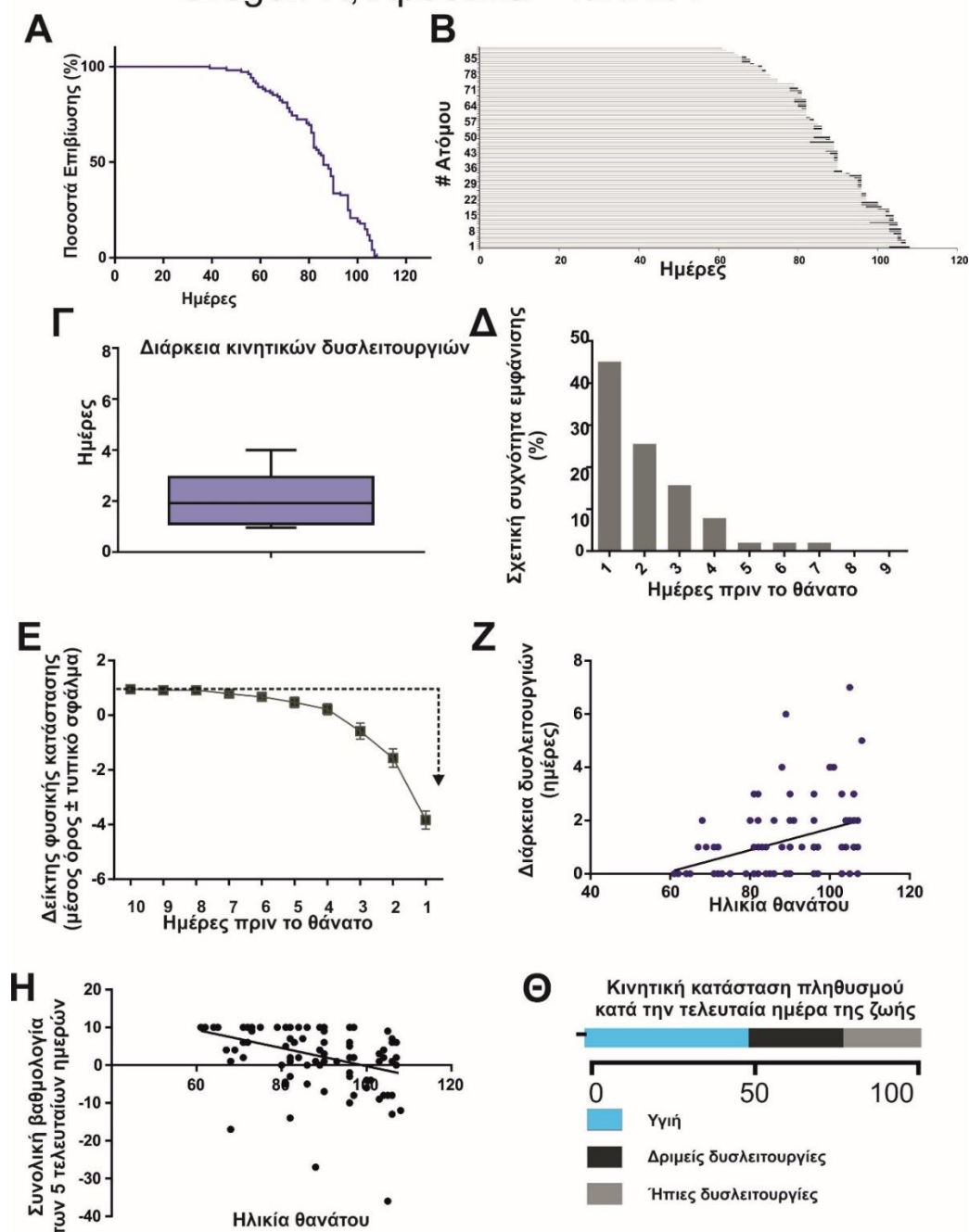
**Εικόνα 3.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρι χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 2. Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1 και SF

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=101 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40<sup>ης</sup> και 86<sup>ης</sup> ημέρας (P50=86). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40<sup>η</sup> ημέρα, ενώ το μακροβιότερο αρσενικό πέθανε την 108<sup>η</sup> ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-4 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 70% των ατόμων τις 3

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 4 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ, Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 4 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ, Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Μέτριος θετικός συσχετισμός ( $r=0.3370$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Μέτριος αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.399$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 48,89% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγιών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).

## Oregon-R; Αρσενικά - Υ/Π: 2/1



**Εικόνα 4.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

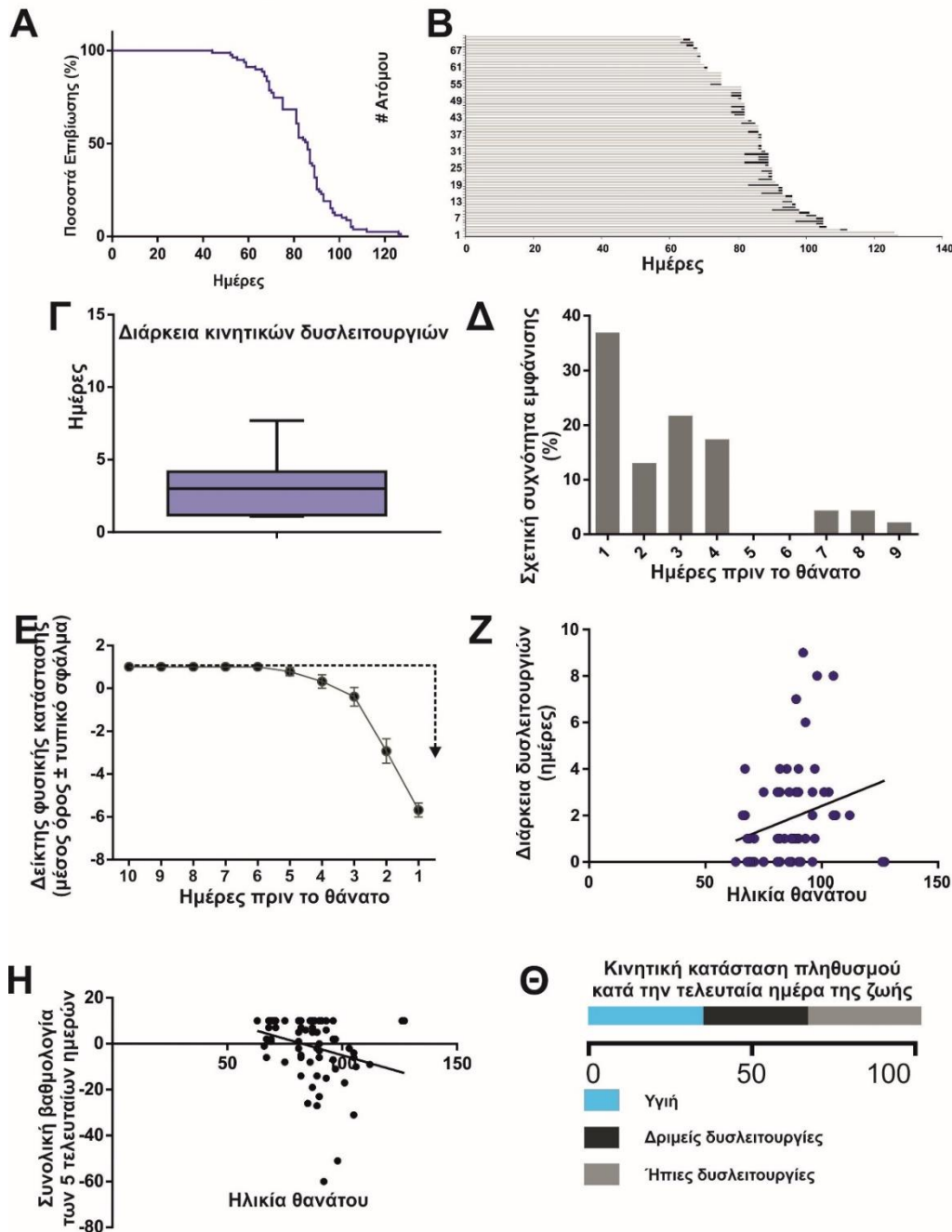
### 3. Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1 και Cur

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=79 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 86ης ημέρας (P50=86). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο αρσενικό πέθανε την 127η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-10 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 70% των ατόμων τις 3

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 4 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 4 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Μέτριος θετικός συσχετισμός ( $r=0.3368$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Μέτριος αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.352$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 34.72% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγιών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).



## Oregon-R; Αρσενικά - Υ/Π: 2/1



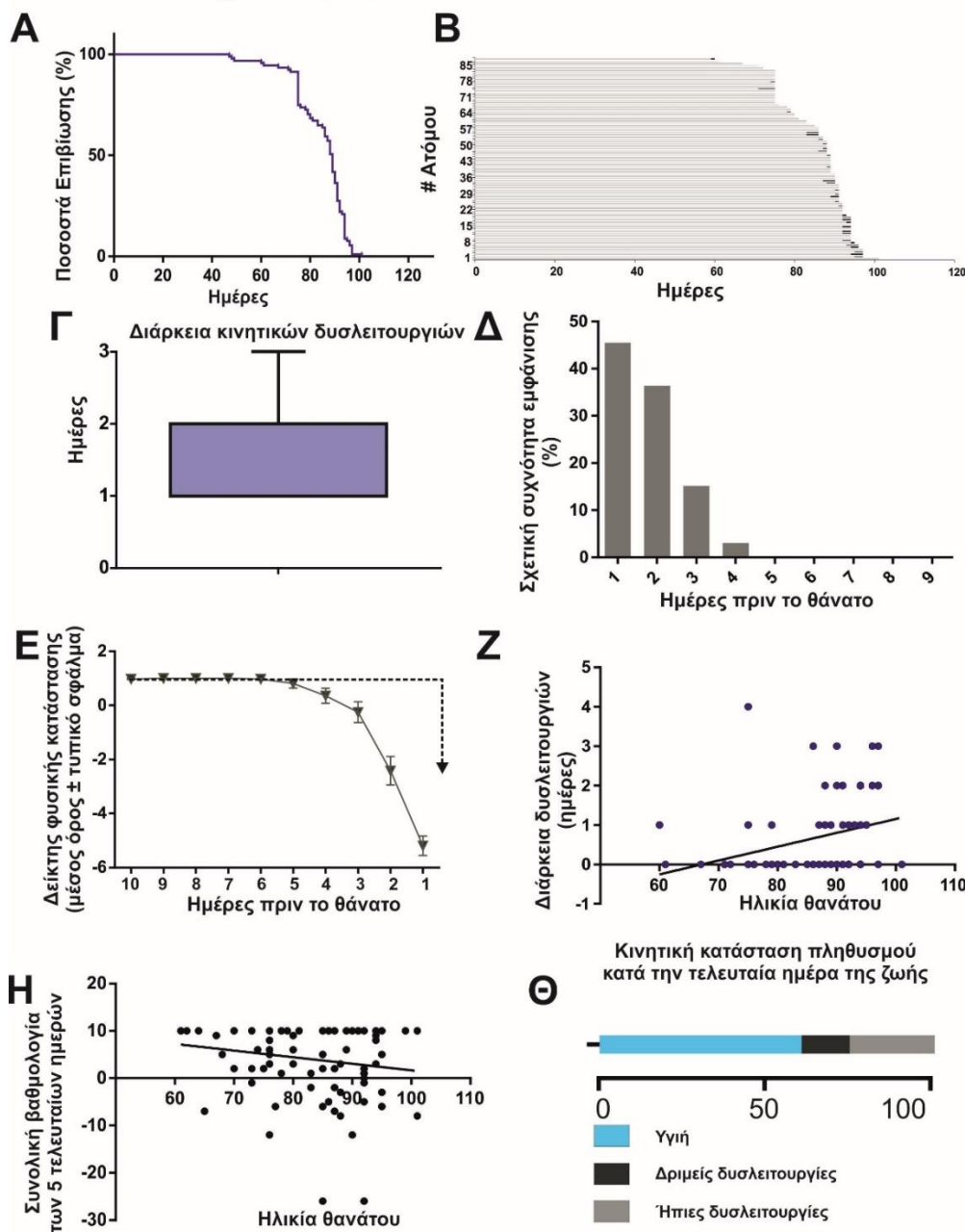
**Εικόνα 5.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

#### 4. Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=8/1

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=91 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 45ης και 89ης ημέρας (P50=89). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 45η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο αρσενικό πέθανε την 101η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-3 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 70% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 3 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Μέτριος θετικός συσχετισμός ( $r=0.3879$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Ασθενής αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.1599$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 60.46% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).

## Oregon-R; Αρσενικά - Υ/Π: 8/1



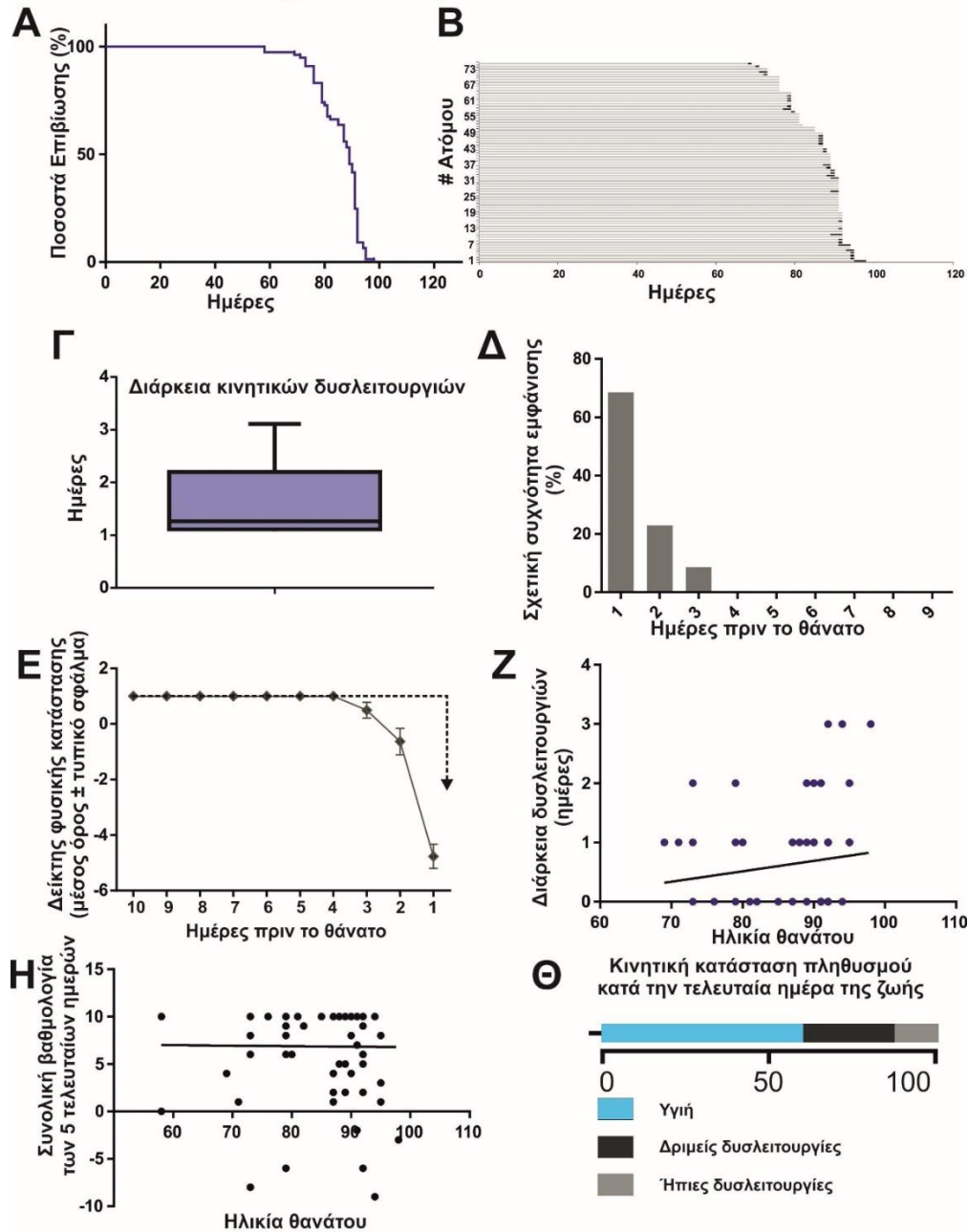
**Εικόνα 6.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικίας θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 5. Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=8/1 και SF

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=77 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 70ης και 89ης ημέρας (P50=89). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 60η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο αρσενικό πέθανε την 98η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-3 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 80% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 3 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 2 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.1111$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Κανένας συσχετισμός ( $r=-0.055$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η). Τέλος το 60% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγείων-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).

## Oregon-R; Αρσενικά - Υ/Π: 8/1 + SF



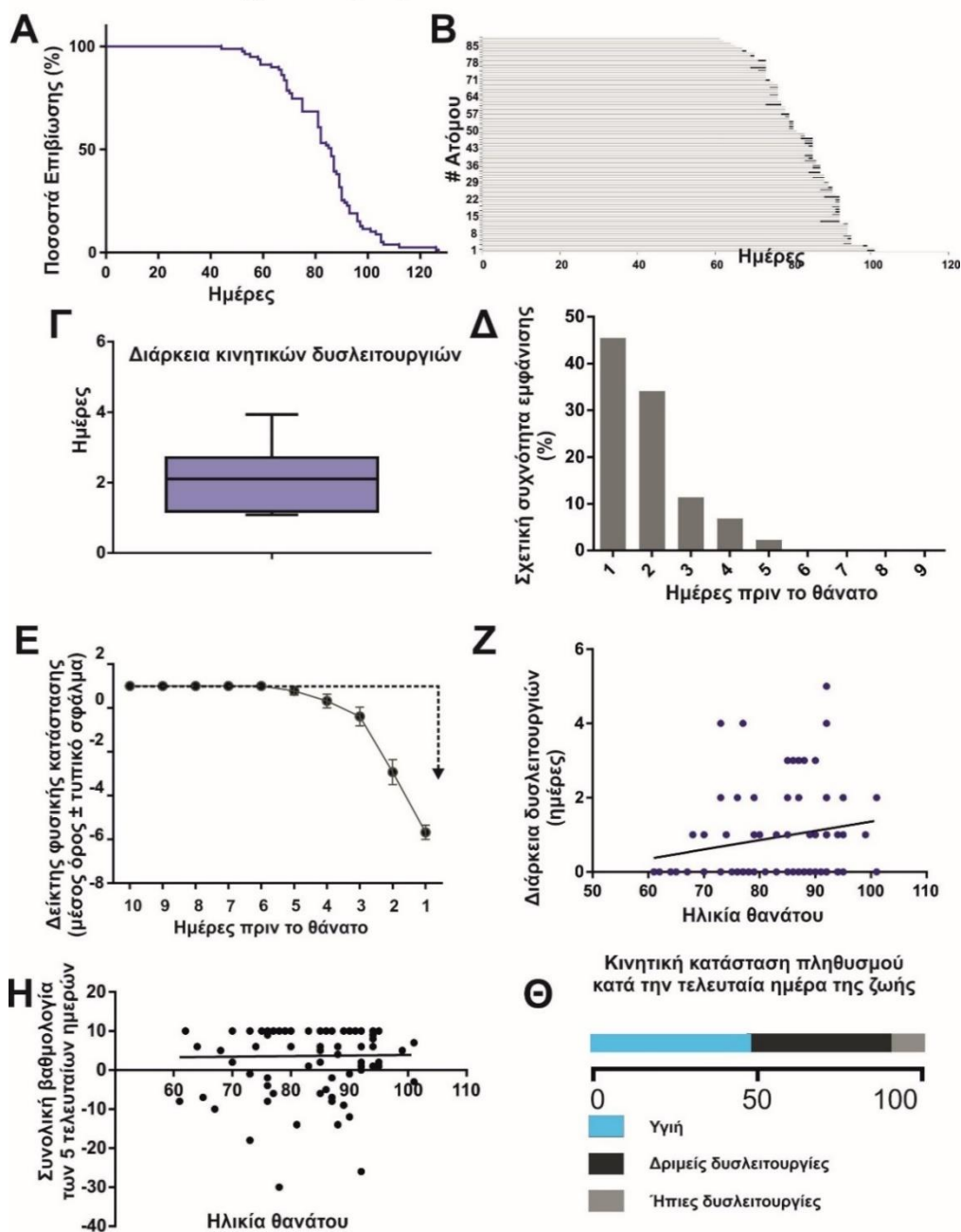
**Εικόνα 7.** **Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 6. Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=8/1 και Cur

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. Α., N=94 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 84ης ημέρας (P50=84). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο αρσενικό πέθανε την 101η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-4 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 70% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 3 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 2 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.2085$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Δεν υπάρχει συσχετισμός ( $r=-0.0832$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η). Τέλος το 48.31% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).

## Oregon-R; Αρσενικά - Υ/Π: 8/1 + Cur



**Εικόνα 8.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειπουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειπουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειπουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Z.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειπουργιών και της ηλικίας θανάτου. **H.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

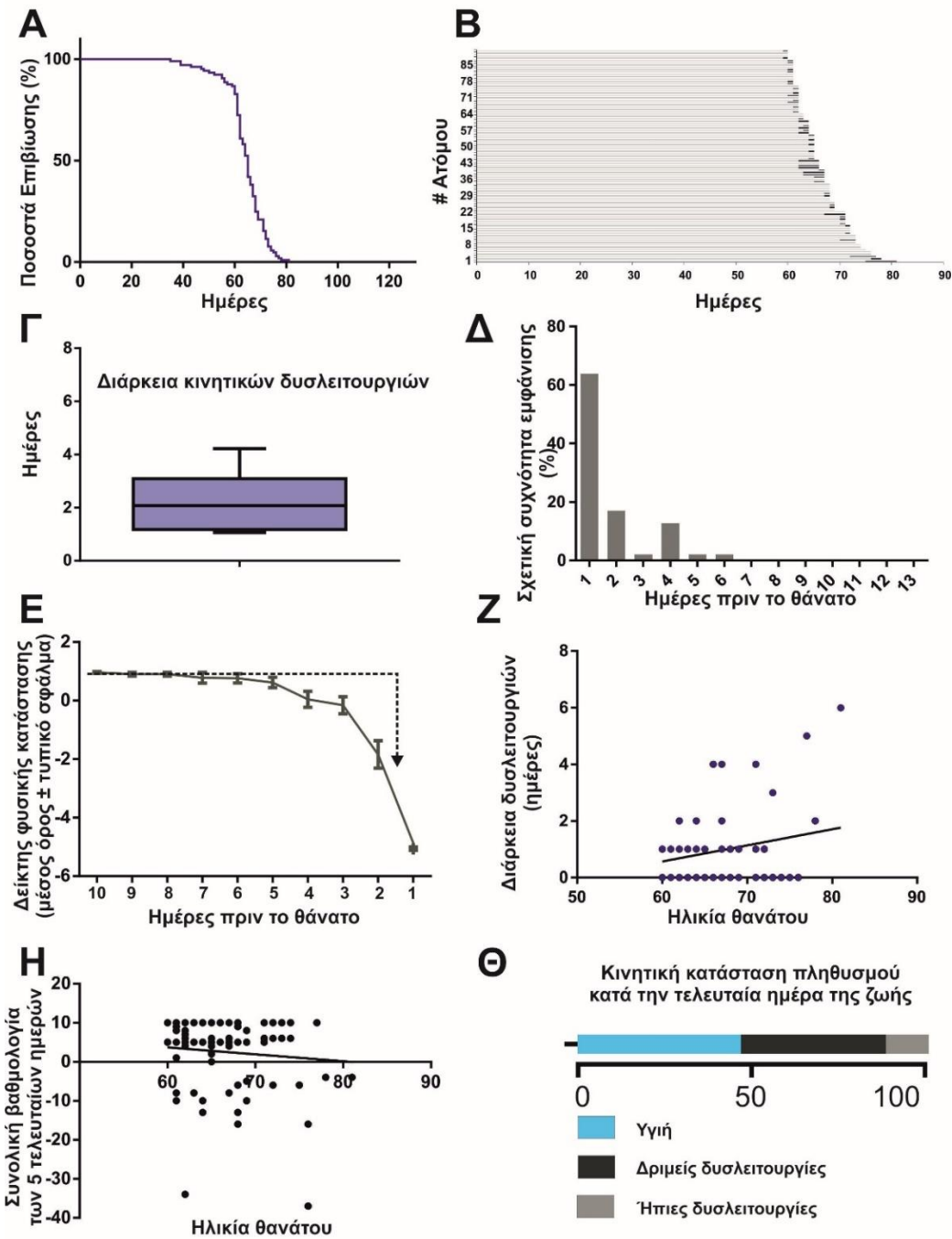
## 7.Θηλυκά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτείνες=2/1

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=105 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 65ης ημέρας (P50=65). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 38η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 81η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-5 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 60% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 4 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 2 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.0090$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Δεν υπάρχει συσχετισμός ( $r=-0.049$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η). Τέλος το 46.67% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).



## Oregon-R; ΘΗΛΥΚΑ - Υ/Π: 2/1



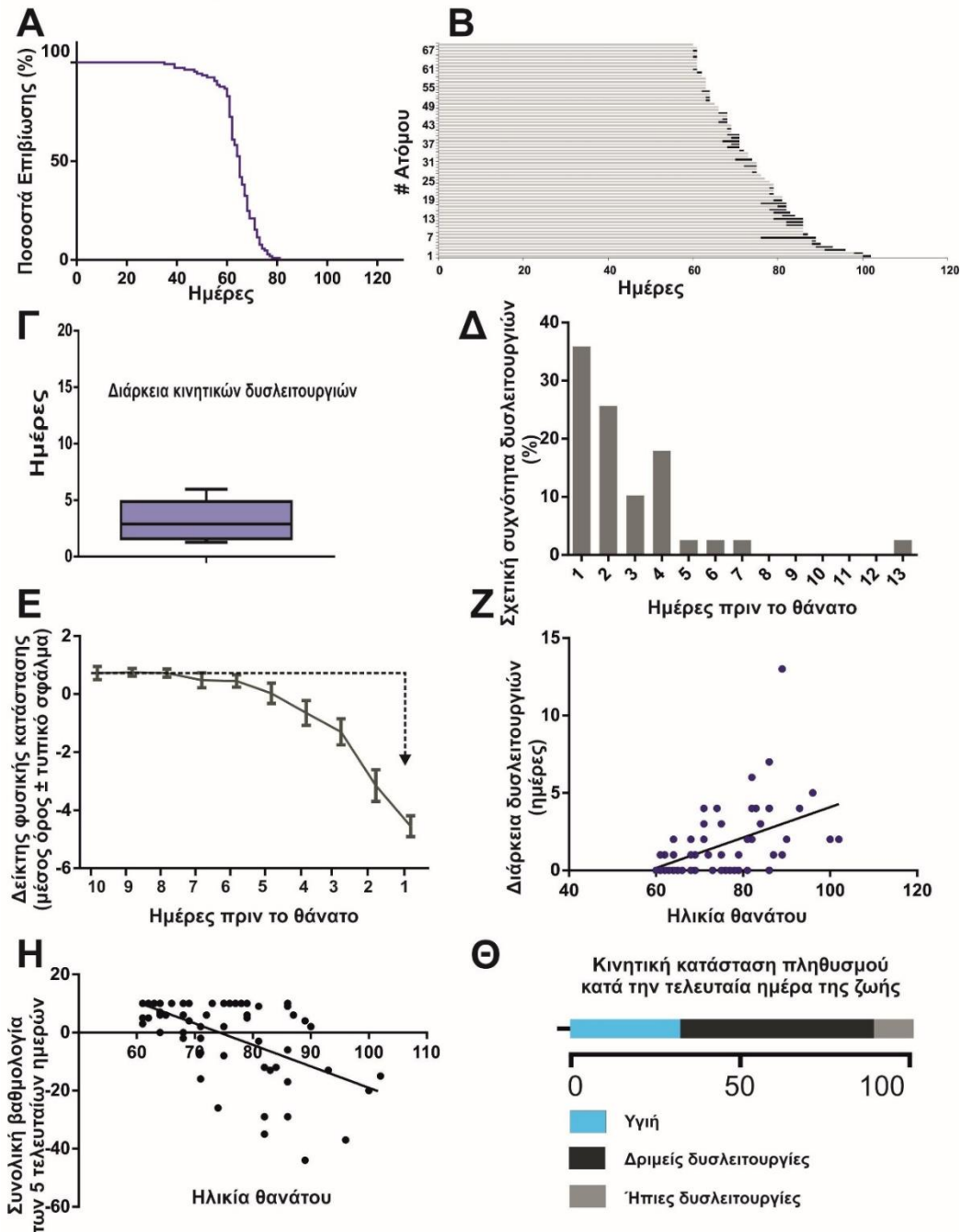
**Εικόνα 9.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **E.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Z.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **H.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 8.Θηλυκά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1 και SF

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=79 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 65ης ημέρας (P50=71). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 102η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-7 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 60% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 4 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Ισχυρός θετικός συσχετισμός ( $r=0.4917$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Ισχυρός αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.543$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 43.07% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).

## Oregon-R; ΘΗΛΥΚΑ - Υ/Π: 2/1+SF



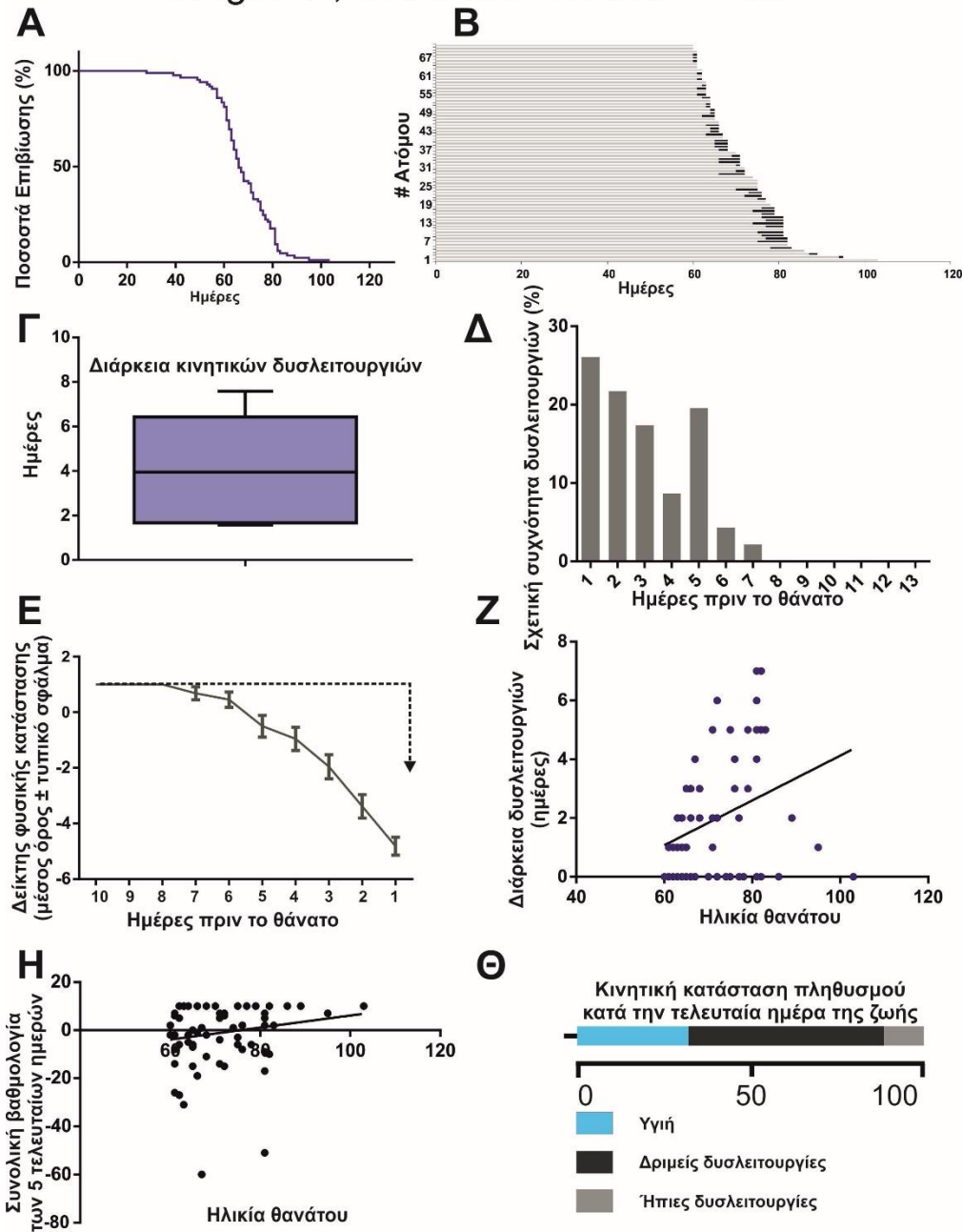
**Εικόνα 10.** **Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρι χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 9.Θηλυκά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1 και Cur

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=85 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 66ης ημέρας (P50=66). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 103η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα).

Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-8 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 50% των ατόμων τις 3 τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ περίπου το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 5 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια προοδευτική αρνητική τροχιά (Εικ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εικ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Ε). Μέτριος θετικός συσχετισμός ( $r=0.3884$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ζ). Ασθενής αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.1866$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 32.30% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Θ).

Oregon-R; ΘΗΛΥΚΑ - Υ/Π: 2/1+ Cur



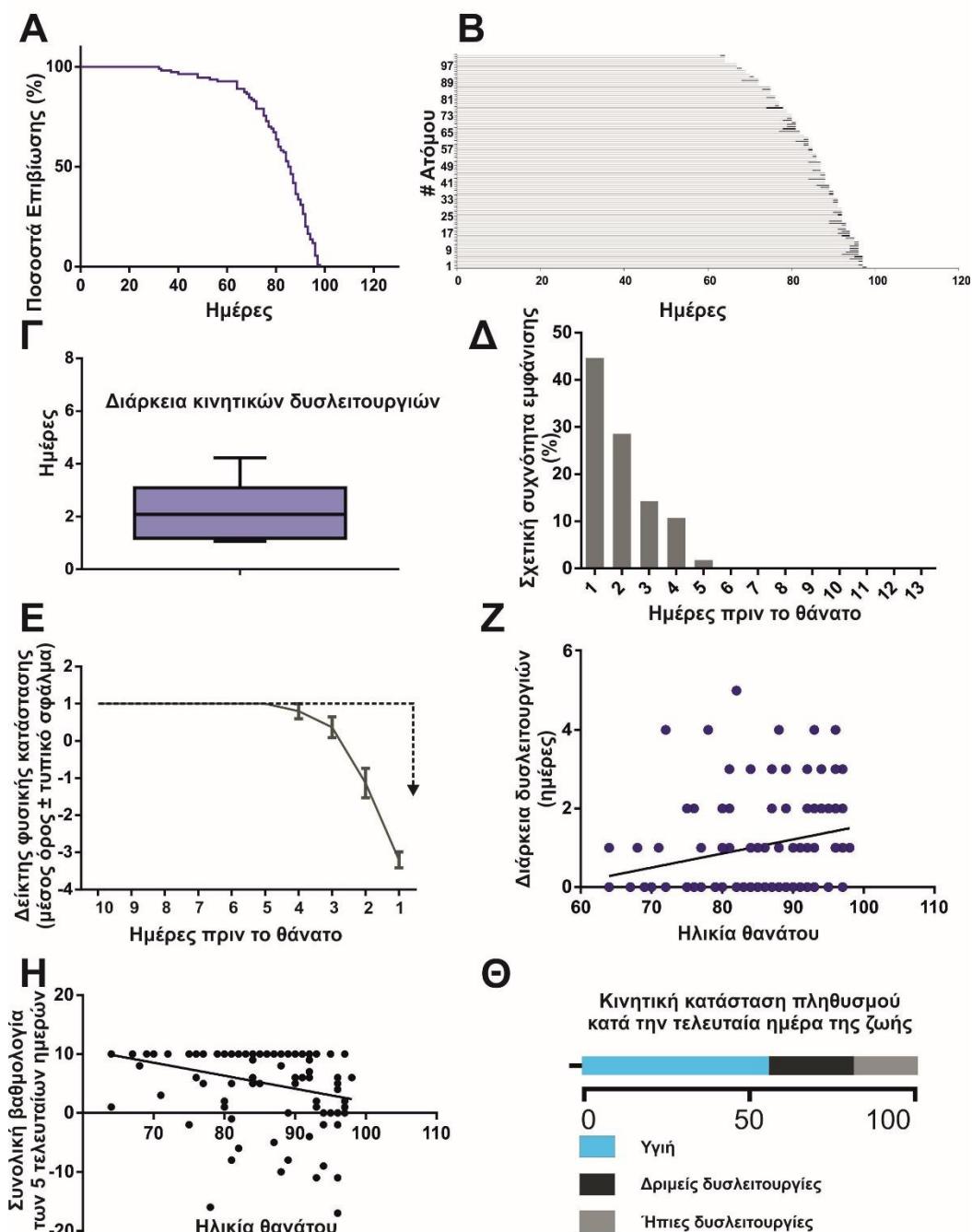
**Εικόνα 11.** **Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρι χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 10.Θηλυκά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτείνες=8/1

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. -Α., N=110 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 35ης και 85ης ημέρας (P50=85). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 35η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 98η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-5 ημέρες (Εικ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 60% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ λιγότερο από το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 3 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εκ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εκ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εκ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εκ. Ε). Μέτριος θετικός συσχετισμός ( $r=0.3248$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Ζ). Μέτριος αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.4082$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 55.88% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγιών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εκ. Θ).

## Oregon-R; ΘΗΛΥΚΑ - Υ/Π: 8/1



**Εικόνα 12.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

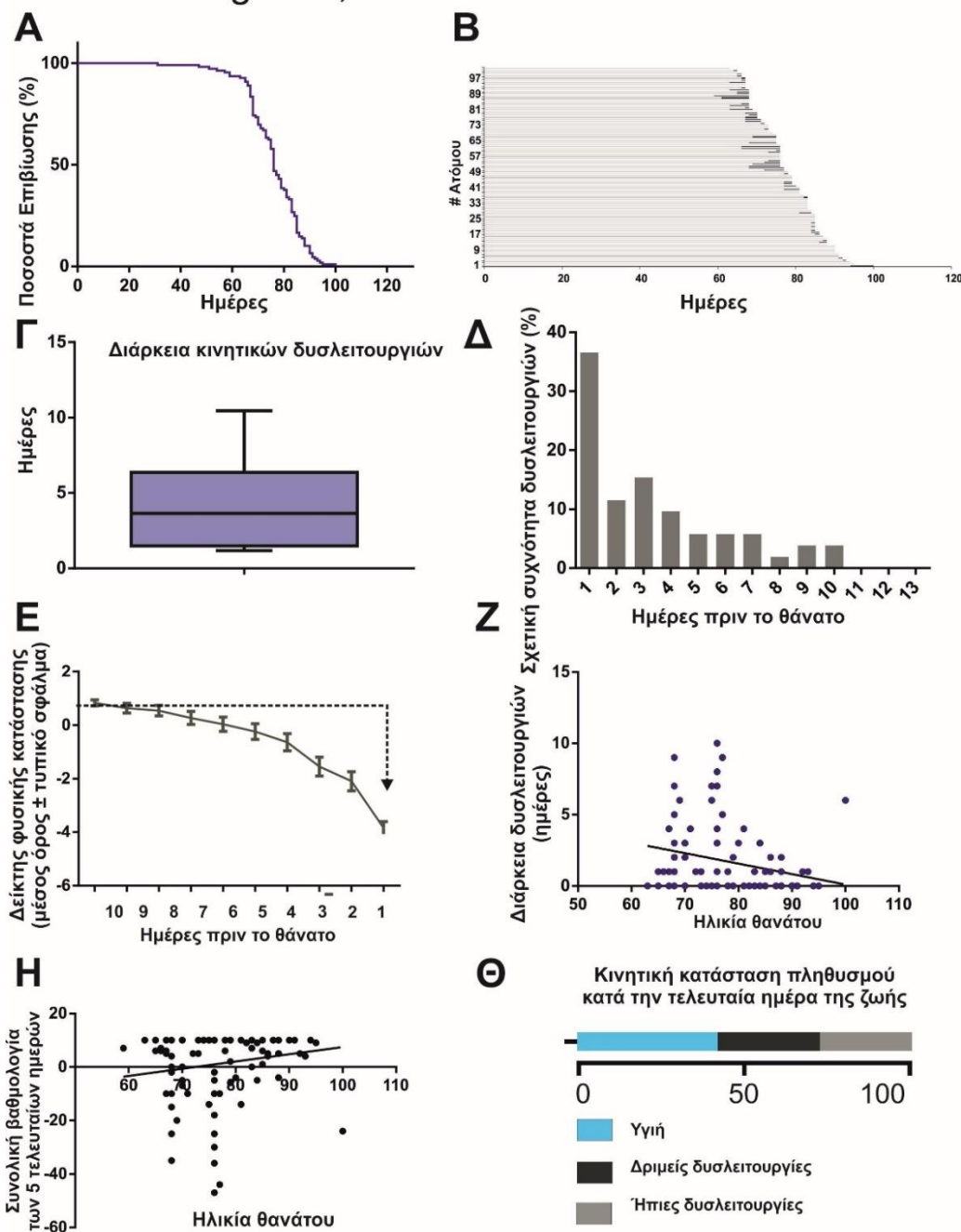
## 11. Θηλυκά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=8/1 και SF

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εκ. -Α., N=109 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 76ης ημέρας (P50=76). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 100η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εκ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-12 ημέρες (Εκ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 45% των ατόμων τις 3

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ λιγότερο από το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 4 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εκ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εκ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται προοδευτικά 5-6 ημέρες πριν τον θάνατο (Εκ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εκ. Ε). Ασθενής αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.2942$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Ζ). Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.224$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Η), που σημαίνει ότι η διάρκεια και δριμύτητα των δυσλειτουργιών δεν παρουσιάζει σημαντική αύξηση με την ηλικία θανάτου. Τέλος το 35.57% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εκ. Θ).



## Oregon-R; ΘΗΛΥΚΑ - Υ/Π: 8/1+SF



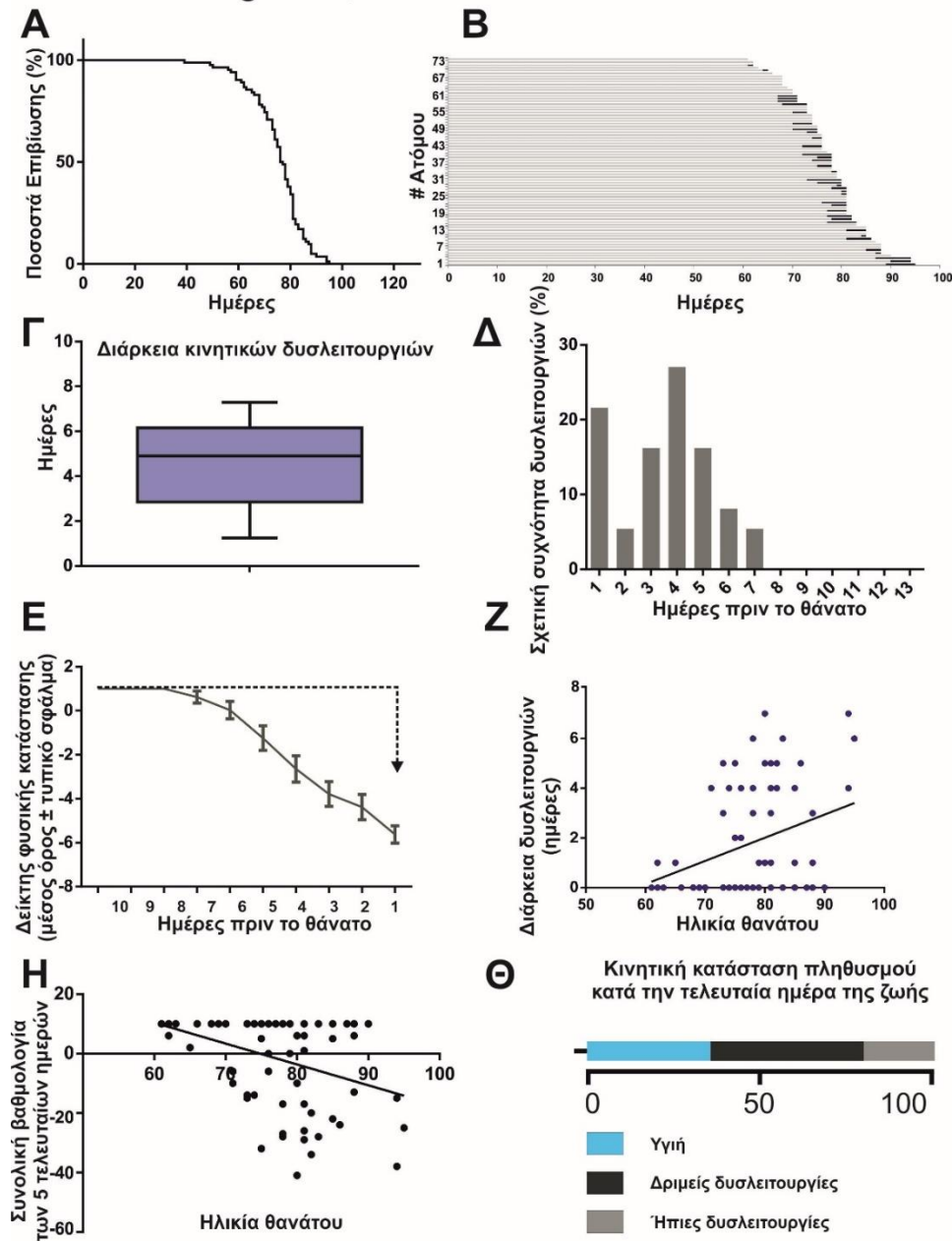
**Εικόνα 13.** **Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 12. Θηλυκά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=8/1 και Cur

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εκ. -Α., N=82 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 76ης ημέρας (P50=76). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 40η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 95η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εκ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-7 ημέρες (Εκ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 45% των ατόμων τις 3

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ λιγότερο από το 20% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 5 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εκ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εκ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται προοδευτικά έως 5 ημέρες πριν τον θάνατο (Εκ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εκ. Ε). Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.2787$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Ζ). Μέτριος αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.3109$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 50% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγιών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εκ. Θ).

Oregon-R; ΘΗΛΥΚΑ - Υ/Π: 8/1+Cur



**Εικόνα 14.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

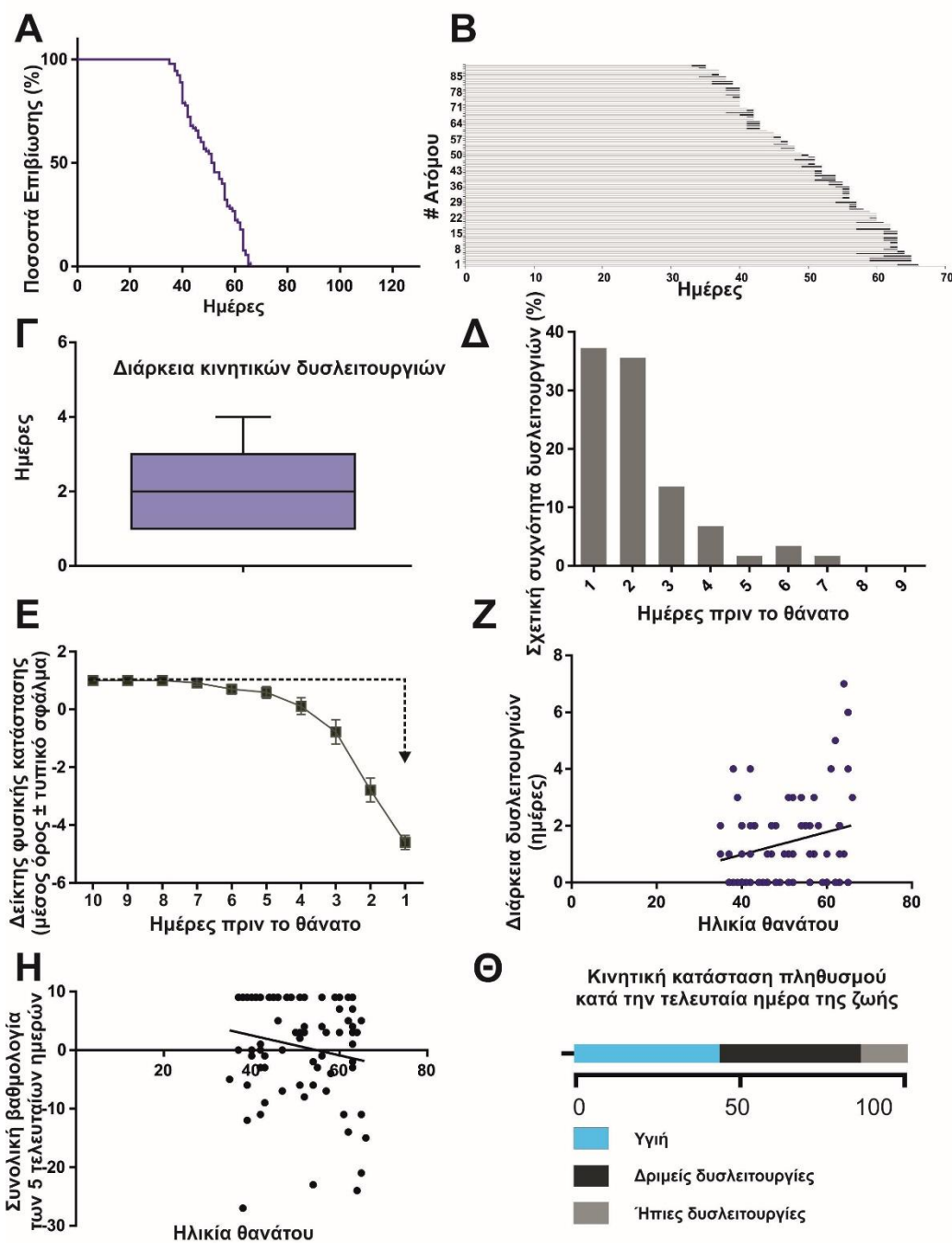
Πληθυσμός Lausanne's

## 1. Lausanne Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εκ. -Α., N=90 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 40ης και 52ης ημέρας (P50=52). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 38η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο αρσενικό πέθανε την 66η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εκ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-5 ημέρες (Εκ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 70% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ λιγότερο από το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 3 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εκ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εκ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εκ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εκ. Ε). Κανένας συσχετισμός ( $r=-0.0032$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) δεν εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Ζ). Κανένας συσχετισμός ( $r=-0.0001$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) δεν υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Η). Τέλος το 42.16% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εκ. Θ).

## Lausanne; Αρσενικά - Υ/Π: 2/1



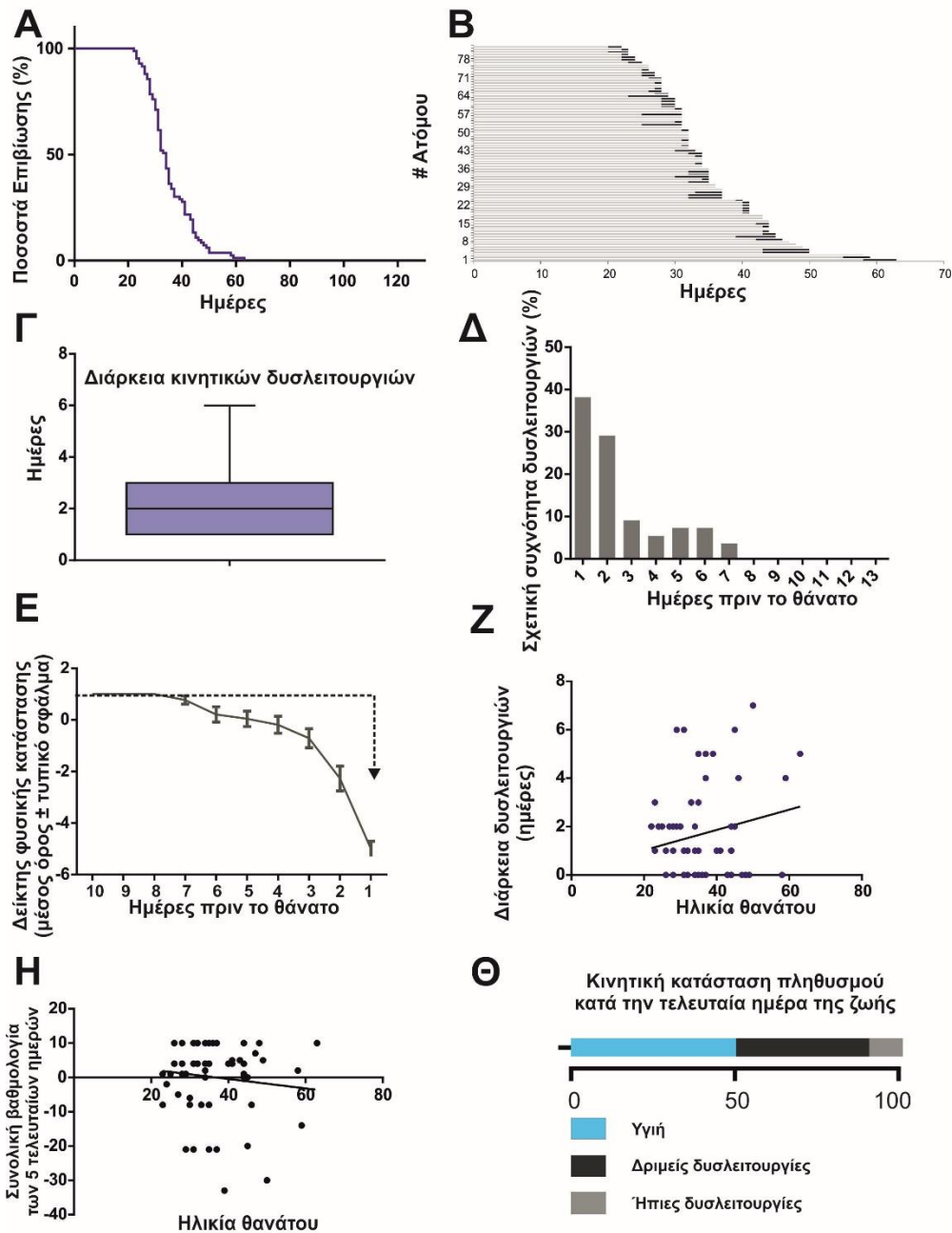
**Εικόνα 15.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **C.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **D.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **E.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **F.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **G.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **H.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## 2. Lausanne Θηλυκά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εκ. -Α., N=83 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 25ης και 34ης ημέρας (P50=34). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 25η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 63η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εκ. -Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-6 ημέρες (Εκ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 60% των ατόμων τις 2

τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ λιγότερο από το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 3 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εκ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εκ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εκ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εκ. Ε). Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.1838$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Ζ). Ασθενής αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.1852$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών. Τέλος το 43.82% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εκ. Θ).

## Lausanne; Θηλυκά - Υ/Π: 2/1



**Εικόνα 16.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **E.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Z.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **H.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

### 1.3 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ

Αρσενικά άτομα.

Η σύγκριση των πληθυσμών αρσενικών ατόμων περιλαμβάνεται στις Εικόνες 1, 2 και Πίνακες 1, 2,3.

Η υψηλή αναλογία υδατανθράκων προς πρωτεΐνες (υ/π:8/1) και η προσθήκη των αντιοξειδωτικών κουρκουμίνη και Super Fruit στην τροφή χαμηλής περιεκτικότητας υ/π προκάλεσε την αύξηση της μέσης διάρκειας ζωής (P50) κατά 20% και της μέγιστης διάρκειας ζωής (Pmax) κατά 10-40% σε σύγκριση με τον πληθυσμό μάρτυρα που είχε τραφεί σε χαμηλή αναλογία υδατανθράκων προς πρωτεΐνες (υ/π:2/1; Εικ. 1B). Σε αντίθεση η προσθήκη των αντιοξειδωτικών ουσιών στην τροφή υψηλής περιεκτικότητας υδατανθράκων (υ/π:8/1) δεν προκάλεσε αλλαγή στη μέση και μέγιστη διάρκεια ζωής των πληθυσμών (Εικ. 1Δ). Η καμπύλη της κινητικής έκπτωσης των ατόμων που εμφανίζουν δυσλειτουργίες για κάποιες ημέρες πριν το θάνατο ακολουθεί επιταχυνόμενη τροχιά (επιταχυνόμενη δυσλειτουργία), ενώ η καμπύλη της κινητικής έκπτωσης των ατόμων που ήταν υγιή μέχρι την τελευταία ημέρα της ζωής τους αναπαρίσταται με βέλος (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. 1Γ, Ε).

Τα αρσενικά αγρίου τύπου σειράς Lausanne's εμφανίζουν περίπου 50% μείωση της μέσης διάρκειας ζωής και μείωση 20% της μέγιστης διάρκειας ζωής (Εικ. 1<sup>A</sup>, B).

Η καμπύλη της κινητικής τους έκπτωσης είναι παρόμοια με αυτή των ατόμων OR-R (επιταχυνόμενη τροχιά; Εικ. 1Γ).

Τα ποσοστά των ατόμων με/χωρίς δυσλειτουργίες μέχρι την τελευταία ημέρα της ζωής ποικίλουν στους παραπάνω πληθυσμούς. Η κατάταξη των πληθυσμών με κριτήριο τα ποσοστά των υγιών ατόμων την τελευταία ημέρα της ζωής είναι ως εξής:

$υ/π=8/1 > υ/π=8/1+Sf > υ/π=2/1+Sf > υ/π=8/1+Cur > υ/π=2/1-μάρτυρας- > υ/π=2/1+Cur > Lausanne's$  (Εικ. 2). Με εξαίρεση τα αρσενικά Lausanne's και τα αρσενικά που τράφηκαν με τροφή χαμηλής περιεκτικότητας υδατανθράκων προς πρωτεΐνη με προσθήκη κουρκουμίνης (υ/π=2/1+Cur) όλοι οι υπόλοιποι διατροφικοί χειρισμοί



( $u/\pi=8/1$ ,  $u/\pi=8/1+SF$ ,  $u/\pi=2/1+SF$ ,  $u/\pi=8/1+Cur$ ) αύξησαν το ποσοστό των ατόμων που δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι την τελευταία ημέρα θανάτου (Εικ. 2).

Η μέση διάρκεια των δυσλειτουργιών δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών με εξαίρεση τον πληθυσμό του οποίου τα άτομα ετραφήκαν με  $u/\pi:8/1$  και με προσθήκη SF (Εικ. 2).

Η μέση διάρκεια έναρξης της έκπτωσης της ανταποκριτικής ικανότητας δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών (Εικ. 2).

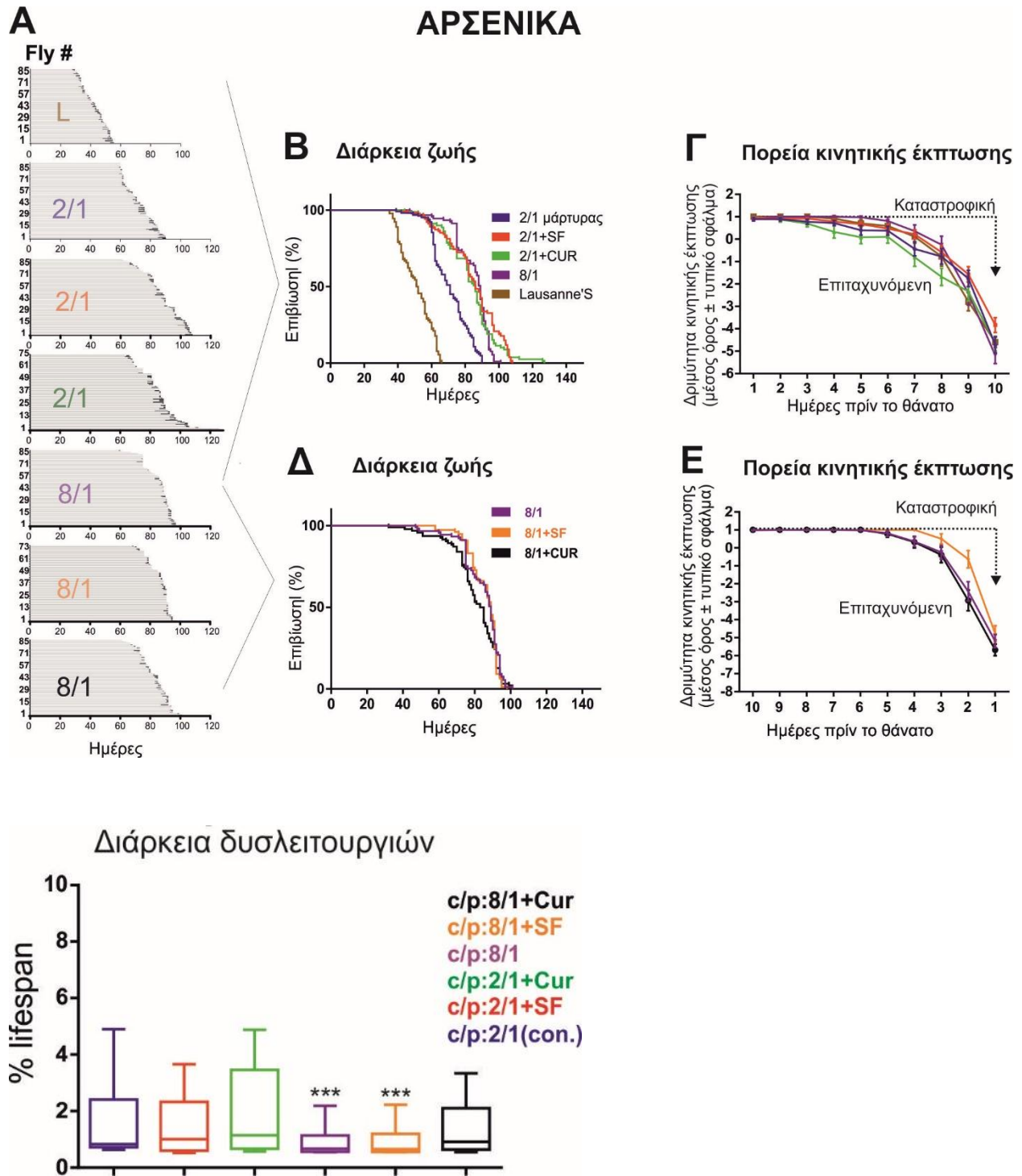
Όσο αφορά την μέση διάρκεια έκπτωσης της κινητικής ταχύτητας υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του πληθυσμού μάρτυρα ( $u/\pi:2/1$ ) και του πληθυσμού του οποίου τα άτομα ετράφηκαν με δίαιτα  $u/\pi:8/1$  και με προσθήκη SF (Εικ. 2). Δηλαδή το SF, σε δίαιτα με υψηλά επίπεδα υδατανθράκων, έχει θετικά αποτελέσματα στην ταχύτητα κίνησης αφού η έναρξη της έκπτωσης παρουσιάζει μια καθυστέρηση περίπου 2 ημέρων (Εικ. 2).

Η σύγκριση μεταξύ του πληθυσμού μάρτυρα ( $u/\pi:2/1$ ) και των τριών πληθυσμών ( $u/\pi:2/1+SF$ ,  $u/\pi:2/1+Cur$ ,  $u/\pi:8/1$ ) έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά για τη διάρκεια υγιούς ζωής και τη διάρκεια βαριάς δυσλειτουργίας μόνο μεταξύ των πληθυσμών που ετράφηκαν με δίαιτα  $u/\pi:2/1$  ( $p<0.0001$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test) και  $u/\pi:8/1$  ( $p<0.0001$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test) χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικών. Κατά συνέπεια ο πληθυσμός που περιλάμβανε στη δίαιτα του αυξημένα επίπεδα υδατανθράκων αύξησε τη διάρκεια ζωής, καθώς και τη διάρκεια υγιούς ζωής ενώ μείωσε τη διάρκεια της βαριάς δυσλειτουργίας (Εικ. 2). Αυτό είναι το πρώτο παράδειγμα αύξησης της διάρκειας ζωής και ταυτόχρονα μείωση της προθανάτιας νοσηρότητας στη *Drosophila melanogaster*.

Η σύγκριση μεταξύ του πληθυσμού μάρτυρα ( $u/\pi:8/1$ ) και των δυο πληθυσμών ( $u/\pi:8/1+SF$ ,  $u/\pi:8/1+Cur$ ) έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά για τη διάρκεια υγιούς ζωής και τη διάρκεια βαριάς δυσλειτουργίας μεταξύ των πληθυσμών που ετράφηκαν με δίαιτα  $u/\pi:8/1$  ( $p<0.0001$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test) και  $u/\pi:8/1+SF$ ,  $u/\pi:8/1+Cur$ , ( $p<0.0001$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test). Κατά συνέπεια η προσθήκη αντιοξειδωτικών ουσιών σε δίαιτα με υψηλά επίπεδα υδατανθράκων μείωσε τη διάρκεια υγιούς ζωής ως ποσοστό της

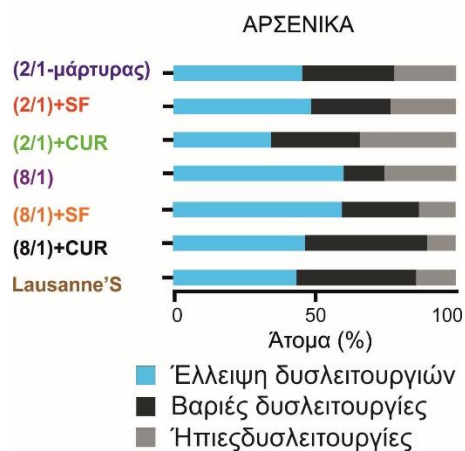
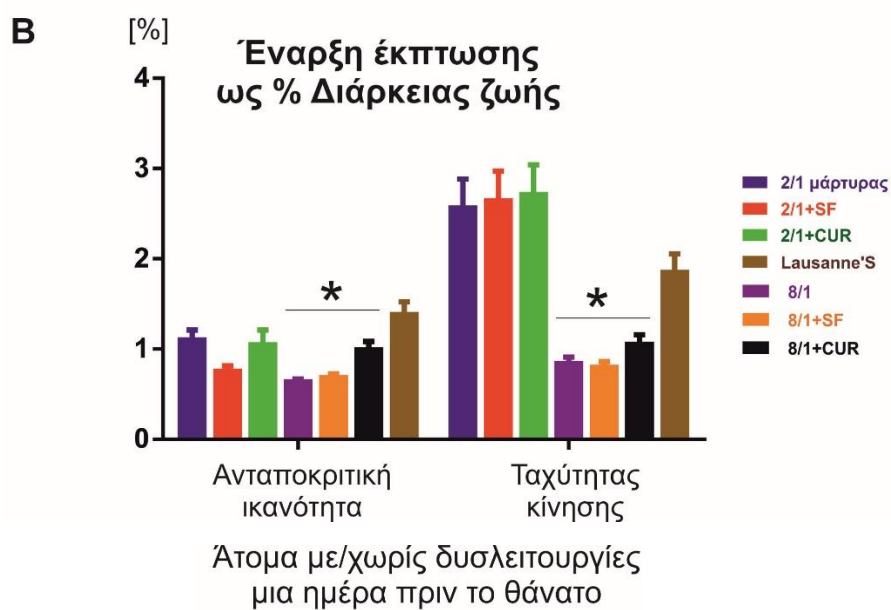
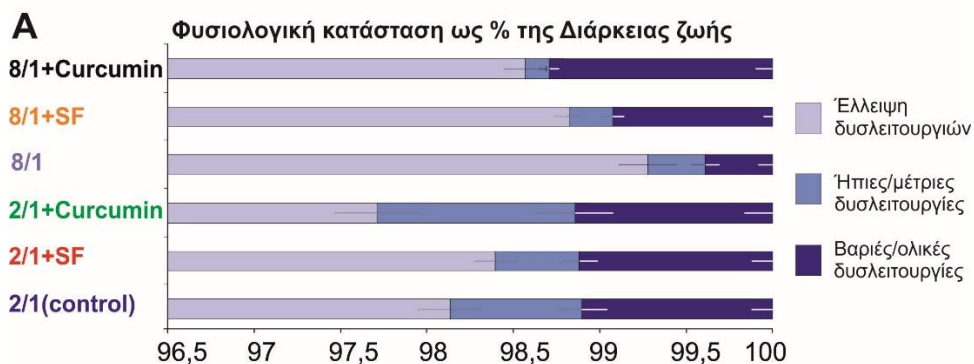
διάρκειας ζωής, αύξησε τη διάρκεια βαριάς δυσλειτουργίας ως ποσοστό της διάρκειας ζωής, ενώ δεν είχε επίδραση στη διάρκεια της ήπιας δυσλειτουργίας ως ποσοστό της διάρκειας ζωής και της ίδιας της διάρκειας ζωής. Αυτό αποτελεί ένα αρνητικό παράδειγμα διατροφικού χειρισμού ως προς τις παραμέτρους που μελετήθηκαν. Δηλαδή, η προσθήκη των αντιοξειδωτικών ουσιών Κουρκουμίνη και SF σε δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων αντέστρεψε τα θετικά αποτελέσματα της δίαιτας με υψηλά επίπεδα σακχάρων.

Η αναγωγή της διάρκειας υγιούς ζωής και ήπιας και βαριάς δυσλειτουργίας σε σχέση με τη διάρκεια ζωής αρχικά στο επίπεδο του ατόμου και τελικά στο επίπεδο του πληθυσμού επέτρεψε να εξάγουμε συγκριτικά συμπεράσματα μεταξύ των πληθυσμών. Στατιστικά σημαντική αύξηση στο ποσοστό της υγιούς ζωής παρατηρήθηκε στον πληθυσμό του οποίου τα άτομα ετράφηκαν με υψηλά επίπεδα υδατανθράκων (υ/π:8/1), ενώ στον ίδιο πληθυσμό παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στο ποσοστό της βαριάς δυσλειτουργίας. Η επιπλέον προσθήκη των αντιοξειδωτικών κουρκουμίνη και SF στη δίαιτα με υψηλή αναλογία υδατανθράκων/πρωτεΐνες (υ/π:8/1) δεν είχε καμία επιπλέον επίδραση στις 3 κινητικές καταστάσεις (Εκ. 2).



**Εικόνα 1.** Διάρκεια ζωής, Πορεία κινητικής έκπτωσης και διάρκεια δυσλειουργιών.

## ΑΡΣΕΝΙΚΑ



**Εικόνα 2.** Φυσιολογική κατάσταση, έναρξη έκπτωσης της ανταποκριτικής ικανότητας και ταχύτητα κίνησης, όπως και τα ποσοστά υγείων ατόμων σε σχέση με αυτά που εμφάνισαν κινητικές δυσλειτουργίες.

Θηλυκά άτομα

Η σύγκριση των πληθυσμών θηλυκών ατόμων περιλαμβάνεται στις Εικόνες 3 και 4 και Πίνακες 1, 2, 3.

Η υψηλή αναλογία υδατανθράκων προς πρωτεΐνες (υ/π:8/1) στην τροφή είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της μέσης (P50) και μέγιστης (Pmax) διάρκειας ζωής κατά 20% σε σύγκριση με τον πληθυσμό που είχε τραφεί σε χαμηλή αναλογία υδατανθράκων προς πρωτεΐνες (υ/π:2/1; Εικ. 3Α, Β). Η καμπύλη της κινητικής έκπτωσης των ατόμων που εμφανίζουν δυσλειτουργίες για κάποιες ημέρες πριν το θάνατο ακολουθούν επιταχυνόμενες τροχιές (επιταχυνόμενη δυσλειτουργία), ενώ η καμπύλη της κινητικής έκπτωσης των ατόμων που ήταν υγιή μέχρι την τελευταία ημέρα της ζωής τους αναπαρίσταται με βέλος (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. 3Γ).

Η προσθήκη των αντιοξειδωτικών κουρκουμίνη και Super Fruit στην τροφή χαμηλής περιεκτικότητας υ/π προκάλεσε αύξηση της μέγιστης διάρκειας ζωής κατά περίπου 20%, ενώ η μέση ηλικία των πληθυσμών αυτών αυξήθηκε οριακά (Εικ. 3Δ).

Σε αντίθεση η προσθήκη των αντιοξειδωτικών ουσιών στην τροφή υψηλής περιεκτικότητας υδατανθράκων (υ/π:8/1) είχε αρνητικά αποτελέσματα αφού μειώθηκε η μέση διάρκεια ζωής των πληθυσμών (Εικ. 3Δ). Η καμπύλη της κινητικής έκπτωσης των ατόμων που εμφανίζουν δυσλειτουργίες για κάποιες ημέρες πριν το θάνατο ακολουθεί επιταχυνόμενη τροχιά μόνο για τα άτομα που είχαν τραφεί απουσία αντιοξειδωτικών (επιταχυνόμενη δυσλειτουργία; Εικ. 3Γ), ενώ τα άτομα που είχαν δεχθεί την επίδραση των αντιοξειδωτικών παρουσιάζουν προοδευτική έκπτωση και εμφανίζει αντίστοιχα προοδευτική τροχιά (Εικ. 3Ε). Όπως προηγουμένως, τα άτομα που ήταν υγιή μέχρι την τελευταία ημέρα της ζωής τους αναπαρίσταται με βέλος (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ..3Ε).

Τα θηλυκά της αγρίου τύπου σειράς Lausanne's εμφανίζουν περίπου 50% μείωση της μέσης διάρκειας ζωής και μείωση 20% της μέγιστης διάρκειας ζωής (Εικ. 3Α, Β).

Η καμπύλη της κινητικής τους έκπτωσης είναι παρόμοια με αυτή των ατόμων OR-R (επιταχυνόμενη τροχιά; Εικ. 3Γ).

Τα ποσοστά των ατόμων με/χωρίς δυσλειτουργίες μέχρι την τελευταία ημέρα της ζωής ποικίλουν στους παραπάνω πληθυσμούς. Η κατάταξη των πληθυσμών με κριτήριο τα ποσοστά των υγιών ατόμων την τελευταία ημέρα της ζωής είναι ως εξής:

$u/\pi=8/1 > u/\pi=8/1+Cur > \mathbf{u/\pi=2/1-μάρτυρας-} > Lausanne's > u/\pi=2/1 + Sf > u/\pi=8/1+Sf > 2/1+Cur$  (Εικ. 4). Κατά συνέπεια υψηλά επίπεδα υδατανθράκων με/χωρίς κουρκουμίνη αύξησαν το ποσοστό των ατόμων που δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι την τελευταία ημέρα θανάτου, ενώ σε όλες τις υπόλοιπες ομάδες που υπέστησαν διατροφικούς χειρισμούς συμπεριλαμβανομένων των θηλυκών Lausanne's παρατηρήθηκε μείωση (Εικ. 4).

Η μέση διάρκεια των κινητικών δυσλειτουργιών δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών (Εικ. 3).

Η μέση διάρκεια έναρξης της έκπτωσης της ανταποκριτικής ικανότητας δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών (Εικ. 3).

Όσο αφορά την μέση διάρκεια έκπτωσης της κινητικής ταχύτητας υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του πληθυσμού μάρτυρα ( $u/\pi:2/1$ ) και των πληθυσμών που ετράφηκαν με δίαιτες  $u/\pi:2/1$  και  $u/\pi:8/1$  και προσθήκη κουρκουμίνης. Επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ του πληθυσμού  $u/\pi:8/1$  και του πληθυσμού που ετράφηκε με δίαιτα  $u/\pi:8/1$  και προσθήκη κουρκουμίνης (Εικ. 4). Δηλαδή η κουρκουμίνη, ανεξάρτητα από τα επίπεδα υδατανθράκων στην τροφή, προκάλεσε έκπτωση στην ταχύτητα κίνησης περίπου 2 ημέρες νωρίτερα σε σχέση με την έκπτωση που παρατηρήθηκε στον πληθυσμό μάρτυρα (Εικ. 4).

Μετά από μετατροπή των δεδομένων που αφορούν τη διάρκεια υγιούς ζωής, ήπιας κινητικής έκπτωσης ή/και βαριάς κινητικής έκπτωσης δείχτηκε ότι:

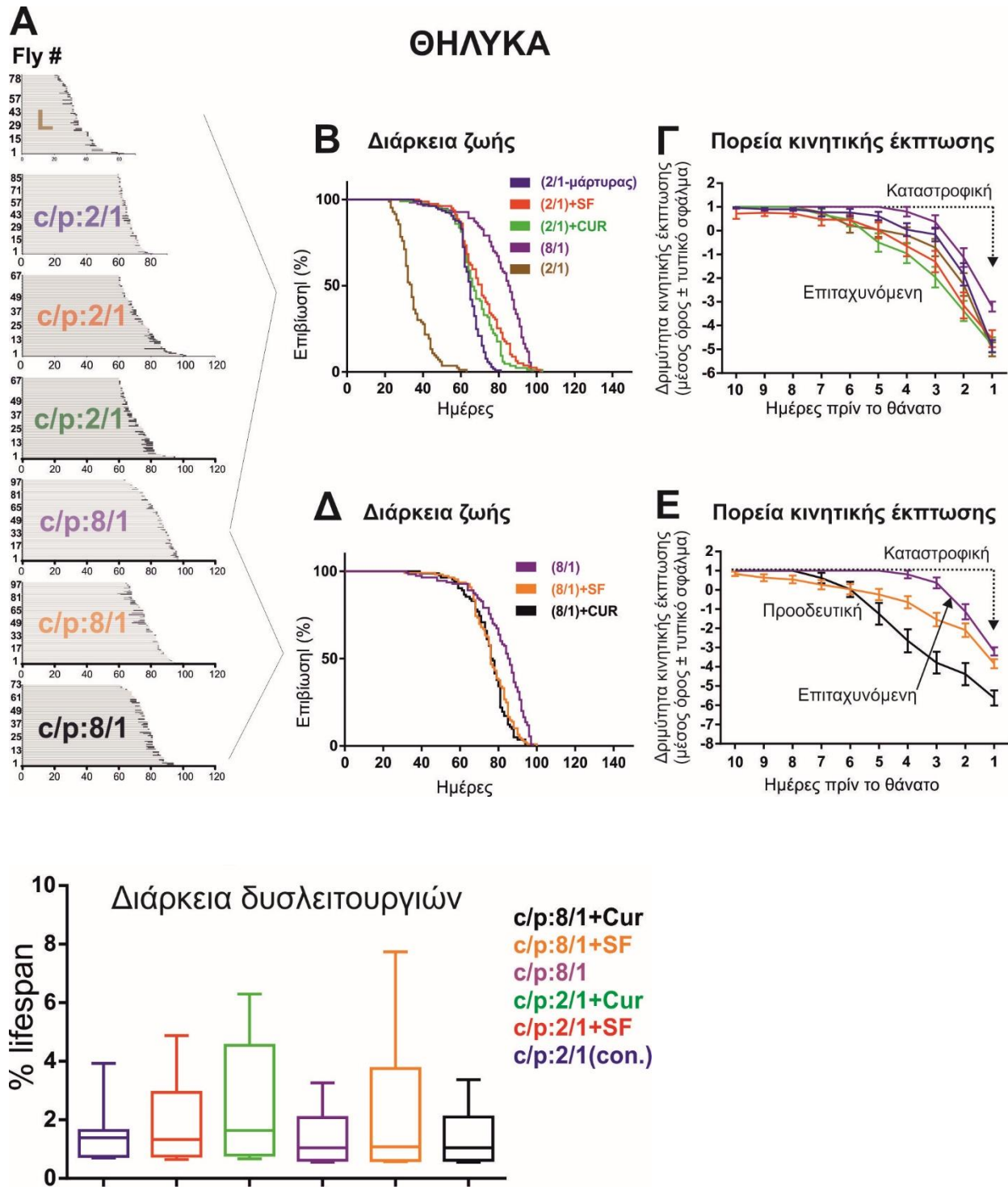
Η σύγκριση μεταξύ του πληθυσμού μάρτυρα ( $u/\pi:2/1$ ) και των τριών πληθυσμών ( $u/\pi:2/1+SF$ ,  $u/\pi:2/1+Cur$ ,  $u/\pi:8/1$ ) έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση στη διάρκεια υγιούς ζωής του πληθυσμού  $u/\pi:2/1+Cur$  ( $p=0,0206$  One way Anova, Dunn's multiple comparison test) σε σχέση με τον πληθυσμό- μάρτυρα. Για τη διάρκεια βαριάς δυσλειτουργίας παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση του πληθυσμού που ετράφηκαν με δίαιτα  $u/\pi:8/1$  ( $p=0.0054$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test) σε σχέση με τον πληθυσμό- μάρτυρα. Τέλος όσον αφορά τη διάρκεια ήπιας δυσλειτουργίας παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στους πληθυσμούς

u/π:2/1+SF ( $p=0,0248$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test) και u/π:8/1( $p=0.0079$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test) σε σχέση με τον πληθυσμό- μάρτυρα. Κατά συνέπεια ο πληθυσμός που περιλάμβανε στη δίαιτα του αυξημένα επίπεδα υδατανθράκων είχε ως αποτέλεσμα την ήπια βελτίωση, ενώ η προσθήκη κουρκουμίνης (u/π:2/1+Cur) μείωσε την διάρκεια υγιούς ζωής.

Η σύγκριση μεταξύ του πληθυσμού μάρτυρα (u/π:8/1) και των δυο πληθυσμών (u/π:8/1+SF, u/π:8/1+Cur) έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική αύξηση στη διάρκεια της βαριάς δυσλειτουργίας μεταξύ των ατόμων του πληθυσμού που ετράφηκαν με δίαιτα u/π:8/1+Cur ( $p=0.0009$ , One way Anova, Dunn's multiple comparison test) σε σχέση με τον πληθυσμό μάρτυρα (u/π:8/1).

Η αναγωγή της διάρκειας υγιούς ζωής και ήπιας και βαριάς δυσλειτουργίας σε σχέση με τη διάρκεια ζωής αρχικά στο επίπεδο του ατόμου και τελικά στο επίπεδο του πληθυσμού επέτρεψε να εξάγουμε συγκριτικά συμπεράσματα μεταξύ των πληθυσμών. Στατιστικά σημαντική αύξηση στο ποσοστό της ήπιας και βαριάς δυσλειτουργίας στον πληθυσμό του οποίου τα άτομα ετράφηκαν με χαμηλά επίπεδα υδατανθράκων με την προσθήκη κουρκουμίνης (u/π:2/1+Cur), ενώ στατιστικά σημαντική αύξηση στο ποσοστό μόνο της βαριάς δυσλειτουργίας παρατηρήθηκε στον πληθυσμό του οποίου τα άτομα ετράφηκαν με χαμηλά επίπεδα υδατανθράκων με την προσθήκη SF (u/π:2/1+SF). Η επιπλέον προσθήκη των αντιοξειδωτικών κουρκουμίνη και SF στη δίαιτα με υψηλή αναλογία υδατανθράκων/πρωτεΐνες (u/π:8/1) δεν είχε καμία επιπλέον επίδραση στις 3 κινητικές καταστάσεις.

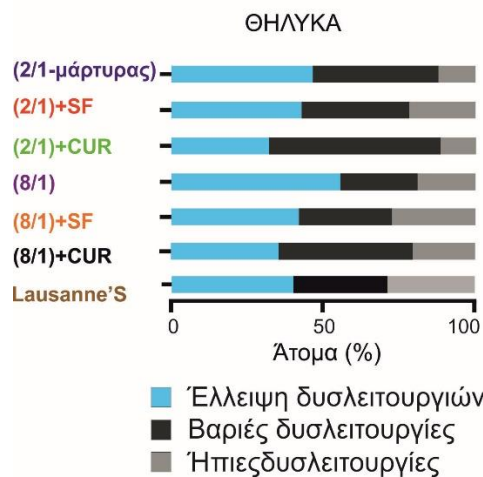
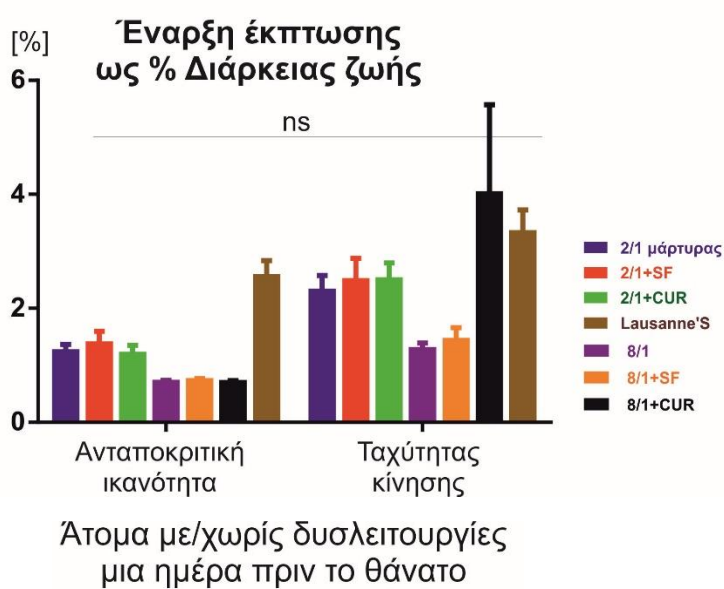
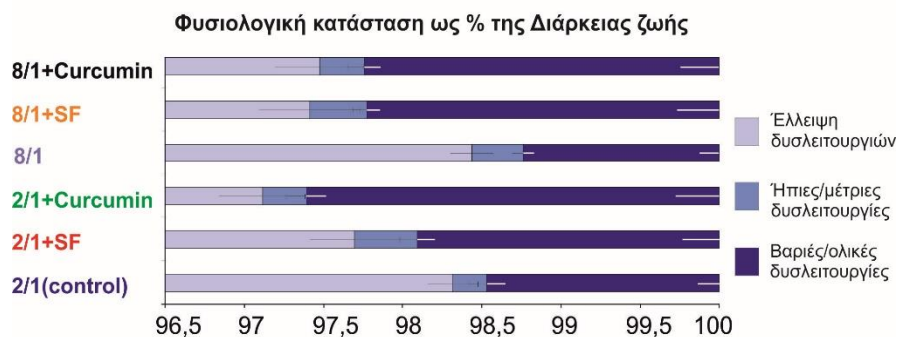
Τέλος η Εικόνα 5 δείχνει τη κατάταξη των πληθυσμών ως προς την ποιότητα της ζωής των ηλικιωμένων ατόμων. Συμπερασματικά τα ηλικιωμένα άτομα των πληθυσμών που τράφηκαν με υψηλά επίπεδα σακχάρων είχαν καλύτερη ποιότητα ζωής και τα περισσότερα δεν εμφάνισαν δυσλειτουργίες μέχρι την τελευταία ημέρα της ζωής.



**Εικόνα 3.** Διάρκεια ζωής, Πορεία κινητικής έκπτωσης και διάρκεια δυσλειτουργιών



## ΘΗΛΥΚΑ



**Εικόνα 4.** Φυσιολογική κατάσταση, έναρξη έκπτωσης της αναπνοκритικής ικανότητας και ταχύτητας κίνησης, όπως και τα ποσοστά υγείων ατόμων σε σχέση με αυτά που εμφάνισαν κινητικές δυσλειτουργίες.

**Πίνακας 1.** Το Log-rank (Mantel-Cox) test χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των καμπυλών ζωής.

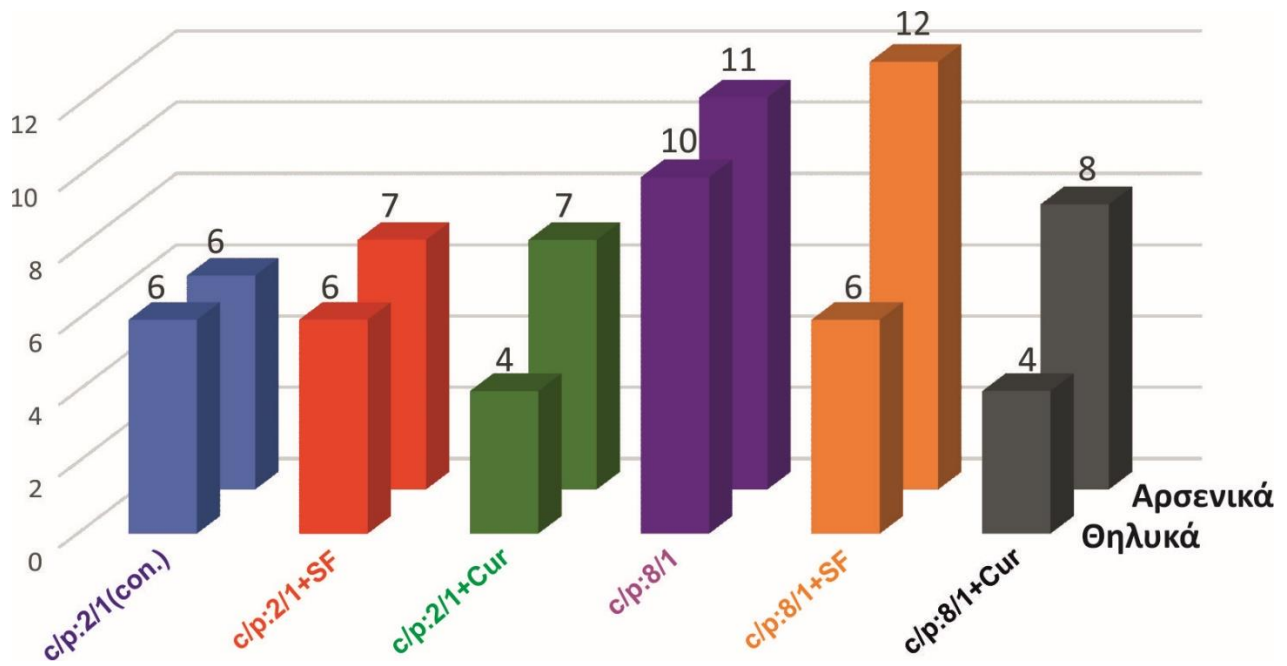
Diet	Males		Females	
	X <sup>2</sup>	p-value	X <sup>2</sup>	p-value
<b>C:P 2/1</b>				
C:P 2/1+ SF	60.10	< 0.0001	13.93	0.0002
C:P 2/1 + Cur	44.10	< 0.0001	15.94	< 0.0001
<b>C:P 8/1</b>	78.75	< 0.0001	149.1	< 0.0001
C:P 8/1 + SF	82.23 <i>0.4073</i>	< 0.0001 <i>0.5233</i>	106.1 <i>25.37</i>	< 0.0001 <i>&lt; 0.0001</i>
C:P 8/1 + Cur	43.35 <i>5.530</i>	< 0.0001 <i>0.0187</i>	83.08 <i>32.99</i>	< 0.0001 <i>&lt; 0.0001</i>

**Πίνακας 2.** Διάρκεια δυσλειτουργιών όπως και έναρξη έκπτωσης της ανταποκριτικής ικανότητας και ταχύτητας κίνησης M=Male, F=Female

Gender-c/p	Morbidity duration (days) (Average±SEM)	p-value	Responsiveness onset days (Average±SEM)	p-value	Speed Onset –days imp. (Average±SEM)	p-value
M-2/1 control	1.871± 0.1839		1.1000 ± 0.1113		2.561±0.3224	
M-2/1+SF	1.564± 0.1431	0.5151	0.7547 ± 0.06118	< 0.0001	2.643±0.3296	0.7206
M-2/1+Cur	2.267± 0.2575	> 0.9999	1.050±0.1602	0.0006	2.711±0.3318	0.6821
M-8/1	1.114± 0.09216	0.0005	0.6389±0.03025	< 0.0001	0.8393±0.07322	< 0.0001
M-8/1+SF	1.069± 0.08322	0.0009	0.6852±0.04057	< 0.0001	0.7971±0.06551	< 0.0001
M-8/1+Cur	1.416± 0.1248	0.3114	0.9914±0.09201	0.0014	1.052±0.1069	< 0.0001
F-2/1 control	1.733± 0.1660		1.235±0.1338		2.302±0.2777	
F-2/1+SF	2.222± 0.2797	> 0.9999	1.379±0.2203	0.0979	2.487±0.3914	0.9817
F-2/1+Cur	2.851± 0.2746	0.1321	1.191±0.1609	0.2578	2.500±0.2996	> 0.9999
F-8/1	1.474± 0.1146	0.1470	0.7029±0.03333	< 0.0001	1.278±0.1124	< 0.0001
F-8/1+SF	2.611± 0.3216	> 0.9999	0.7320±0.03451	< 0.0001	1.439±0.2259	< 0.0001
F-8/1+Cur	1.551± 0.1388	0.1840	0.7000±0.03277	< 0.0001	4.012±1.558	< 0.0001

**Πίνακας 3.** Φυσιολογικές καταστάσεις ως % της διάρκειας ζωής. M=Male, F=Female, Cur=Curcumin, SF=Super fruit, Mild/mod=Mild/Moderate, Sev/comp=Severe/Complete. Bold numbers indicate significance.

Gender-C/P	Fit Mean (% lifespan)	SEM	p-value	Mild/mod Mean (% lifespan)	SEM	p-value	Sev./Comp. Mean (% lifespan)	SEM	p-value
M-2/1 control	98,15	0,189	-	0,7707	1,099	-	1,099	0,124	-
M-2/1+SF	98,41	0,146	0,8534	0,5571	0,108	> 0,9999	1,030	0,122	0,1849
M-2/1+Cur	97,72	0,251	> 0,9999	1,226	0,223	0,0806	1,049	0,165	0,1137
M-8/1	99,30	0,169	<b>&lt; 0,0001</b>	0,3379	0,082	0,2858	0,3586	0,087	<b>&lt; 0,0001</b>
M-8/1+SF	98,85	0,090	<b>0,0219</b>	0,3023	0,068	0,7402	0,8502	0,054	0,2471
M-8/1+Cur	98,58	0,125	0,5685	0,2301	0,057	0,1543	1,186	0,098	> 0,9999
F-2/1 control	98,32	0,160	-	0,2138	0,117	-	1,470	0,137	-
F-2/1+SF	97,69	0,278	0,1527	0,3982	0,113	<b>0,0044</b>	1,908	0,239	0,8521
F-2/1+Cur	97,12	0,276	<b>0,0043</b>	0,2767	0,125	0,3170	2,607	0,273	<b>0,0011</b>
F-8/1	98,44	0,138	0,1001	0,3219	0,069	<b>0,0014</b>	1,240	0,1224	<b>0,0031</b>
F-8/1+SF	97,41	0,318	<b>0,0319</b>	0,3597	0,084	<b>0,003</b>	2,226	0,266	0,0592
F-8/1+Cur	97,48	0,284	0,3792	0,2834	0,104	<b>0,0476</b>	2,240	0,242	0,8102

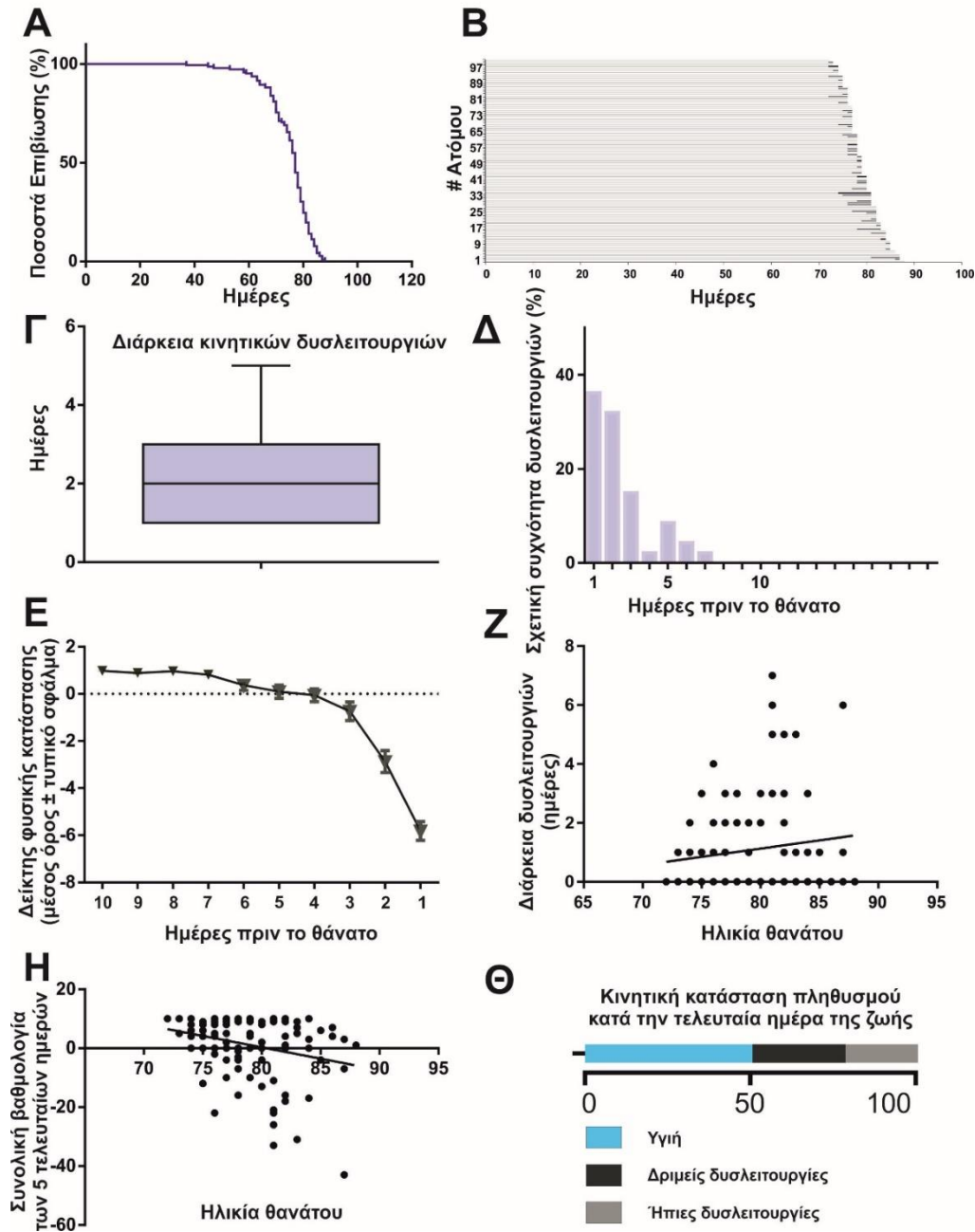


**Εικόνα 5.** Κατάταξη πληθυσμών ως προς την ποιότητα ζωής των ηλικιωμένων ατόμων.

## W<sup>1118</sup> Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εκ. Α., N=103 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 37ης και 77ης ημέρας (P50=77). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 37η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 88η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εκ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-7 ημέρες (Εκ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 70% των ατόμων τις 2 τελευταίες ημέρες πριν από τον θάνατο, ενώ λιγότερο από το 10% των ατόμων εμφανίζουν δυσλειτουργίες για περισσότερες από 3 ημέρες πριν από τον θάνατο (Εκ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά επιταχυνόμενη τροχιά (Εκ. Ε). Η επιτάχυνση της έκπτωσης ή η δριμύτητα των δυσλειτουργιών αυξάνεται απότομα 3 ημέρες πριν τον θάνατο (Εκ. Ε). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εκ. Ε). Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.2132$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Ζ). Ασθενής αρνητικός συσχετισμός ( $r= -0.2128$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Η). Τέλος το 50.49% των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγείων-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εκ. Θ).

# W1118

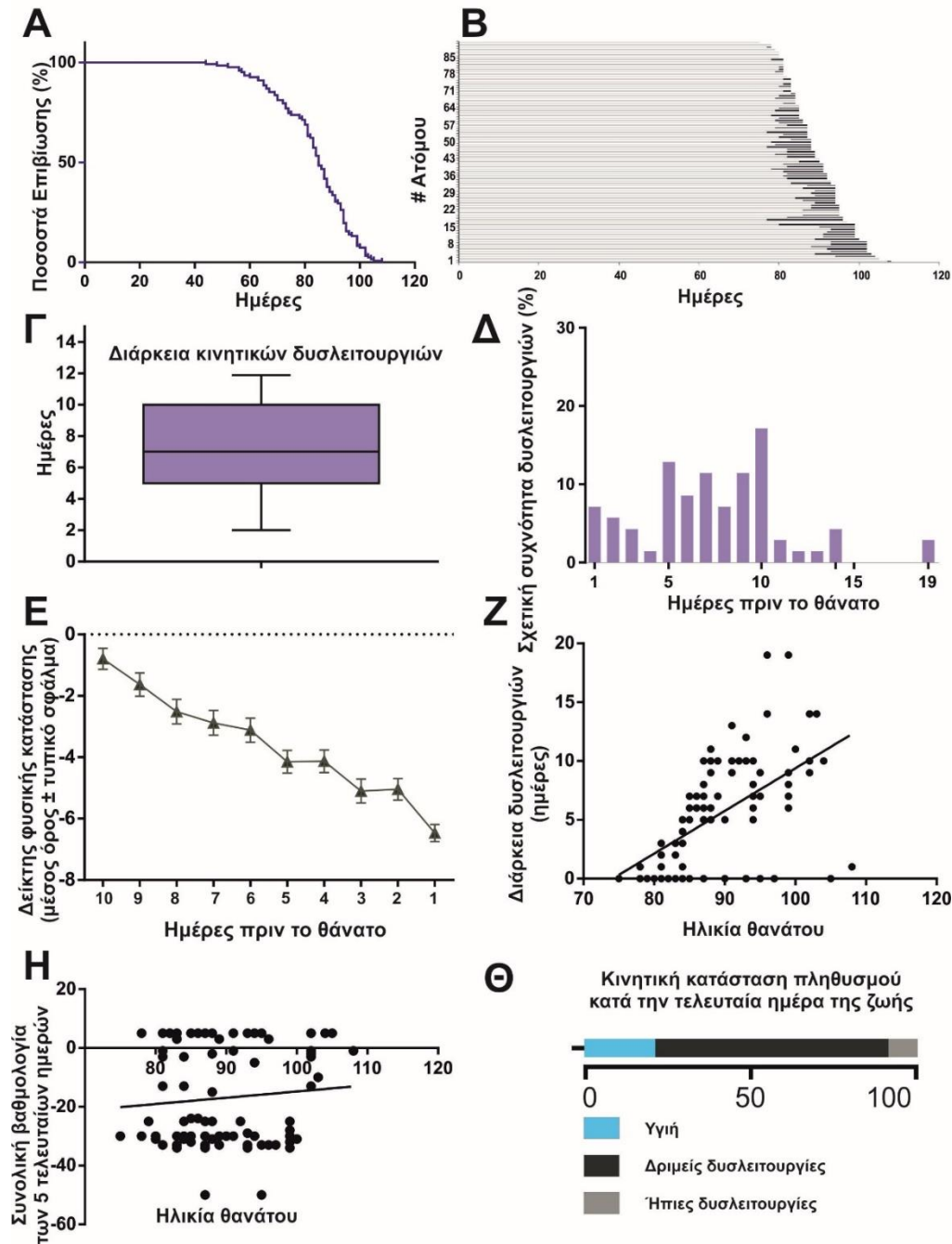


**Εικόνα. Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.

## **Methusaleah Αρσενικά, τροφή: Υδατάνθρακες/Πρωτεΐνες=2/1**

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εκ. Α., N=97 άτομα) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ της 44ης και 85ης ημέρας (P50=85). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 44η ημέρα, ενώ το μακροβιότερο θηλυκό πέθανε την 108η ημέρα. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εκ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ημέρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 1-14 ημέρες (Εκ. Γ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες κατανέμονται σε μικρά ποσοστά τις 10 τελευταίες ημέρες (Εκ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια αρνητικά προοδευτική τροχιά (Εκ. Ε). Ελάχιστο ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και την τελευταία ημέρα της ζωής αλλά κινητικά κατέρρευσαν και πέθαναν μέσα σε διάστημα μερικών ωρών πριν το θάνατο (Εκ. Ε). Ισχυρός θετικός συσχετισμός ( $r=0.7874$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) εμφανίζεται ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Ζ). Δεν υπάρχει συσχετισμός ( $r= 0.04264$ , Μη-παραμετρικό Spearman test) ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των πέντε τελευταίων ημερών και την ηλικία θανάτου (Εκ. Η). Τέλος το 21.35% μόνο των ατόμων ανήκουν στη κατηγορία των υγειών-ηλικιωμένων (welderly flies) αφού δεν εμφανίζουν δυσλειτουργίες μέχρι 1 ημέρα πριν το θάνατο (Εκ. Θ).

## Methusaleah; Αρσενικά - Υ/Π: 2/1

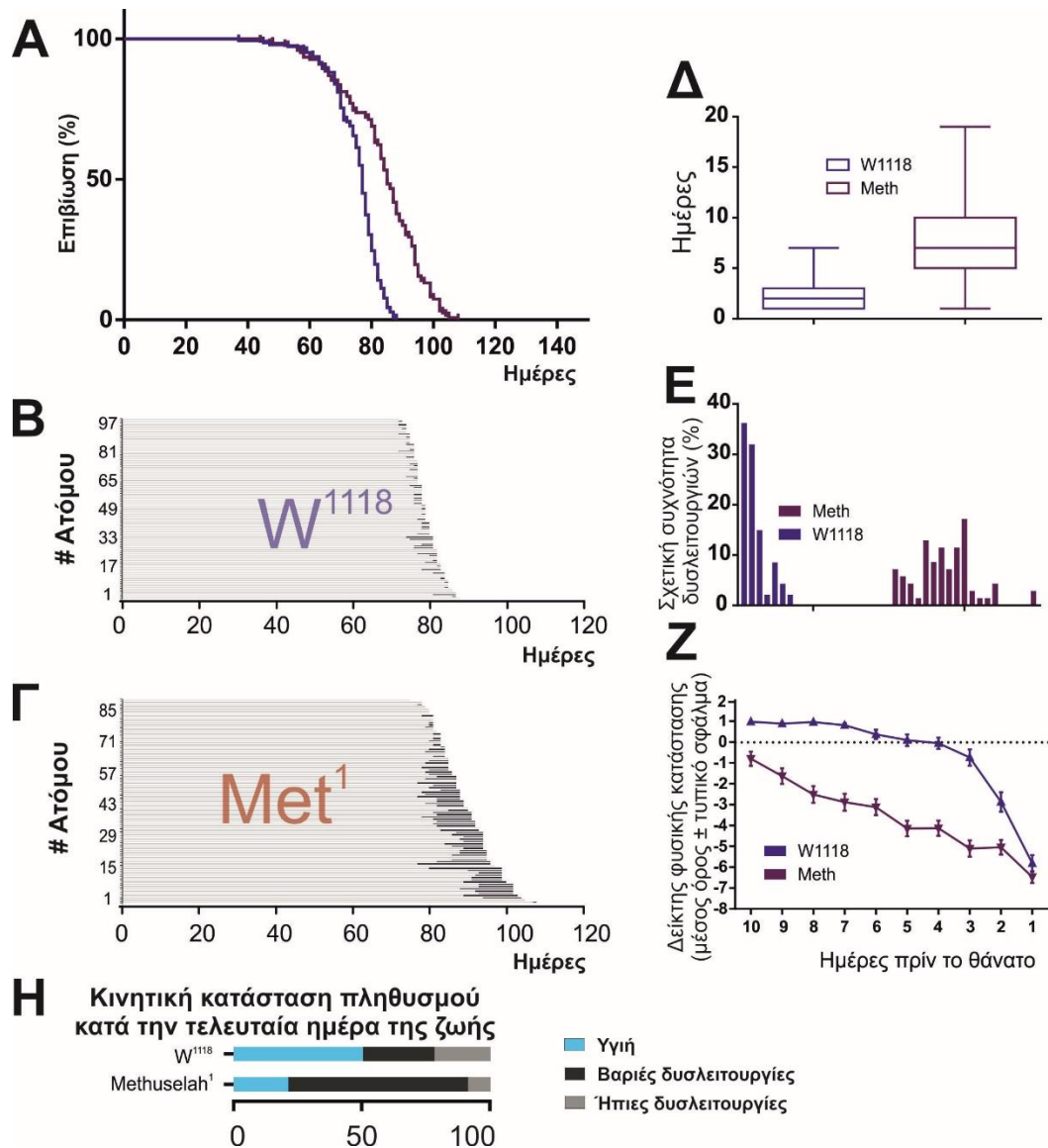


**Εικόνα. Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Μέση διάρκεια κινητικών δυσλειτουργιών. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ζ.** Συσχετισμός μεταξύ της διάρκειας δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. **Η.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου. **Θ.** Κινητική κατάσταση του πληθυσμού κατά την τελευταία ημέρα της ζωής.



## Σύγκριση μεταξύ $W^{1118}$ (γονική σειρά) και methusaleah

Η μετάλλαξη στο γονίδιο methusaleah προσέδωσε πλεονέκτημα στα αρσενικά άτομα όσον αφορά τη διάρκεια ζωής που αυξήθηκε κατά ~20% σε σχέση με τη γονική σειρά  $W^{1118}$  (Εικ. Α). Όμως η διάρκεια των δυσλειτουργιών ήταν ιδιαίτερα αυξημένη στα methusaleah και μάλιστα η έναρξη τους συμπίπτει χρονικά με αυτή των ατόμων της πατρικής σειράς (Εικ. Β, Γ). Τα methusaleah εμφανίζουν δυσλειτουργίες για 5 ημέρες περισσότερο από τη γονική σειρά ( $w^{1118}$ ; Εικ. Δ). Ε. Οι δυσλειτουργίες στα  $met^1$  κατανέμονται σε πολύ περισσότερες ημέρες πριν το θάνατο σε σύγκριση με τα  $W^{1118}$  (Εικ. Ζ). Η κινητική έκπτωση στα  $met^1$  εμφανίζει προοδευτική τροχιά σε αντίθεση με τα  $w^{1118}$  που εκπίπτουν με επιταχυνόμενη τροχιά (Εικ. Ε). Επίσης, πολύ λιγότερα  $met^1$  άτομα καταλήγουν υγιή μια ημέρα πριν το θάνατο (Εικ. Η). Κατά συνέπεια η ποιότητα ζωής των ηλικιωμένων ατόμων methusaleah είναι πολύ χειρότερη σε σχέση με την ποιότητα ζωής των ατόμων της γονικής σειράς  $W^{1118}$ .



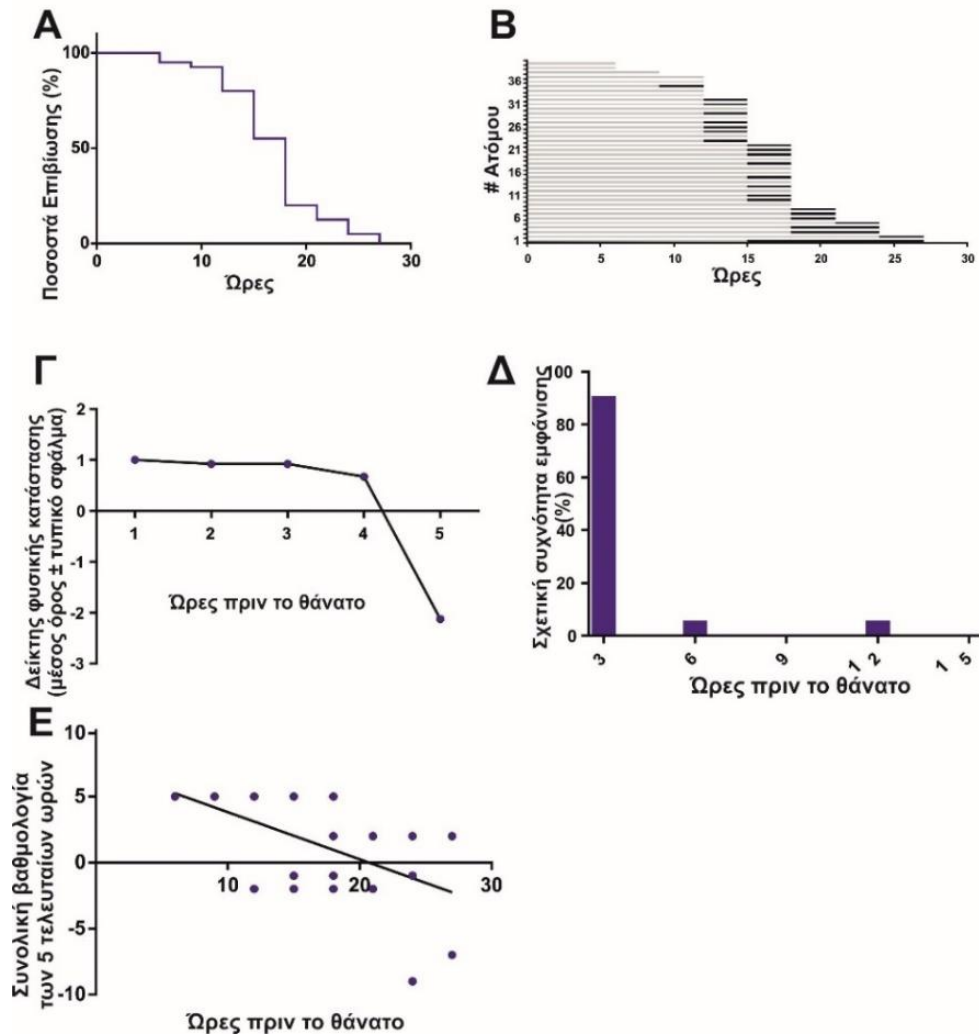
**Εικόνα. Α, Β, Γ** Διάρκεια ζωής και δυσλειουργίες. **Δ.** Τα met<sup>1</sup> εμφανίζουν δυσλειουργίες για 5 ημέρες περισσότερο από τη γονική σειρά (w<sup>1118</sup>). **Ε.** Οι δυσλειουργίες στα met<sup>1</sup> κατανέμονται σε πολύ περισσότερες ημέρες πριν το θάνατο. **Ζ.** Η κινητική έκπτωση στα met<sup>1</sup> εμφανίζει προοδευτική τροχιά. **Η.** Πολύ λιγότερα met<sup>1</sup> άτομα καταλήγουν υγιή μια ημέρα πριν το θάνατο.

## 1.4 Περιβαλλοντικοί χειρισμοί

### OR-R Στέρωση νερού και τροφής

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. Α, N=40 άτομα, 20 αρσενικά και 20 θηλυκά) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ 7 και 15 ωρών (P50=15). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 7<sup>η</sup> ώρα, ενώ το μακροβιότερο πέθανε στις 27 ώρες. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ώρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 3-12 ώρες (Εικ. Δ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 90% των ατόμων τις 3 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια πορεία κατάρρευσης τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο (Εικ. Γ). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο. Μέτριος αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.4610$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των τελευταίων πέντε ωρών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Η), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών .

## Oregon-R, Στέρηση νερού και τροφής

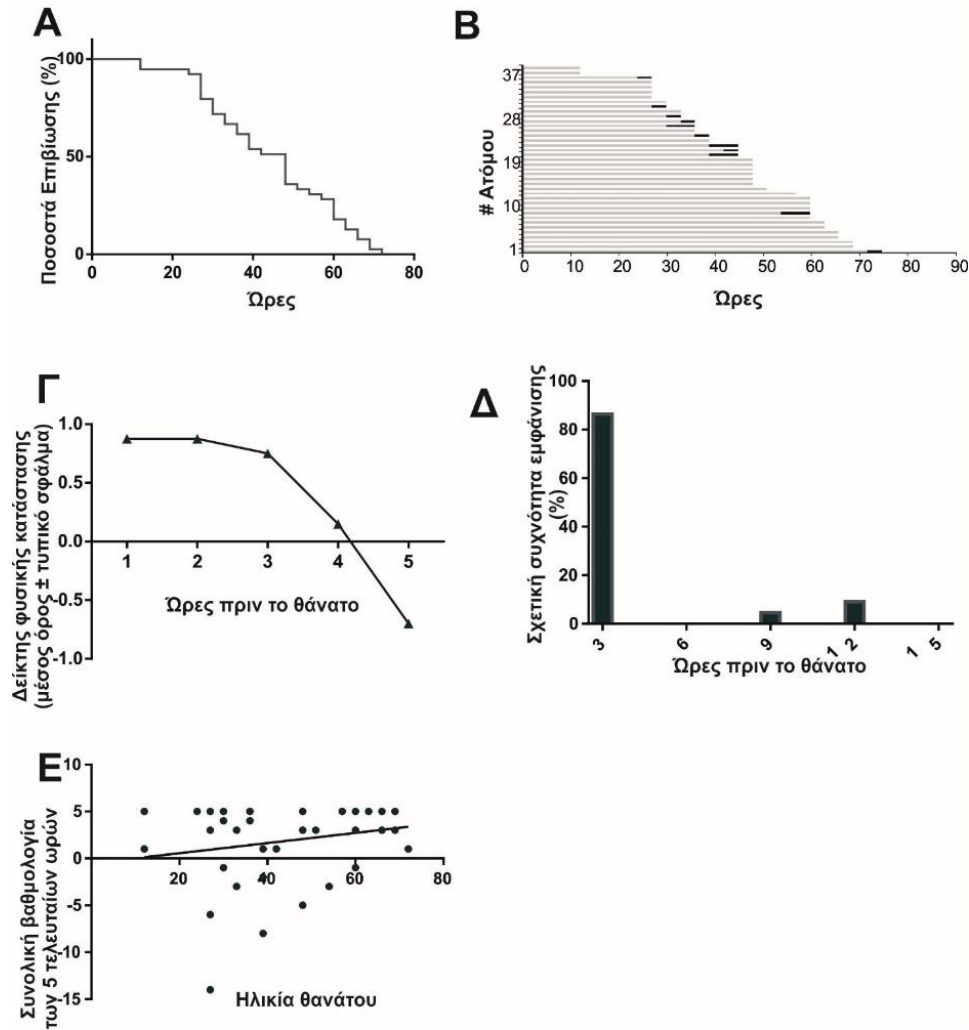


**Εικόνα. Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου.

## OR-R Στέρηση τροφής

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. Α, N=40 άτομα, 20 αρσενικά και 20 θηλυκά) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ 10 και 40 ωρών (P50=40). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 10η ώρα, ενώ το μακροβιότερο πέθανε στις 72 ώρες. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ώρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 3-6 ώρες (Εικ. Β). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 90% των ατόμων τις 3 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια πορεία κατάρρευσης τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο (Εικ. Γ) Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο. Ασθενής θετικός συσχετισμός ( $r=0.1178$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των τελευταίων πέντε ωρών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ε), που σημαίνει ότι η διάρκεια και δριμύτητα των δυσλειτουργιών δεν παρουσιάζει σημαντική αύξηση με την ηλικία θανάτου.

## Oregon-R, Στέρηση τροφής

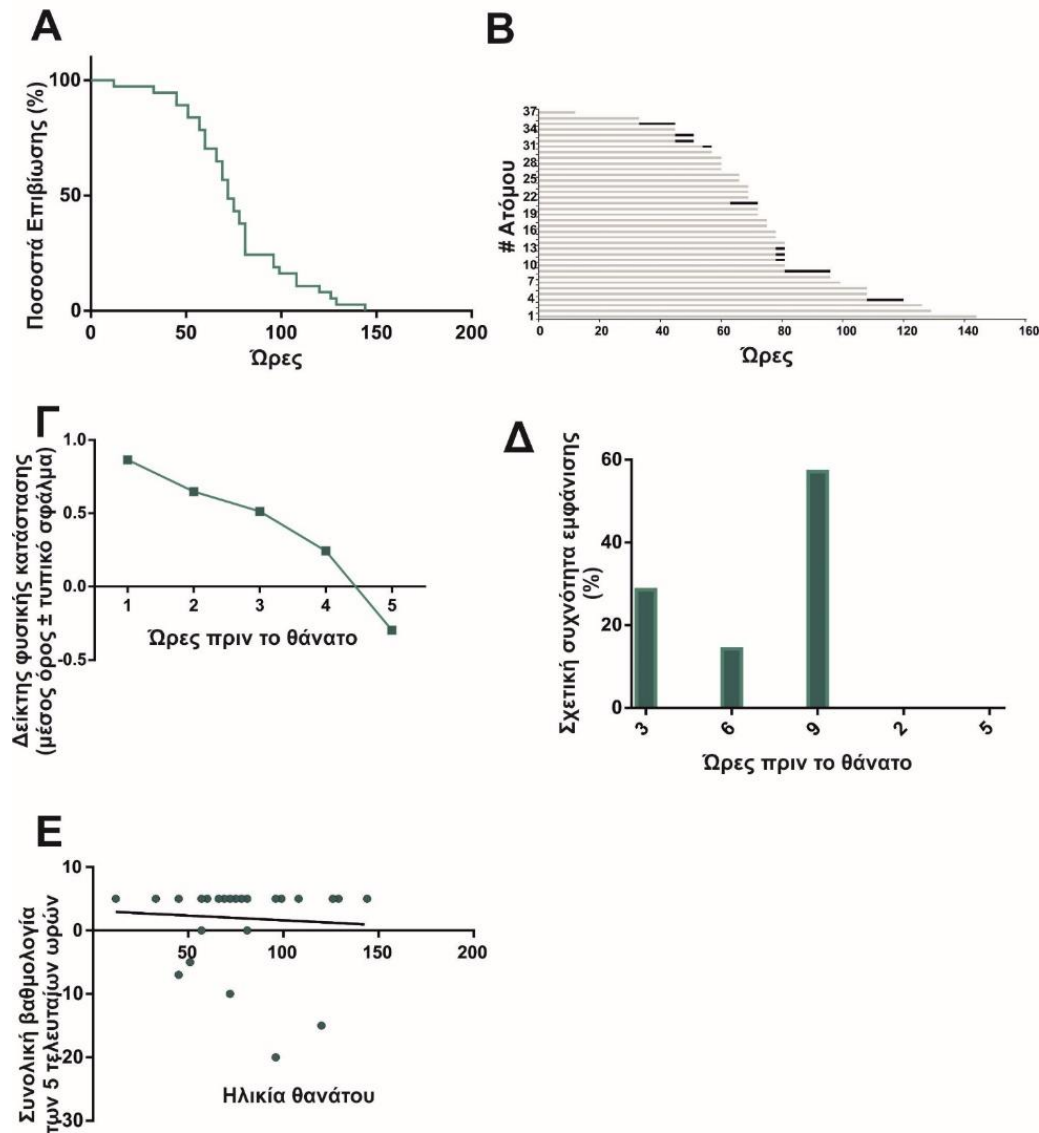


**Εικόνα.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **E.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου.

### **OR-R Οξειδωτικό stress**

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. Α, N=40 άτομα, 20 αρσενικά και 20 θηλυκά) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ 10 και 70 ωρών (P50=70). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 7η ώρα, ενώ το μακροβιότερο πέθανε στις 30 ώρες. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ώρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 3-15 ώρες (Εικ. Β). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 90% των ατόμων τις 9 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια προοδευτική αρνητική τροχιά τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο (Εικ. Γ) Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Γ). Δεν υπάρχει συσχετισμός ( $r=0.0339$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των τελευταίων πέντε ωρών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ε), που σημαίνει ότι η επιδείνωση και η διάρκεια των δυσλειτουργιών δεν παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία θανάτου.

## Oregon-R, Oxidative stress



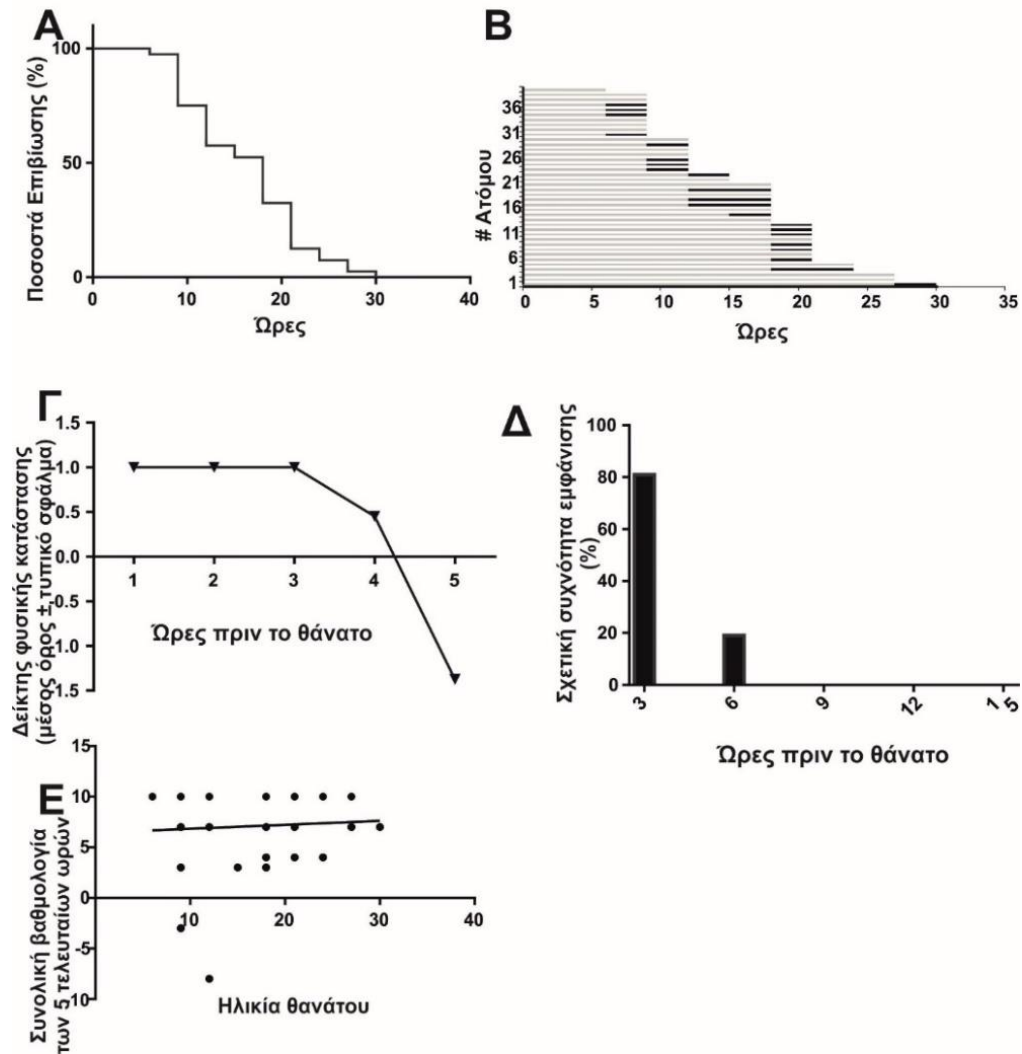
**Εικόνα.** **A.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **B.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικίας θανάτου.



## LAUSANNE'S Στέρηση νερού και τροφής

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. Α, N=40 άτομα, 20 αρσενικά και 20 θηλυκά) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ 7 και 15 ωρών (P50=15). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 7η ώρα, ενώ το μακροβιότερο πέθανε στις 27 ώρες. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ώρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 3-6 ώρες (Εικ. Β). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 80% των ατόμων τις 3 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια πορεία κατάρρευσης τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο (Εικ. Γ). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο. Δεν υπάρχει συσχετισμός ( $r = -0.0484$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των τελευταίων πέντε ωρών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ε).

## Lausanne's, Στέρηση νερού και τροφής

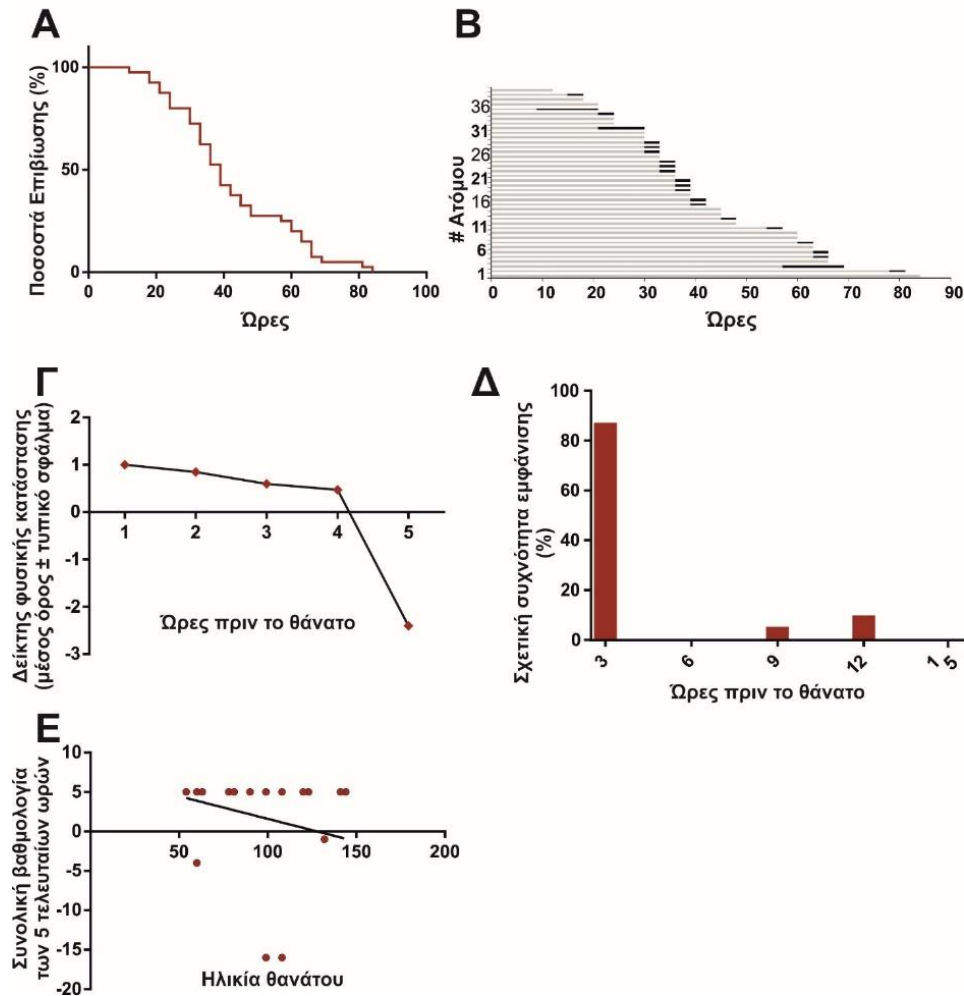


**Εικόνα. Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου.

## LAUSANNE'S Στέρηση τροφής

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. Α, N=40 άτομα, 20 αρσενικά και 20 θηλυκά) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ 50 και 80 ωρών (P50=80). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 50η ώρα, ενώ το μακροβιότερο πέθανε στις 145 ώρες. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ώρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 3-12 ώρες (Εικ. Β). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται σε περισσότερο από το 80% των ατόμων περίπου τις 6-9 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια προοδευτικά αρνητική πορεία τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο (Εικ. Γ). Ασθενής αρνητικός συσχετισμός ( $r=-0.1700$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των τελευταίων πέντε ωρών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ε), που σημαίνει ότι άτομα που έζησαν περισσότερο εμφάνιζαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη διάρκεια και δριμύτητα δυσλειτουργιών.

## Lausanne's, Στέρηση τροφής

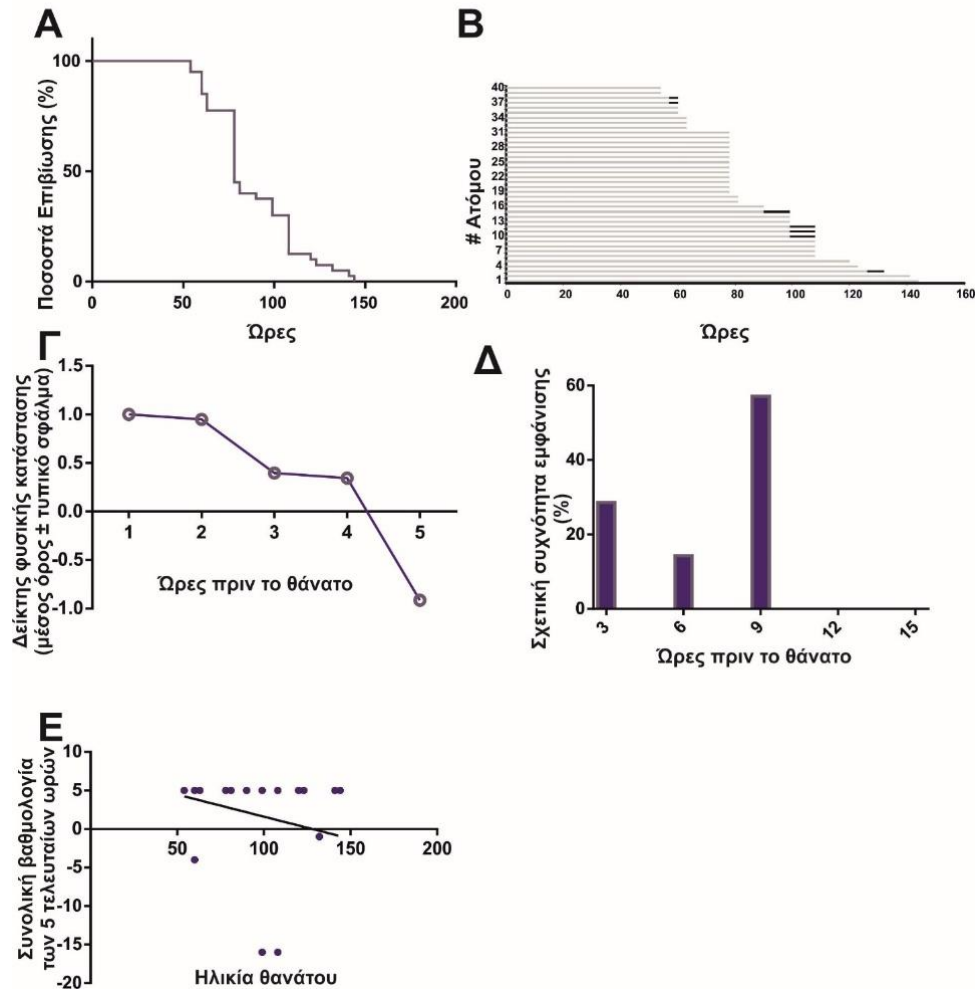


**Εικόνα. Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικία θανάτου.

### **LAUSANNE'S Οξειδωτικό stress**

Από την καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού (Εικ. Α, N=40 άτομα, 20 αρσενικά και 20 θηλυκά) προκύπτει ότι το 50% του πληθυσμού απεβίωσε μεταξύ 55 και 70 ωρών (P50=80). Δεν καταγράφηκαν θάνατοι πριν από την 55η ώρα, ενώ το μακροβιότερο πέθανε στις 145 ώρες. Από το διάγραμμα ζωής που καταδεικνύει το ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου (Εικ. Β) προκύπτει ότι ο πληθυσμός γηράσκει υγιώς αφού τα άτομα παραμένουν υγιή για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής (γκρί μπάρες) ενώ οι δυσλειτουργίες εμφανίζονται λίγες ώρες πριν τον θάνατο (μαύρη μπάρα). Οι δυσλειτουργίες κυμαίνονται από 3-9 ώρες (Εικ. Β, Δ). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών στον πληθυσμό δείχνει ότι οι δυσλειτουργίες των ατόμων συσσωρεύονται τις 9 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Δ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης του πληθυσμού ακολουθεί μια προοδευτική αρνητική τροχιά τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο (Εικ. Γ) Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Γ). Ασθενής αρνητικός συσχετισμός ( $r = -0.1700$ ), Μη-παραμετρικό Spearman test) υπάρχει ανάμεσα στη συνολική βαθμολογία των τελευταίων πέντε ωρών και την ηλικία θανάτου (Εικ. Ε), που σημαίνει ότι η επιδείνωση και η διάρκεια των δυσλειτουργιών δεν παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία θανάτου.

## Lausanne's, Οξειδωτικό stress



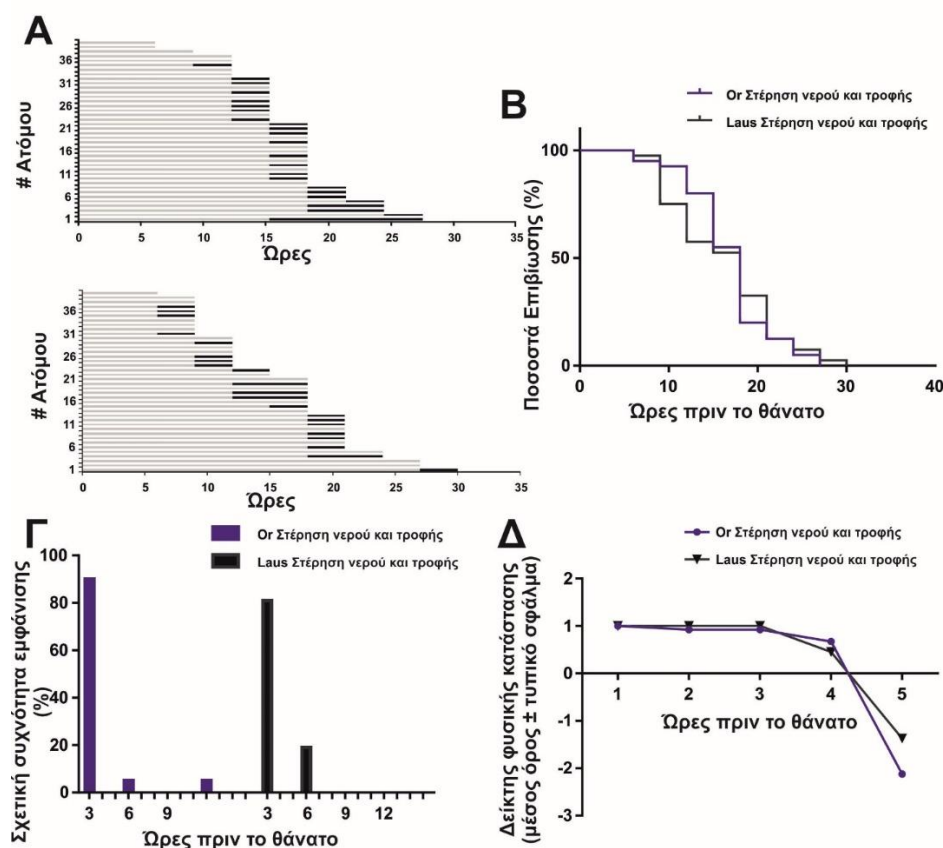
**Εικόνα. Α.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού. **Β.** Ιστορικό της φυσικής κατάστασης κάθε ατόμου του πληθυσμού. Η καλή φυσική κατάσταση σημειώνεται με γκρί χρώμα ενώ η εμφάνιση δυσλειτουργιών με μαύρο χρώμα. **Γ.** Πορεία της κινητικής έκπτωσης του πληθυσμού κατά τις 10 τελευταίες ημέρες της ζωής. **Δ.** Σχετική συχνότητα εμφάνισης δυσλειτουργιών στα άτομα του πληθυσμού τις τελευταίες ημέρες της ζωής. **Ε.** Συσχετισμός της ποιότητας των τελευταίων ημερών της ζωής με την ηλικίας θανάτου.

## 1.5 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΑΙΤΙΑ ΘΑΝΑΤΟΥ

### Στέρηση νερού και τροφής

Οι καμπύλες επιβίωσης των πληθυσμών (Εικ. Α, Β) δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά αφού το 50% και των 2 πληθυσμών απεβίωσε τη 15<sup>η</sup> ώρα. (P50=15). Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειτουργιών δείχνει ότι περισσότερο από το 80% των ατόμων παρουσιάζουν δυσλειτουργίες τις 3 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Γ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης των πληθυσμών ακολουθεί μια προοδευτική αρνητική τροχιά τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο, χωρίς να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των καμπυλών (Εικ. Δ). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειτουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο (καταστροφική δυσλειτουργία; Εικ. Δ).

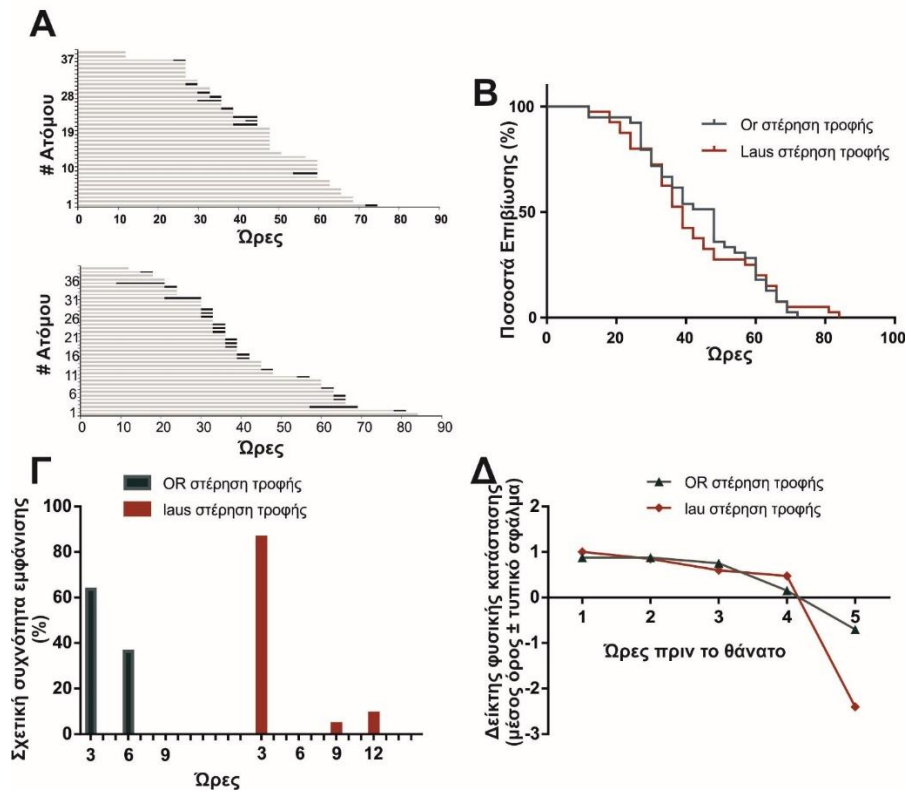
### Στέρηση νερού και τροφής



## Στέρηση τροφής

Οι καμπύλες επιβίωσης των πληθυσμών (Εικ. Α, Β) δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά παρόλο που το 50% των ατόμων Or-R απεβίωσε τη 48<sup>η</sup> ώρα ενώ των ατόμων Lausanne'S τη 39<sup>η</sup> ώρα. Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειουργιών δείχνει ότι στον πληθυσμό Or-R το 65% των ατόμων παρουσιάζουν δυσλειουργίες τις 3 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο (Εικ. Γ) σε αντίθεση με τον πληθυσμό Lausanne'S όπου το αντίστοιχο ποσοστό ανεβαίνει στο 90%. Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης των πληθυσμών ακολουθεί μια προοδευτική αρνητική τροχιά τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο, χωρίς να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των καμπυλών εκτός από τις 3 τελευταίες ώρες πριν το θάνατο. ( $p < 0.0001$ ; Εικ. Δ). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο (καταστροφική δυσλειουργία; Εικ.Α, Δ).

## Στέρηση τροφής

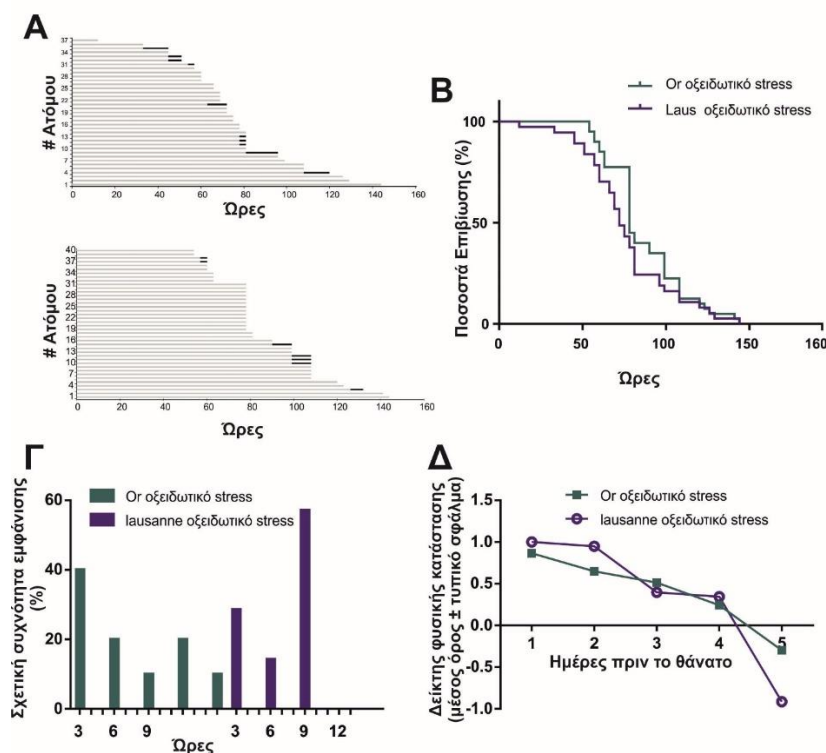




## ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS

Οι καμπύλες επιβίωσης των πληθυσμών (Εικ. Α, Β) δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά παρόλο που το 50% των ατόμων Or-R απεβίωσε τη 72<sup>η</sup> ώρα ενώ των ατόμων Lausanne'S τη 78<sup>η</sup> ώρα. Η σχετική συχνότητα εμφάνισης των δυσλειουργιών δείχνει ότι στον πληθυσμό Or-R το 40% των ατόμων παρουσιάζουν δυσλειουργίες τις 3 τελευταίες ώρες πριν από τον θάνατο ενώ στον (Εικ. Γ) πληθυσμό Lausanne'S το αντίστοιχο ποσοστό πέφτει στο 30%. Σημαντικά ποσοστά ατόμων του πληθυσμού Or-R εμφανίζουν δυσλειουργίες μεταξύ 3-15 ωρών πριν το θάνατο ενώ του πληθυσμού Lausanne'S μεταξύ 3-9 ωρών (Εικ.Γ). Να σημειωθεί ότι το 60% των ατόμων του πληθυσμού Lausanne'S εμφανίζουν δυσλειουργίες 9 ώρες πριν το θάνατο (Εικ.Γ). Η μεταβολή του μέσου όρου του δείκτη της φυσικής κατάστασης των πληθυσμών ακολουθεί μια προοδευτική αρνητική τροχιά τις τελευταίες ώρες πριν τον θάνατο, χωρίς να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των καμπυλών (Εικ. Δ). Σημαντικό ποσοστό ατόμων δεν παρουσίασε κάποια δυσλειουργία έως και 3 ώρες πριν τον θάνατο (καταστροφική δυσλειουργία; Εικ.Α, Δ).

### Οξειδωτικό stress



## 1.6 dCORL, dILP2, μακροζωία και ποιότητα ύστερης ενήλικης ζωής

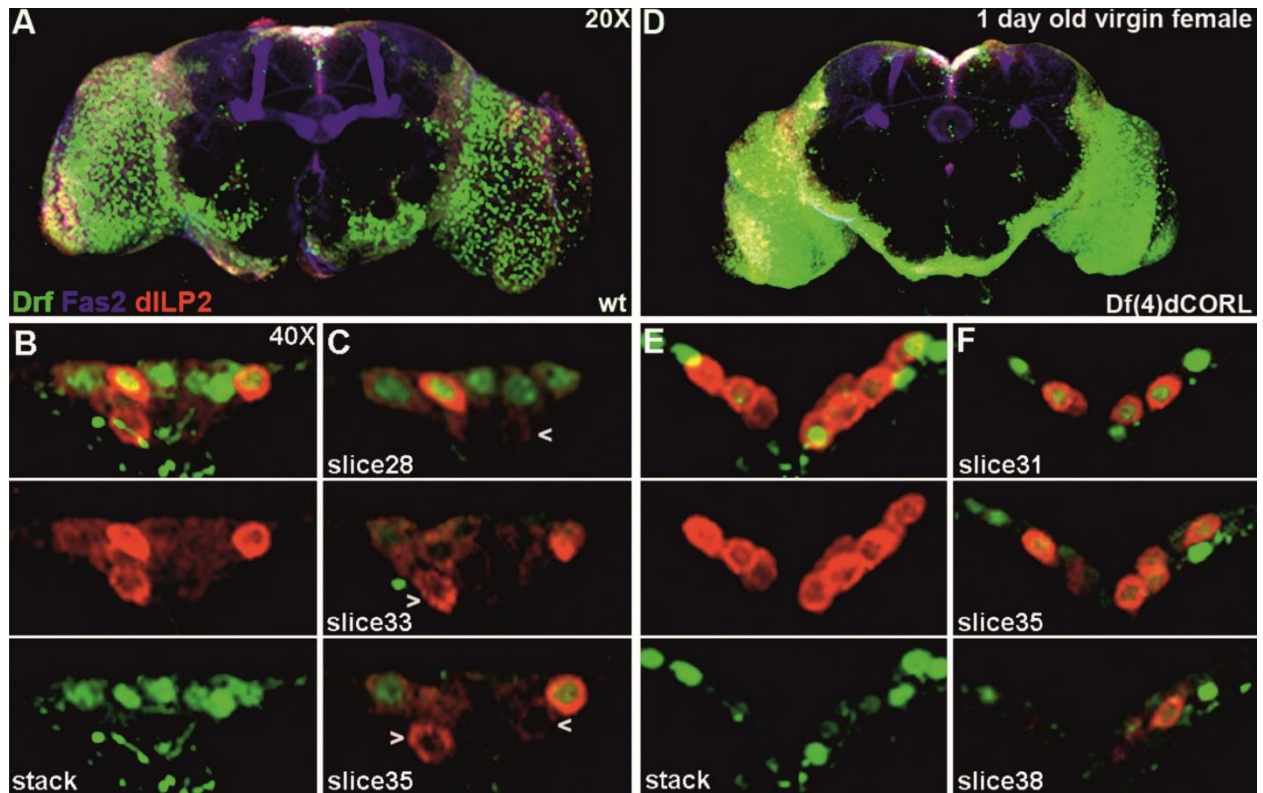
**Λειτουργική ή/και δομική αναγέννηση των dILP2 (ινσουλινο-μιμητικά πεπτιδία 2) νευρώνων στον εγκέφαλο και η σχέση τους με τη μακροζωία και την κινητική κατάσταση του οργανισμού.**

Σε προηγούμενη εργασία δείχτηκε ότι το dCORL εκφράζεται σε νευρώνες του εγκεφάλου αλλά όχι στους μανιταροειδής νευρώνες της προνύμφης (Tran et al., 2018), ενώ έχει επίσηςδειχτεί ότι το dCORL είναι απαραίτητο για την ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού TGF-β/Activin στους μανιταροειδής νευρώνες του ενήλικου (Takaesou et al., 2012). Αυτά τα δύο ευρήματα συγκλίνουν στο ότι το γονίδιο dCORL δρά μη αυτόνομα στους νευρώνες των μανιταροειδών σωματίων, και επέτρεψαν να εξεταστεί η υπόθεση ότι το dCORL εκφράζεται σε γειτονικούς νευρώνες στην περιοχή PI (Pairs Intercebralis) οι οποίοι έχουν νευροεκρηκτικό ρόλο αφού παράγουν και εκκρίνουν τα dILP2 (drosophila Insoulin Like Peptides 2). Η ανάλυση έδειξε ότι το AH.lacZ (πηρυνικός lac-Z reporter που περιέχει ένα τμήμα γενωμικού DNA 7-11kb ανωφερώς της μεταγραφικής έναρξης του dCORL; Tran et al. 2018) εκφράζεται έντονα στο PI μόνο του ή/και σε συνδυασμό με τον παράγοντα μεταγραφής Drifter (Εικ. 1 A,B,C). Ο Drifter είναι παράγοντας μεταγραφής με POU and Homeobox περιοχές. Παίζει διάφορους ρόλους κατά την ανάπτυξη του ΚΝΣ με κύρια παραδείγματα στη Drosophila τους νευρώνες του οπτικού λοβού (Hasegawa et al., 2011) και τους προβάλλοντες νευρώνες (projection neurons) του οσφρητικού λοβού (Komiya and Luo 2007). Το πλησιέστερα ομόλογο γονίδιο του Drifter στους ανθρώπους είναι το Oct9/Brn4 που παίζει ρόλο στη διαφοροποίηση νευρικών κυττάρων του κοιλία και μεταλλάξεις του προκαλούν απώλεια ακοής (de Kok et al., 1995).

Συνολικά βρέθηκαν και στα δύο ημισφαίρια κατά μέσο όρο 18,4 νευρώνες που εκφράζουν το AH.lacZ, 9,8 νευρώνες που εκφράζουν Drifter, ενώ 5-7 νευρώνες συνεκφράζουν AH.lacZ και Drifter. Κατά συνέπεια 3-4 νευρώνες εκφράζουν μόνο AH.lacZ και άλλοι τόσοι νευρώνες που εκφράζουν Drifter (Εικ., 1A,B,C). Μελέτες συνέκφρασης έδειξαν ότι το AH.lacZ είναι παρόν στον πυρήνα όλων των dILP2 νευρώνων.

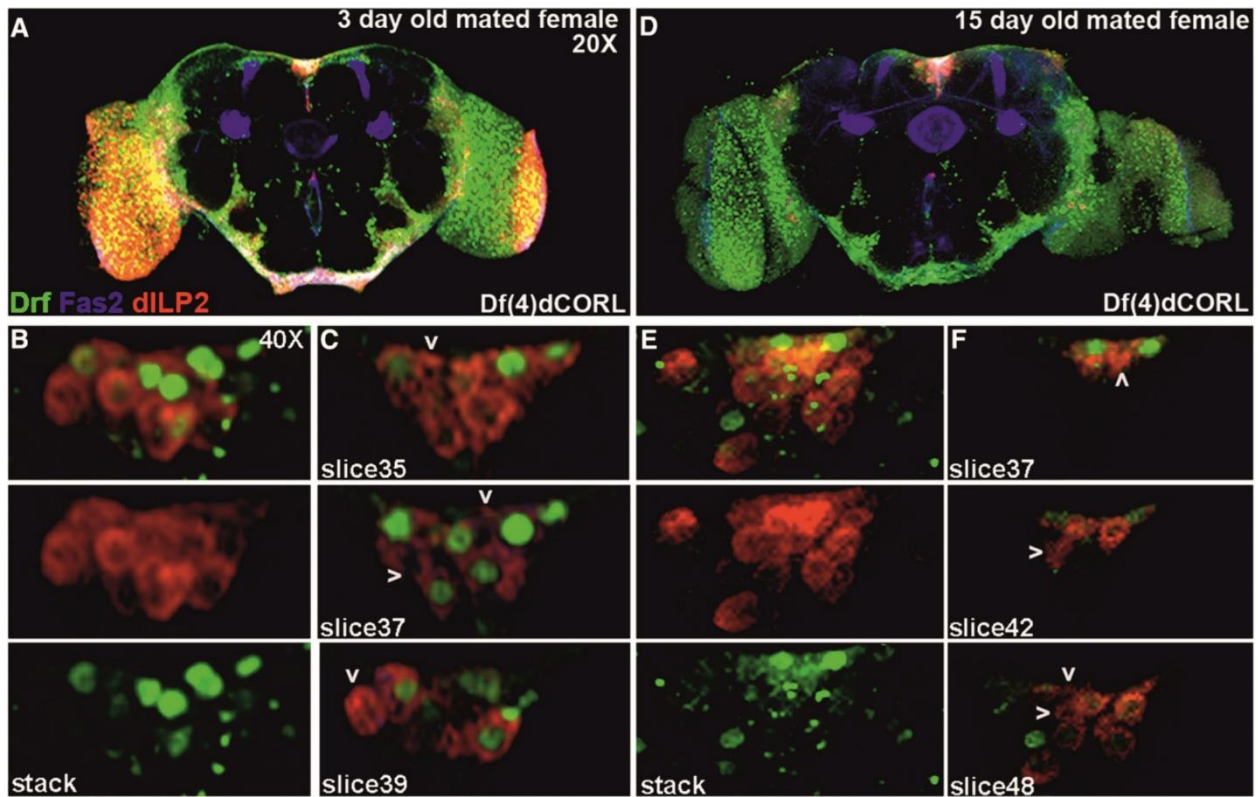
Δεδομένου του συνεντοπισμού των *AH.lacZ*, *dILP2* και *Drifter* στους νευρώνες του PI εξετάστηκαν η έκφραση των *dILP2* και *Drifter* στους εγκεφάλους των παρθένων ενήλικων που ήταν ομόζυγα για την απαλοιφή *dCORL*. Ο στόχος ήταν να καθοριστεί εάν η εξάλειψη του *dCORL* παίζει κάποιο ρόλο στην έκφραση των *dILP2* και *Drifter*. Βρέθηκε ότι εκφράζονται τόσο τα *dILP2* όσο και ο *Drifter* ωστόσο, παρατηρήθηκε 35% μείωση στον αριθμό των νευρώνων που εκφράζουν *dILP2* αλλά όχι *Drifter* (Εικ., 1EDF). Αυτό σημαίνει είτε ότι οι νευρώνες αυτοί δεν υφίστανται λόγω αποτυχίας κατά την διαίρεση και διαφοροποίηση τους από νευροβλάστες είτε υπάρχουν αλλά δεν εκφράζουν τα συγκεκριμένα γονίδια και πρωτεΐνες. Ο φαινότυπος αυτός διασώθηκε πλήρως όταν επετράπη στα ομόζυγα για την απαλοιφή *dCORL* παρθένα, αρσενικά και θηλυκά άτομα να γονιμοποιηθούν (Εικ., 2).

Έχει δειχτεί ότι οι *dILP2* νευρώνες στην *Drosophila* σχετίζονται και καθορίζουν τη διάρκεια ζωής (Droujinine and Perrimon 2016). Για να καθοριστεί το κατά πόσο το *dCORL* παίζει κάποιο ρόλο στη διάρκεια ζωής και στη ποιότητα της ύστερης ζωής, παρθένα και μη παρθένα αρσενικά και θηλυκά άτομα εξετάστηκαν μέχρι το τέλος της ζωής τους ως προς τη φυσική τους κατάσταση με τη δοκιμασία αναρρίχησης. Κατά τον ίδιο τρόπο μελετήθηκε η φυσική κατάσταση αρσενικών και θηλυκών της προγονικής σειράς  $yw^+$ . Η εικόνα 3A,B, δείχνει τις καμπύλες ζωής οκτώ πληθυσμών (4 για *dCORL* και 4 για  $yw^+$ ). Δύο πληθυσμοί (παρθένα αρσενικά και θηλυκά *dCORL*) έζησαν σημαντικά λιγότερο από τους πληθυσμούς *dCORL* των οποίων τα άτομα είχαν γονιμοποιηθεί όπως επίσης και από τους τέσσερις γονικούς πληθυσμούς (παρθένα και γονιμοποιημένα αρσενικά και θηλυκά άτομα). Κατά συνέπεια η απαλοιφή του *dCORL* έχει δραματικές επιπτώσεις όσον αφορά τη διάρκεια ζωής της *Drosophila melanogaster*. Επιπλέον η μελέτη της κινητικής κατάστασης σε όλη τη διάρκεια ζωής αρσενικών παρθένων και γονιμοποιημένων ατόμων έδειξε ότι τα παρθένα αρσενικά εκτός από το γεγονός της μικρότερης διάρκειας ζωής παρουσιάζουν και μικρότερη διάρκεια κινητικών δυσλειουργιών σε σχέση με τα γονιμοποιημένα (Εικ. 4A,B,Γ).



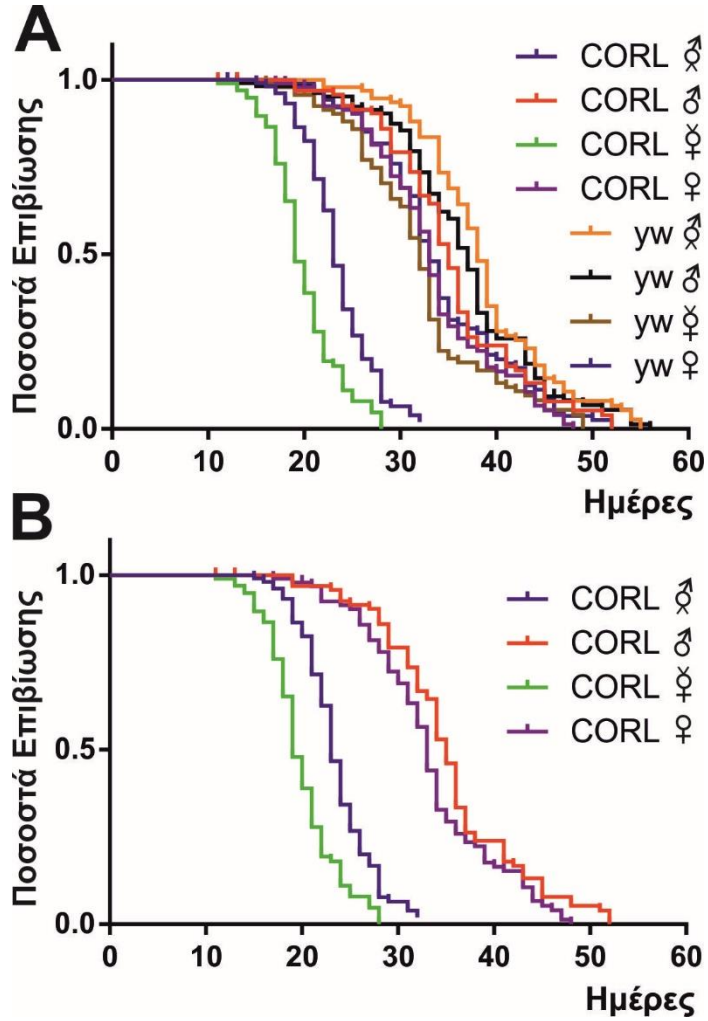
Εικόνα 1

Οι dILP2 νευρώνες που δεν εκφράζουν Drifter είναι απόντες από τους εγκεφάλους παρθένων dCORL ενήλικων ατόμων. Στις εικόνες συνεστιακού μικροσκοπίου φαίνονται οι εγκεφαλοι παρθένων θηλυκών ατόμων ηλικίας μιας ημέρας. Το Drifter (πράσινο), Fas2 (μπλε) και το dILP2 (κόκκινο). Α) Αγρίου τύπου ( $\gamma 1w67c23$ ) εγκεφαλος σε μεγέθυνση 20X δείχνει το dILP2 και το Drifter στην περιοχή PI (Pairs Intercebralis-frontodorsal). Β) 40X μεγέθυνση του PI σε στοιβάδα οπτικών η (C) μεμονωμένων τομών που δείχνουν ότι οι νευρώνες που συνεκφράζουν dILP2 και Drifter σχηματίζουν μια σειρά κατά μήκος του PI. D) Df(4)dCORL εγκεφαλος σε μεγένθυση 20X. E) 40X stack μεγέθυνση του PI σε στοιβάδα οπτικών η (F) μεμονωμένων τομών που δείχνουν μείωση στον αριθμό των dILP2 νευρώνων που δεν εκφράζουν Drifter (Tran et al., 2018).



## Εικόνα 2.

Οι dILP2 νευρώνες που δεν εκφράζουν Drifter και είναι απόντες από τους εγκεφάλους παρθένων dCORL ενήλικων ατόμων, επανεμφανίζονται μετά τη γονιμοποίηση. Στις εικόνες συνεστιακού μικροσκοπίου φαίνονται οι εγκεφαλοι γονιμοποιημένων θηλυκών ατόμων ηλικίας 3 και 15 ημερών. Το Drifter αναπαρίσταται με (πράσινο), το Fas2 (μπλε) και το dILP2 (κόκκινο). 3 (A) και 15 (B) ημερών εγκεφαλος σε μεγέθυνση 20X δείχνει το dILP2 και το Drifter στην περιοχή PI (Pairs Intercebralis-frontodorsal). (B, E) 40X μεγέθυνση του PI σε στοιβάδα οπτικών τομών η (C, F) μεμονωμένων τομών που δείχνουν ότι οι νευρώνες που εκφράζουν dILP2 αλλά όχι Drifter επανεμφανίζονται σε εγκεφάλους γονιμοποιημένων ατόμων (Tran et al., 2018).



Εικόνα 3.

Καμπύλες ζωής 8 πληθυσμών. Παρθένα dCORL ενήλικα άτομα, ζουν λιγώτερο σε σχέση με γονιμοποιημένα ενήλικα τόσο της μεταλλαγμένης σειράς dCORL όσο και της γονικής σειράς yw<sup>+</sup>.

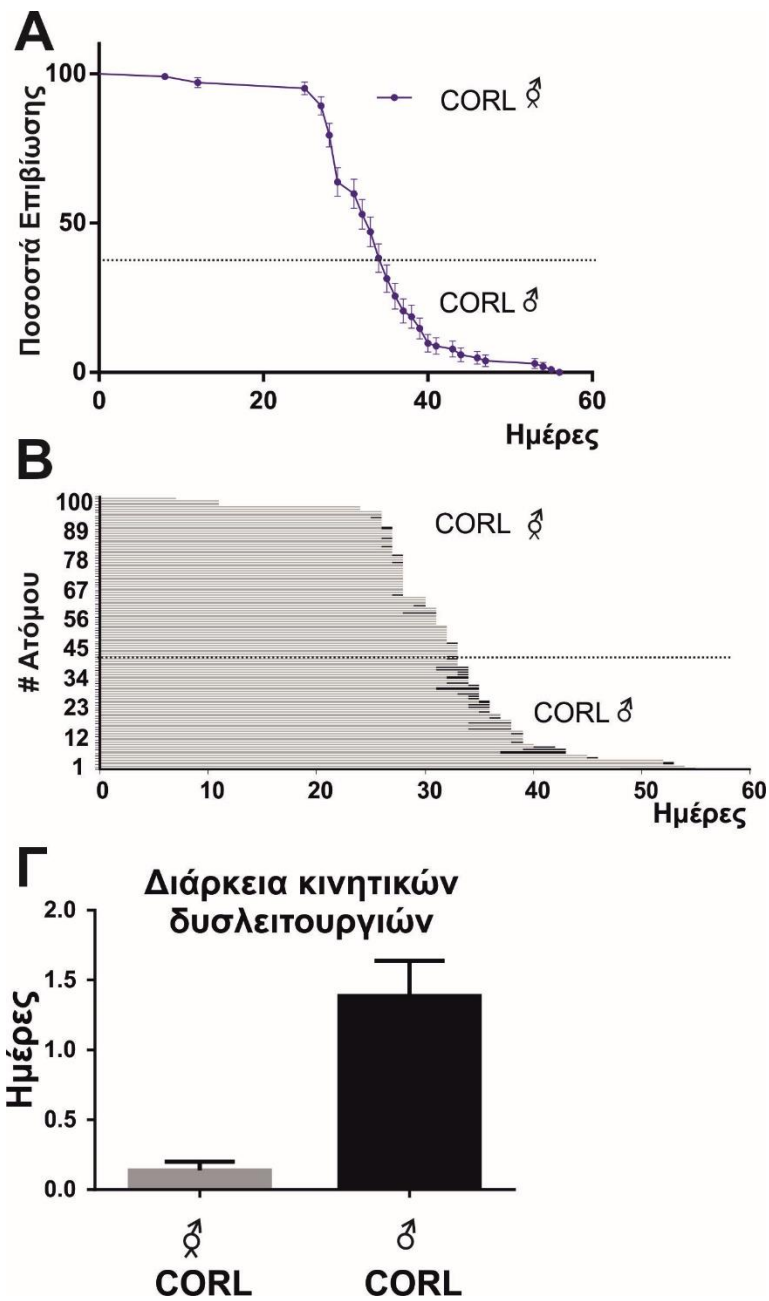
## Πίνακας

σειρά	Median (days)	Mean (days)	SD (days)	Max LS observed /Max LS from replicates (days)	p-value virgin vs mated	No. un-censored	No. censored	No. cohorts	N
dCorl Male virgin	23	23.21	3.527	32 (31, 29,31,32)		93	11	4	104
dCorl Male mated	35	34.95	7.144	52 (52,43,51,52,43)	< 0.0001	85	11	5	96
dCorl Female virgin	19	19.51	3.437	28 (27,25,28,28)		87	10	4	97
dCorl Female mated	33	33.03	6.672	48 (45,47,48,47)	< 0.0001	87	7	4	94
ywl Male virgin	38	38.34	6.825	55 (54,55,54,55)		84	9	4	93
yw Male mated	37	36.38	7.741	56 (54,56,54,44)	0.0825	96	9	4	104
yw Female virgin	32	31.69	7.018	49 (49,48,49,49)		86	5	4	91
yw Female mated	33	33.87	7.312	52 (50,47,52,52)	0.1408	84	6	4	90

Τα δεδομένα είχαν κανονική κατανομή (D'Agostino & Pearson omnibus normality test) και η σύγκριση της διάρκειας ζωής μεταξύ των πληθυσμών έγινε μέσω two tailed T-test  
Επίπεδα σημαντικότητας: \*p < 0.05; \*\* p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 and \*\*\*\* p<0.0001  
LS:lifespan,

Strain	dCorl Male mated	dCorl Female mated	yw Male mated	Yw Female mated
dCorl Male virgin	135.9 < 0.0001			
dCorl Female virgin		158.3 < 0.0001		
ywl Male virgin			1.599 0.2060	
yw Female virgin				3.119 0.0774

Η σύγκριση μεταξύ των καμπυλών ζωής έγινε με την εφαρμογή του Log-rank (Mantel-Cox) test.  $\chi^2$  : άνω αριθμοί, p-value : κάτω αριθμοί.



Εικόνα 4.

A. Καμπύλη ζωής 43 γονιμοποιημένων και 58 παρθένων dCORL αρσενικών ατόμων. Β. Διάγραμμα φυσικής κατάστασης των ενήλικων αρσενικών. Γ. Τα παρθένα dCORL άτομα εμφανίζουν μικρότερη διάρκεια δυσλειουργιών και ζουν λιγότερο σε σχέση με τα γονιμοποιημένα dCORL άτομα ( $p < 0.0001$ , non-parametric, Mann-Whitney U test).



## 1.7 ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΝΕΥΡΩΝΙΚΟΥ ΚΥΚΛΩΜΑΤΟΣ GFS ΚΑΙ Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΡΟΚΛΗΤΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ ΣΤΟΝ ΝΕΑΡΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.

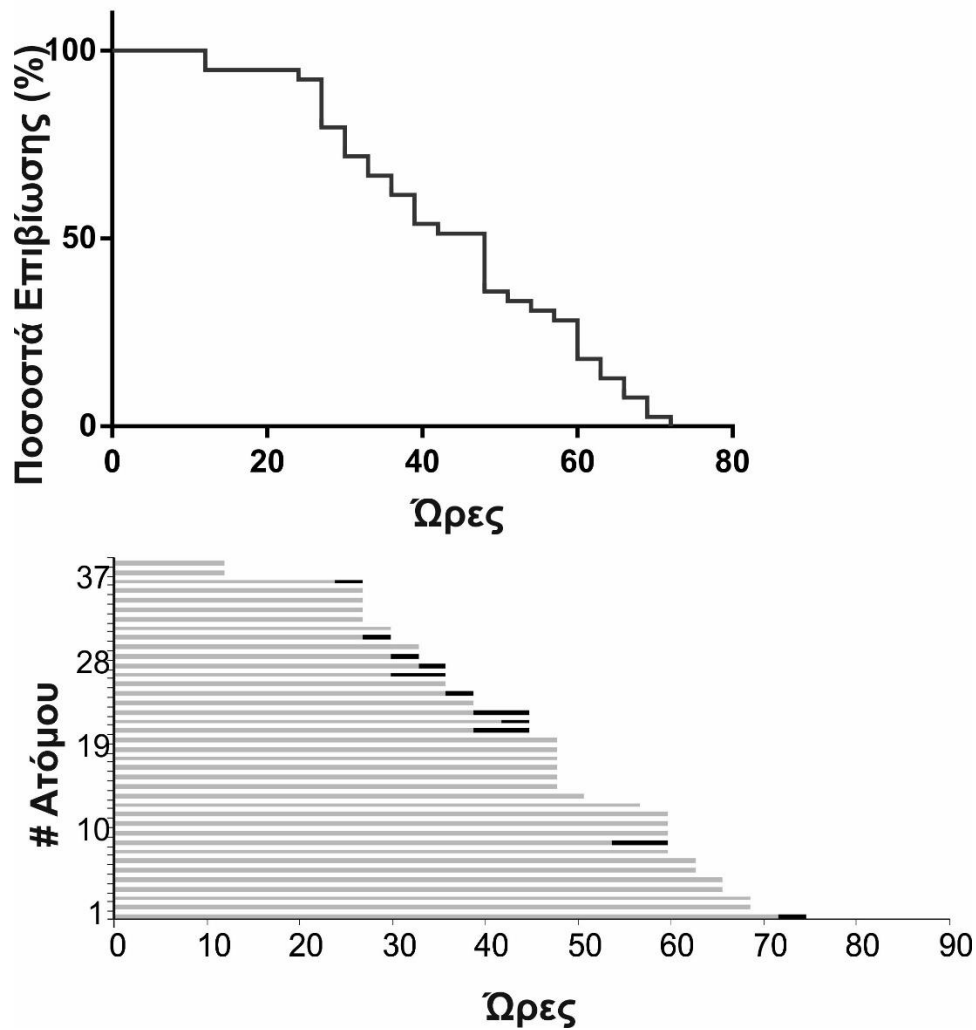
Η λειτουργική έκπτωση του υποκυκλώματος GF-DLMs σε νεαρά ζώα ηλικίας 5 ημερών που υπόκεινται σε δοκιμασία στέρησης νερού ή/και τροφής (Εικ. 1) μελετήθηκε με τη βοήθεια ηλεκτροφυσιολογικών καταγραφών. Καταγραφές πραγματοποιήθηκαν από 3 κατηγορίες ατόμων: I. Άτομα που είχαν υποστεί παρατεταμένη στέρηση τροφής αλλά ήτανε ικανά για αναρρίχηση, II. Άτομα που είχαν υποστεί παρατεταμένη στέρηση τροφής αλλά δεν ήταν ικανά προς αναρρίχηση III. Άτομα της 2<sup>ης</sup> κατηγορίας στα οποία είχε παρασχεθεί τροφή για 1 ώρα με αποτέλεσμα να επανακτήσουν πλήρως την αναρριχητική τους ικανότητα.

Η λειτουργικότητα του GFS εξακριβώθηκε εκτιμώντας τέσσερις ηλεκτροφυσιολογικές παραμέτρους: 1) βραχύχρονη απόκριση (Short Latency Response, SLR), 2) ανερέθιστη περίοδος (Refractory Period, RP), 3) επαγόμενη συχνότητα 50% (Following Frequency 50%, FF50) (Engel and Wu, 1992) (βλ. Υλικά και Μέθοδοι, εικ. ) και 4) μακροχρόνια απόκριση (Long Latency Response, LLR)

Η ενεργοποίηση του υποκυκλώματος GF-DLM πραγματοποιήθηκε με άμεση ή έμμεση διέγερση του GF και καταγραφή της απάντησης (δυναμικά ενέργειας) από τους μυς DLMs. Τα αποτελέσματα των καταγραφών παρατίθενται στις εικόνες 3, 4. Τα άτομα της ομάδας υπό στέρηση τροφής που απέτυχαν στην αναρρίχηση εμφανίζουν στατιστικά σημαντική αύξηση στην βραχυχρόνια απόκριση (SLR) σε σύγκριση με τα άτομα διατηρούσαν την ικανότητα για αναρρίχηση. Αυτός ο φαινόμενο αναστράφηκε και μάλιστα βελτιώθηκε μετά την παροχή τροφής (άτομα που ανέκαψαν, Εικ. 3A, Αι). Όσο αφορά τις επόμενες 2 παραμέτρους δηλαδή την περίοδο ανερεθιστότητας (RP, Εικ. 3B, Βι) και την επαγόμενη συχνότητα 50% (FF50, Εικ. 3Γ, Γι) δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών κατηγοριών. Τέλος, όσο αφορά την 4<sup>η</sup> παράμετρο, την μακροχρόνια απόκριση (LLR, Εικ. 4A, Γ), αυτή μηδενίστηκε στα άτομα που απέτυχαν στην αναρρίχηση αλλά, αναγεννήθηκε και βελτιώθηκε μετά την παροχή τροφής (Εικ. 4A, Γ). Τα ανωτέρω δεδομένα δείχνουν ότι η έλλειψη τροφής προκαλεί αντιστρεπτή βλάβη στο εύπλαστο τμήμα του κυκλώματος (Φωτουποδοχείς-ΓΝ) σε

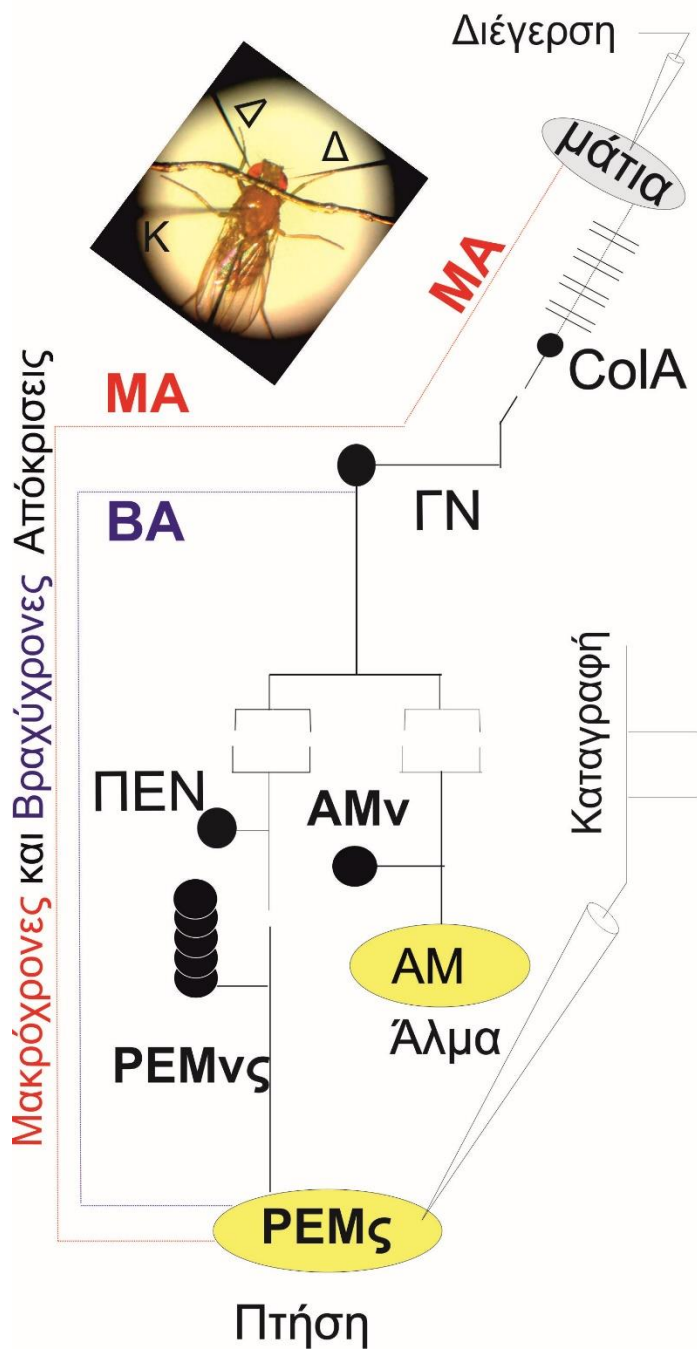
αντίθεση με το στερεοτυπικό τμήμα (ΓΝ-μύες). Άρα το εύπλαστο τμήμα είναι περισσότερο ευαίσθητο στην έλλειψη θρεπτικών συστατικών και ενέργειας.

## Oregon-R, Στέρηση τροφής

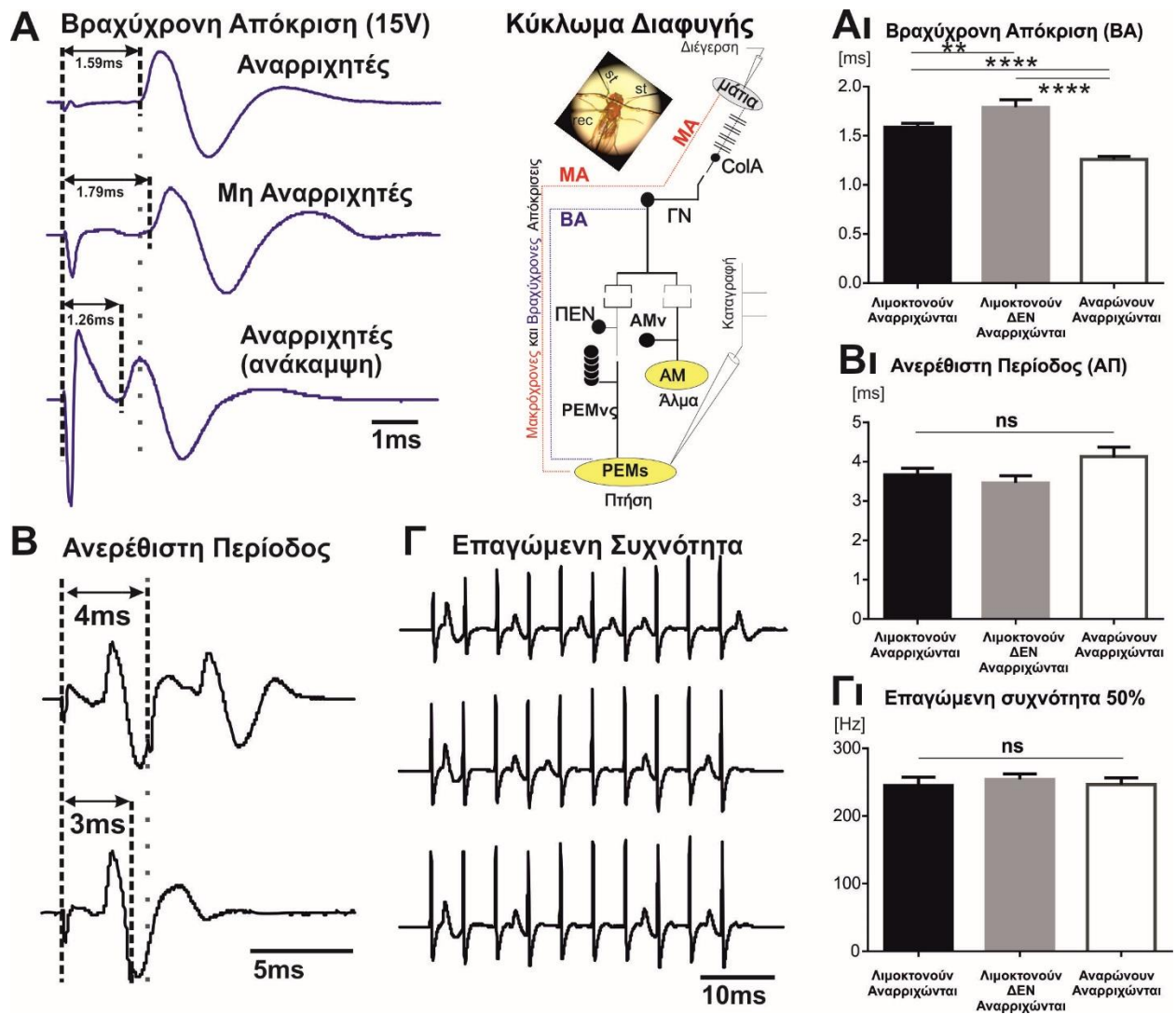


**Figure 1. A.** Διαγραμματική απεικόνιση της περιόδου υγιούς και μη-υγιούς συμπεριφοράς που εμφάνισε καθένα από τα 40 άτομα ηλικίας 5 ημερών υπό συνθήκες στέρησης τροφής. Οι καταγραφές της φυσικής κατάστασης γίνονταν κάθε 3 ώρες έως τον θάνατο τους. **B.** Καμπύλη επιβίωσης του πληθυσμού.

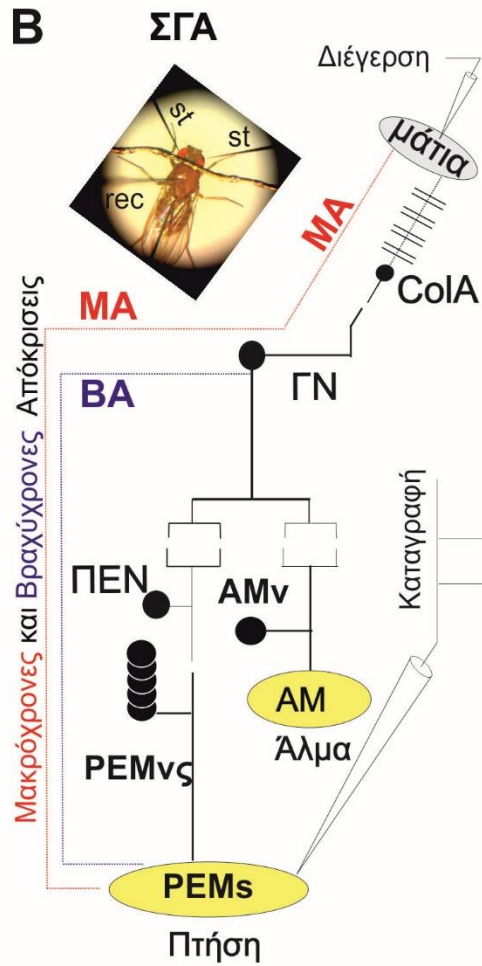
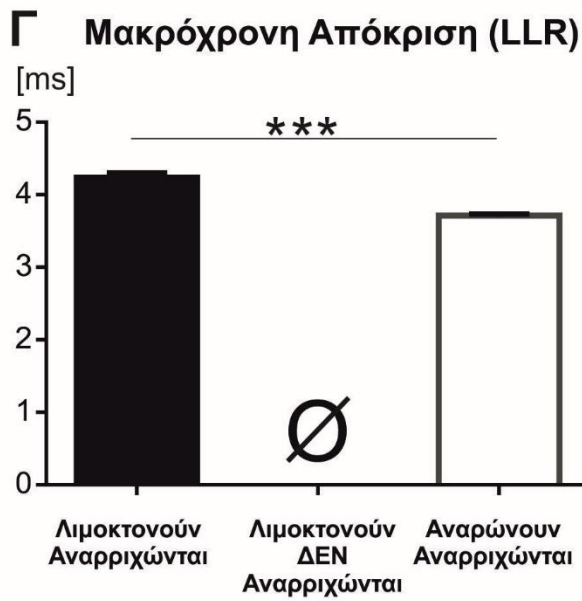
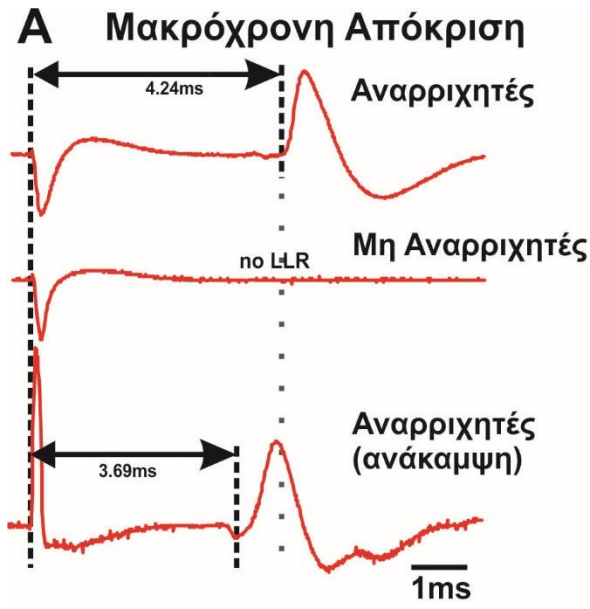
## ΓΝ Κύκλωμα Διαφυγής



**Εικόνα 2.** Διαγραμματική αναπαράσταση του κυκλώματος διαφυγής του γιγαντιαίου νευρώνα. ΓΝ: Γιγαντιός νευρώνας, ΠΕΝ: Περιφερειακός Ενδιάμεσος Νευρώνας, ΡΕΜς: Ραχιαίοι Επιμήκειοι Μύες, ΡΕΜνς: νευρώνες των ΡΕΜ, ΑΜ: Αλτικός Μυς, ΑΜν: νευρώνας του ΑΜ.



**Εικόνα 3. Α. Β. Γ.** Οι τρεις παράμετροι του κυκλώματος ΓΝ-ΠΕΜς. **Αι. Βι. Γι.** Διαγράμματα τιμών. ΣΓΑ: Σύστημα Γιγαντιαίων Αξόνων, ΓΝ: Γιγαντιαίος Νευρώνας, ΠΕΝ: Περιφερειακός Ενδιάμεσος Νευρώνας, ΠΕΜς: Ραχιαίοι Επιμήκεις Μύες, ΠΕΜνς: νευρώνες των ΠΕΜ, ΑΜ: Αλτικός Μυς, ΑΜν: νευρώνας του ΑΜ



**Εικόνα 4. Α. Γ.** Καταγραφές μακρόχρονης απόκρισης (καταγραφές από τους ΡΕΜς μετά από χαμηλής έντασης ηλεκτρική διέγερση του γιγαντιαίου νευρώνα) και διάγραμμα αντίστοιχα. **Β.** Γραφική αναπαράσταση του νευρωνικού κυκλώματος που ευθύνεται για τη συμπεριφορά διαφυγής του εντόμου. ΣΓΑ: Σύστημα Γιγαντιαίων Αξόνων, ΓΝ: Γιγαντιαίος Νευρώνας, ΠΕΝ: Περιφερειακός Ενδιάμεσος Νευρώνας, ΡΕΜς: Ραχιαίοι Επιμήκεις Μύες, ΡΕΜνς: νευρώνες των ΡΕΜ, ΑΜ: Αλτικός Μυς, ΑΜν: νευρώνας του ΑΜ

# ΣΥΖΗΤΗΣΗ

## 1. Γήρανση στη *Drosophila*

Η γήρανση στη *Drosophila* έχει μελετηθεί επισταμένα στο επίπεδο της συμπεριφοράς. Κάποιοι από τις συμπεριφορές εμφανίζουν έκπτωση νωρίς κατά την διάρκεια της ζωής, ενώ για άλλες έχει αναφερθεί ότι διατηρούνται μέχρι το τέλος της ζωής σχεδόν αναλλοίωτες. Για παράδειγμα η έκπτωση στην οσφρητική μνήμη εμφανίζεται πολύ νωρίς μόλις στη 2<sup>η</sup> εβδομάδα κατά τη διάρκεια ζωής του ενήλικου ατόμου, σε αντίθεση η συμπεριφορά διαφυγής λόγω επίπνου ερεθίσματος (ηλεκτρικό σοκ) φαίνεται να διατηρείται μέχρι το τέλος της ζωής (Gargano, Martin et al. 2005).

Προηγούμενη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο μας καθόρισε τις αλλαγές στη φυσική κατάσταση σε όλη τη διάρκεια της ζωής μέχρι την ώρα του φυσικού θανάτου (Α.Γαϊτανίδης Δ.Δ, 2013: Gaitanidis et al, submitted for publication).

Η παρούσα διατριβή επιβεβαίωσε τα ευρήματα της αρχικής μελέτης και επιπλέον εξέτασε τις αλλαγές στη φυσική κατάσταση πληθυσμών αγρίου τύπου που είχαν υποστεί συγκεκριμένους διατροφικούς χειρισμούς. Ανεξάρτητα από τις αλλαγές της διάρκεια ζωής το πρότυπο αλλαγών της φυσικής κατάστασης παρέμεινε αναλλοίωτο. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ότι: (α) η προθανάτια νοσηρότητα γενικά ήταν βραχείας διάρκειας (λίγες ημέρες πριν τον θάνατο), (β) η ετερογένεια ως προς την έναρξη και την διάρκεια των δυσλειτουργιών ήταν μεγάλη, (γ) Η κινητική δυσλειτουργία που παρατηρήθηκε σε όλους τους πληθυσμούς κυμάνθηκε μεταξύ ήπιας και βαριάς μορφής δυσλειτουργίας (4 υποκατηγορίες κινητικών δυσλειτουργιών) (δ) Σε όλους τους πληθυσμούς βρέθηκαν άτομα που ανέπτυξαν δυσλειτουργία στη βάδιση και αναρρίχηση (έκπτωση στη λειτουργία αρθρώσεων ενός ή περισσότερων ποδιών), (ε) Επιπρόσθετα μελετήθηκε η έκπτωση στη ταχύτητα κίνησης κατά τη γήρανση (ζ) Σε όλους τους πληθυσμούς παρατηρήθηκε το φαινόμενο της καταστροφικής έκπτωσης (ενήλικα άτομα τα οποία ήταν σε καλή φυσική κατάσταση και κατέρρευσαν λίγες ώρες πριν τον θάνατο), (η) Σε όλους τους πληθυσμούς παρατηρήθηκε το φαινόμενο της αυξημένης κινητικότητας σε κάποια άτομα λίγες ώρες πριν τον θάνατο, (θ) Σε όλους τους πληθυσμούς παρατηρήθηκε το φαινόμενο της παράδοξης συμπεριφοράς σε κάποια άτομα (μη αναμενόμενη συμπεριφορική απάντηση στο ερέθισμα).

Τα ανωτέρω ευρήματα δείχνουν ότι: Σε γενικές γραμμές η επέκταση της διάρκειας ζωής (lifespan) οφείλεται στην αύξηση της διάρκειας υγιούς ζωής (healthspan), κάτι το οποίο έχει παρατηρηθεί σε πολυάριθμες μελέτες διατροφικών και γενετικών χειρισμών (Kenyon, 2010; Partridge et al., 2011). Παρόλα αυτά η διάρκεια της νοσηρότητας και η δριμύτητα των δυσλειτουργιών διέφερε μεταξύ των πληθυσμών (βλέπε παρακάτω). Να σημειωθεί ότι η προθανάτια νοσηρότητα και η πιθανή μεταβολή της δεν είχε μελετηθεί προηγουμένως στη *Drosophila*. Κατά συνέπεια ήταν άγνωστη η επίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών χειρισμών στη ποιότητα ζωής των ηλικιωμένων ατόμων.

## 2. Μεταβολή στη διάρκεια ζωής μέσω διατροφικών χειρισμών

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι: (α) η διάρκεια ζωής αυξήθηκε στους πληθυσμούς αυτούς που τράφηκαν με υψηλά επίπεδα υδατανθράκων (β) η διάρκεια ζωής αυξήθηκε και στα δύο φύλα με την προσθήκη αντιοξειδωτικών ουσιών στην διατροφή (γ) η ταυτόχρονη προσθήκη αντιοξειδωτικών σε διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων δεν προκάλεσε προσθετικό αποτέλεσμα. Δηλαδή ενώ ο κάθε παράγοντας από μόνος του αύξησε τη διάρκεια ζωής και οι δύο παράγοντες ταυτόχρονα δεν προκάλεσαν περαιτέρω αύξηση στη διάρκεια ζωής, (δ) στα θηλυκά άτομα ιδιαίτερα είχε αρνητικά αποτελέσματα. Η διάρκεια ζωής ελαττώθηκε και ένας μεγάλος αριθμός ατόμων εμφάνισε χαρακτηριστικά μεταβολικού συνδρόμου.

Ο λόγος της συγκέντρωσης υδατανθράκων προς πρωτεΐνες (υ/π) παίζει καθοριστικό ρόλο στη ευζωία και στη καλή φυσική κατάσταση των εντόμων. Μελέτες δείχνουν ότι τα έντομα έχουν την ικανότητα να εξισορροπούν την ποσότητα των πρωτεϊνών και υδατανθράκων που καταναλώνουν (RRR). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν την σημαντικότητα του λόγου υ/π στη γήρανση της *Drosophila* (Lee et al., 2008). Η σημαντικότητα αυτού του λόγου επιβεβαιώθηκε με τη χρήση καθαρών χημικών συστατικών για την ακριβή παρασκευή της δίαιτας. Η διάρκεια ζωής μειώθηκε όταν ο λόγος υ/π μειώθηκε από 2:1 σε 1:4 κάτι που επιβεβαίωσε ότι η πρόσληψη μεγάλων ποσοτήτων πρωτεΐνης επιταχύνει την διαδικασία της γήρανσης στη *Drosophila*. Φυσιολογικοί μηχανισμοί που συσχετίζονται με την μείωση της διάρκειας ζωής του εντόμου εξαιτίας της αυξημένης πρόσληψης πρωτεΐνης δεν είναι ξεκάθαροι αλλά



πιθανόν να ενέχονται: (α) τοξικές δράσεις που οφείλονται στην διάσπαση νιτρογενών προϊόντων (β) αυξημένη οξειδωτική βλάβη εξαιτίας της παράγωγης ελευθέρων ριζών οξυγόνου από τα μιτοχόνδρια, (γ) αλλαγές που σχετίζονται με τα μεταβολικά μονοπάτια (ινσουλινο-ινσουλινο μιμητικός αυξητικός παράγοντας (IIS), το μονοπάτι της ραπαμικίνης (TOR), και η κινάση που ενεργοποιείται από την μονοφωσφορική αδενοσίνη (adenosine monophosphate-activated kinase) και (δ) αλλαγές στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Η υπέρογκα αυξημένη πρόσληψη υδατανθράκων σχετίζεται με την ελάττωση της διάρκειας ζωής λόγω παχυσαρκίας. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι η λεπτομερής εργασία του Lee et al., 2008 δείχνει ότι μύγες που τράφηκαν με δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων είχαν μικρό λιπιδικό δείκτη σε σχέση με ζώα που τράφηκαν σε ισορροπημένες δίαιτες.

Οι αναλογίες υ/π: 2:1 και 8:1 που χρησιμοποιήθηκαν για την θρέψη των ατόμων της παρούσας μελέτης δεν επηρεάζει τον λιπιδικό δείκτη συμφωνά με την μελέτη του Lee, 2008. Αυτό πιθανόν εξηγεί το γεγονός ότι η υψηλή συγκέντρωση υ/π αυξάνει την διάρκεια ζωής τόσο στα αρσενικά όσο και στα θηλυκά άτομα.

Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η προσθήκη των δύο αντιοξειδωτικών ουσιών, Κουρκουμίνη και Super Fruit, στη διατροφή των ατόμων είχε ως αποτέλεσμα την επέκταση του προσδόκιμου ζωής στα δύο φύλα και στις δύο δίαιτες. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα ευρήματα που προέρχονται από αντίστοιχους διατροφικούς χειρισμούς μέσω κουρκουμίνης στο στέλεχος Ra (Soh et al., 2013). Η κουρκουμίνη είναι γνωστό ότι αναστέλλει διάφορα σημαντικά εξελικτικά διατηρημένα ρυθμιστικά γονίδια συμπεριλαμβανομένων του μονοπατιού Tor στα θηλαστικά και στις μύγες (Lee et al., 2010; Sun et al., 2011). Πιο συγκεκριμένα έχει δειχθεί ότι η αναστολή του γονιδίου Tor όπως και άλλων ρυθμιστικών γονιδίων στο στάδιο της προνύμφης και στο στάδιο της νεαρής ενήλικης ζωής σε αρσενικά άτομα της *Drosophila* αυξάνουν τον προσδόκιμο ζωής (Soh et al., 2013). Επομένως, τα ευρήματα μας και τα ευρήματα προηγούμενων μελετών προτείνουν ότι: (α) Η κουρκουμίνη μεταβάλλει τη λειτουργία των μιτοχονδρίων με το άνοιγμα των πόρων των μεμβρανών τους με αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης του ATP (Morin et al., 2011) (β) το mTor έχει δειχθεί ότι δρά ως ATP αισθητήρας ανεξάρτητα από την ικανότητα του να ανιχνεύει τα επίπεδα των αμινοξέων (Dennis et al., 2001). Η μείωση του ATP προκαλεί την μείωση των επιπέδων NADH το

οποίο με τη σειρά του μειώνει τη δραστικότητα του γονιδίου *Sir 2*. Τα παραπάνω επιτρέπουν να υποθέσουμε μια πρωταρχική άμεση δράση της κουκουμίνης στα μιτοχόνδρια και δευτερογενώς στο σηματοδοτικό μονοπάτι TOR. Έχειδειχθεί ότι η κουκουμίνη μπορεί να συνδεθεί άμεσα με την πρωτεΐνη mTOR και κατά συνέπεια μπορεί να έχει μια απευθείας δράση στη δραστηριότητα του σηματοδοτικού μονοπατιού TOR (Beevers et al., 2006).

Η δράση του Super Fruit στη διάρκεια ζωής δεν είχε προηγουμένως μελετηθεί αλλά η αντιοξειδωτική του ικανότητα είχεδειχθεί από πειράματα αντίστασης σε οξειδωτικό stress ατόμων σε νεαρή ηλικία (Vrailas-Mortimer et al., 2013).

### 3. Φυσική κατάσταση στη ύστερη ενήλικη ζωή και διατροφικοί χειρισμοί

Η μελέτη έδειξε ότι όσον αφορά τη πορεία εκδήλωσης των κινητικών δυσλειτουργιών δεν άλλαξε στα αρσενικά ενώ μεταβλήθηκε στα θηλυκά άτομα των πληθυσμών 2/1+Cur, 8/1+SF, 8/1+Cur. Για όλους τους πληθυσμούς η κινητική έκπτωση ακολουθούσε επιταχυνόμενη πορεία για τα άτομα που εμφάνισαν δυσλειτουργίες για περισσότερο από μια μέρα της ζωής τους, και ευθεία πορεία για το ποσοστό του πληθυσμού που δεν παρουσίασε δυσλειτουργίες μέχρι μια ημέρα πριν τον θάνατο. Η έκπτωση της φυσικής κατάστασης στον άνθρωπο κατά το γήρας εκδηλώνεται με διαφορετικούς τρόπους και μπορεί να παρασταθεί γραφικά με πέντε καμπύλες. Αυτές είναι: επίμονη βαρεία δυσλειτουργία, προοδευτική, επιταχυνόμενη, καταστροφική και ευθεία πορεία για τα άτομα που δεν παρουσίασαν καμία δυσλειτουργία μέχρι τον τελευταίο μήνα της ζωής (Gill et al, 2010;;RRR). Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι οι πέντε αυτές καμπύλες κινητικής έκπτωσης αφορούν άτομα που παρουσίασαν μία ή περισσότερες παθολογίες και κατέληξαν με διαφορετικές κυρίες αιτίες θανάτου. Στη περίπτωση της *Drosophila* δεν έχουν αναφερθεί ηλικιοεξαρτώμενες χρόνιες νόσοι (π.χ διαβήτης τύπου 2, καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες κτλ) ή ηλικιοεξαρτώμενες νευροεκφυλιστικές νόσοι όπως Parkinson και Alzheimer. Κατά συνέπεια οι δύο καμπύλες (επιταχυνόμενη και ευθεία) που προέκυψαν από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της κινητικής έκπτωσης στη *Drosophila* συσχετίζονται με υγιή γήρανση χωρίς την παρουσία συνπαθολογιών. Όσον αφορά την πορεία της κινητικής έκπτωσης δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές

διαφορές μεταξύ των καμπυλών των πληθυσμών των αρσενικών ατόμων σε σχέση με την καμπύλη του πληθυσμού-μάρτυρα. Σε αντίθεση στους πληθυσμούς των θηλυκών ατόμων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις έξι τελευταίες ημέρες της ζωής μεταξύ των πληθυσμών 8/1+SF, 8/1+Cur σε σύγκριση με τον πληθυσμό μάρτυρα (2/1). Οι πορείες της κινητικής έκπτωσης των δύο αυτών πληθυσμών ακολουθούσαν προοδευτική τροχιά, που σημαίνει ότι τα άτομα εξέπιπταν σταδιακά μέχρι το τέλος της ζωής. Να σημειωθεί ότι η προοδευτική κινητική έκπτωση, που όπως αναφέρθηκε προηγουμένως είναι μία από τις πέντε καμπύλες έκπτωσης στον άνθρωπο, συνοδεύτηκε από συγκεκριμένη παθολογία (διαταραχή μεταβολικού συνδρόμου, βλ. παρακάτω).

Όσον αφορά τη συχνότητα κατανομής των κινητικών δυσλειτουργιών στα αρσενικά άτομα των πληθυσμών δεν υπάρχουν διαφορές σε σύγκριση με τα άτομα του πληθυσμού μάρτυρα. Σε αντίθεση στα θηλυκά άτομα οι κινητικές δυσλειτουργίες κατανέμονται σε μικρότερο ποσοστό ατόμων αλλά σε περισσότερες ημέρες πριν τον θάνατο. Παρόμοια συσχέτιση έχει αναφερθεί για τον άνθρωπο, όπου οι γυναίκες εμφανίζουν μεγαλύτερα ποσοστά αδυναμίας, πολλές συννοσηρότητες και χειρότερη κατάσταση υγείας κατά το γήρας (Gordon et al., 2017).

Όσον αφορά τη συσχέτιση ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου σε όλους τους πληθυσμούς των αρσενικών ατόμων παρέμεινε ίδια (μέτρια θετική συσχέτιση) με τον πληθυσμό μάρτυρα εκτός από τον πληθυσμό 8/1+SF, όπου δεν υπάρχει καμία συσχέτιση. Όσον αφορά τα θηλυκά άτομα του πληθυσμού μάρτυρα δεν υπήρχε συσχέτιση ανάμεσα στη διάρκεια των δυσλειτουργιών και την ηλικία θανάτου. Με την εξαίρεση του πληθυσμού των θηλυκών ατόμων 8/1+SF, για όλους τους υπόλοιπους πληθυσμούς υπάρχει μέτρια συσχέτιση. Αυτό σημαίνει ότι τα άτομα του συγκεκριμένου πληθυσμού 8/1+SF και στα δύο φύλα που πέθαναν σε μεγάλη ηλικία είχαν παρόμοια διάρκεια δυσλειτουργιών με τα άτομα που πέθαναν σε νεαρότερη ηλικία. Δεδομένου ότι η διάρκεια νοσηρότητας στους δύο αυτούς πληθυσμούς είναι μικρή, θεωρούμε ότι το αποτέλεσμα του συγκεκριμένου διατροφικού χειρισμού είναι θετικό αφού αποτελεί βελτίωση των πληθυσμών καθώς επιτρέπει αύξηση της διάρκειας ζωής με σταθερά επίπεδα νοσηρότητας ανεξάρτητα της ηλικίας θανάτου.

Όσον αφορά την συσχέτιση της ποιότητας ύστερης ζωής με την ηλικία θανάτου, στο πληθυσμό μάρτυρα των αρσενικών ατόμων ήταν μέτρια προς ισχυρά αρνητική. Αυτή η συσχέτιση εξασθένησε σε όλους τους υπόλοιπους πληθυσμούς. Στους πληθυσμούς 8/1+SF, 8/1+Cur μάλιστα η συσχέτιση αυτή εξαφανίστηκε. Όσον αφορά την συσχέτιση της ποιότητας ύστερης ζωής και την ηλικία θανάτου στο πληθυσμό μάρτυρα των θηλυκών ατόμων ήταν μηδενική. Η συσχέτιση αυτή ισχυροποιήθηκε αρνητικά στους πληθυσμούς 2/1+SF, 8/1+SF.

Όσον αφορά το ποσοστό των ατόμων που ήταν σε καλή φυσική κατάσταση σε σχέση με τα ποσοστά των ατόμων που εμφάνισαν ήπιες ή βαριές δυσλειτουργίες την τελευταία ημέρα της ζωής, οι διατροφικοί χειρισμοί στα αρσενικά άτομα αύξησαν το ποσοστό των υγιών κινητικά ατόμων και αντίστοιχα μείωσαν το ποσοστό των ατόμων με δυσλειτουργίες μόνο στους πληθυσμούς 8/1, 8/1+SF. Στα θηλυκά άτομα αυξήθηκε το ποσοστό των υγιών κινητικά ατόμων και αντίστοιχα μειώθηκε το ποσοστό των ατόμων με δυσλειτουργίες μόνο στον πληθυσμό 8/1 ενώ το ποσοστό αυτό μειώθηκε στο πληθυσμό 2/1+Cur.

Όσο αφορά την αρχική εμφάνιση της έκπτωσης στην ανταποκριτική ικανότητα στα αρσενικά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους πληθυσμούς και τον πληθυσμό μάρτυρα, με την εξαίρεση του πληθυσμού 8/1+SF για τον οποίο παρατηρήθηκε μείωση. Στους πληθυσμούς των θηλυκών ατόμων δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τον πληθυσμό μάρτυρα για την ανταποκριτική ικανότητα.

Όσο αφορά την αρχική εμφάνιση της έκπτωσης στην ταχύτητα κίνησης στα αρσενικά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους πληθυσμούς και τον πληθυσμό μάρτυρα, με την εξαίρεση του πληθυσμού 8/1+SF για τον οποίο παρατηρήθηκε μείωση. Η έκπτωση στην ταχύτητα κίνησης εμφανίστηκε νωρίτερα στους πληθυσμούς των θηλυκών ατόμων 2/1+Cur, 8/1+Cur. Λαμβάνοντας υπόψιν ταυτόχρονα τις δύο παραπάνω παραμέτρους (2 Way Anova) βρέθηκε ότι οι διατροφικοί χειρισμοί είχαν θετική επίδραση μόνο στα αρσενικά άτομα που είχαν τραφεί ως ενήλικες σε δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα υδατάνθρακα προς πρωτεΐνη με ή χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικών SF στη τροφή στο στάδιο της προνύμφης.

#### 4. Γενετικοί χειρισμοί

Η μελέτη της φυσικής κατάστασης αρσενικών ατόμων της σειράς Methuselah και της πατρικής σειράς W<sup>1118</sup> από την ηλικία των εξήντα ημερών έως τον θάνατο τους έδειξε σημαντικές διαφορές στις παραμέτρους που μετρήθηκαν και αναλύθηκαν.

Η μέση διάρκεια ζωής αυξήθηκε κατά 7 ημέρες ενώ η μέγιστη διάρκεια ζωής κατά 20 ημέρες στα άτομα της σειράς MTh σε σύγκριση με τα άτομα της πατρικής σειράς W1118. Η καμπύλη ζωής που προέκυψε από την μελέτη του mth στο εργαστήριο μας συμφωνεί με αυτήν προηγούμενων μελετών.(RRR). Η αύξηση στη διάρκεια ζωής του μεταλλαγμένου στελέχους mth οφείλεται στην μειωμένη παραγωγή ινσουλίνης και των DILPs πεπτιδίων που ακολουθείται από πτώση του μεταβολικού ρυθμού, αλλά και μέσω της ενεργοποίησης του JNK που είναι το κεντρικό μόριο στο μονοπάτι αντίστασης από stress (αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας).

Η διάρκεια των κινητικών δυσλειτουργιών αυξήθηκε, από 2 ημέρες μέση διάρκεια δυσλειτουργιών στη σειρά w1118 σε 7 ημέρες στη σειρά mth, ενώ η σχετική συχνότητα των κινητικών δυσλειτουργιών κατανέμεται στο mth 5-10 ημέρες πριν τον θάνατο σε αντίθεση με το w1118 όπου οι δυσλειτουργίες συσσωρεύονται στο μεγαλύτερο ποσοστό των ατόμων τις 3 τελευταίες ημέρες πριν τον θάνατο. Στο mth η καμπύλη της κινητικής έκπτωσης ακολουθεί προοδευτική τροχιά ενώ του w1118 ακολουθεί επιταχυνόμενη τροχιά. Σε αντίθεση με τον πατρικό πληθυσμό στον πληθυσμό mth υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της διάρκειας των κινητικών δυσλειτουργιών και της ηλικίας θανάτου. Τέλος το ποσοστό των υγιώς γηρασκόντων ατόμων (welderly) ελαττώνεται δραματικά στη σειρά mth [(50% (w1118) - 20% (mth)].

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η μετάλλαξη στο γονίδιο mth προκαλεί αύξηση της διάρκειας ζωής διαμέσου της αύξησης της διάρκειας και της δριμύτητας της προθανάτιας νοσηρότητας (illspan). Όλες οι κινητικές παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν στατιστικά χειρότερες σε σύγκριση του πατρικού πληθυσμού. Το αποτέλεσμα της κάκιστης φυσικής κατάστασης των ηλικιωμένων ατόμων για μεγάλο χρονικό διάστημα αντικατοπτρίζεται από το ελάχιστο ποσοστό των υγιώς ηλικιωμένων ατόμων την

τελευταία ημέρα της ζωής. Σύμφωνα με τα κριτήρια που έχουμε θεσπίσει για την ποιότητα της ύστερης ζωής το στέλεχος methusaleah αποτελεί ένα αρνητικό γενετικό χειρισμό για την επέκταση ζωής.

5. Φυσική κατάσταση και προθανάτια νοσηρότητα κατά τον πρόωρο θάνατο του νεαρού οργανισμού.

Η αντοχή του ατόμου σε στρεσογόνες καταστροφικές καταστάσεις, όπως η στέρση νερού ή/και τροφής και το οξειδωτικό stress που οδηγούν στην κατάρρευση και το θάνατο, είναι σημαντικός δείκτης ευρωστίας του οργανισμού, του ενεργειακού αποθέματος που διαθέτει και της ικανότητας για ομοιοστατικό έλεγχο. Ένας από τους στόχους της διατριβής μου ήταν να συγκρίνω την διάρκεια, πορεία και δριμύτητα της κινητικής έκπτωσης πριν τον πρόωρο θάνατο σε σχέση με τον ηλικιο-εξαρτώμενο φυσικό θάνατο. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι σε επίπεδο συμπεριφοράς η κινητική έκπτωση παρουσιάζει πολλές ομοιότητες μεταξύ των δύο τύπων θανάτων. Ανεξάρτητα από την διάρκεια ζωής και τον τύπο θανάτου η πορεία της κινητικής έκπτωσης εμφανίζει παρόμοιες καμπύλες (επιταχυνόμενη και καταστροφική τροχιά). Η μετάπτωση από την καλή φυσική κατάσταση σε παθολογική κινητική κατάσταση εκδηλώνεται απότομα με στοχαστικό τρόπο και τους δύο τύπους θανάτων. Όλες οι δυσλειτουργίες που ανιχνεύθηκαν πριν τον φυσικό θάνατο εμφανίζονται και πριν τον πρόωρο θάνατο με μία σημαντική διαφορά όσον αφορά την έκπτωση στη βάδιση λόγω κινητικού προβλήματος σε ένα ή περισσότερα πόδια, που δεν ανιχνεύθηκε κατά τον πρόωρο θάνατο από έλλειψη νερού ή/και τροφής. Ο αριθμός των μιτοχονδρίων στους μύες των ποδιών (RRR) ελαττώνεται δραματικά κατά τη γήρανση και όπως υποθέτουμε και κατά τον πρόωρο θάνατο μέσω οξειδωτικού stress. Η διάρκεια κινητικής έκπτωσης διαφέρει σημαντικά μεταξύ του πρόωρου και του φυσικού θανάτου λόγω γήρανσης, από ώρες σε ημέρες αντίστοιχα. Εντούτοις, ο λόγος της μέγιστης διάρκειας δυσλειτουργιών ως προς το μέσο χρόνο επιβίωσης του πληθυσμού (μέγιστη διάρκεια δυσλειτουργιών/P50) ήταν παρόμοιος για τον φυσικό θάνατο και τον πρόωρο θάνατο λόγω στέρσης τροφής και οξειδωτικού stress αλλά διέφερε από αυτόν του πρόωρου θανάτου λόγω στέρσης νερού και τροφής (φυσικός θάνατος:12,8; Θάνατος από στέρση τροφής:11,5; θάνατος

από οξειδωτικό stress: 11,25; Θάνατος από στέρση νερού και τροφής:25). Συμπερασματικά, η κινητική έκπτωση και κατάρρευση του οργανισμού εμφανίζει σημαντικές ομοιότητες μεταξύ του φυσικού ηλικιο-εξαρτώμενου θανάτου και του πρόωρου προκλητού θανάτου λόγω οξειδωτικού stress ή έλλειψης τροφής.

Η σύγκριση όλων των παραμέτρων της κινητικής έκπτωσης και κατάρρευσης του οργανισμού κατά τον πρόωρο θάνατο ανεξάρτητα από το αίτιο έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο σειρών αγρίου τύπου Oregon-R και Lausanne'S. Αυτό σημαίνει ότι κατά τον πρόωρο προκλητό θάνατο όπως και τον ηλικιο-εξαρτώμενο θάνατο το γενετικό υπόβαθρο δεν παίζει κανένα ρόλο όσον αφορά τον τύπο, την ετερογένεια εμφάνισης, τη διάρκεια ως ποσοστό της διάρκειας ζωής, την πορεία και την δριμύτητα των δυσλειτουργιών. Τέλος να σημειωθεί ότι ένα σημαντικό ποσοστό ατόμων (welderly flies) εμφανίζει μεγάλη αντοχή στις επιβλαβείς επιδράσεις της γήρανσης ή τις καταστροφικές επιδράσεις μέσω των περιβαλλοντικών χειρισμών σε νεαρή ηλικία ανεξάρτητα από τον τύπο θανάτου αφού εκπίπτουν μέσα σε ελάχιστο χρονικό διάστημα λίγο πριν τον θάνατο.

6. Επανεμφάνιση της dILP2 έκφρασης ή γένεση των ίδιων των dILP2 νευρώνων σχετίζεται με τον παράγοντα μεταγραφής CORL και την αναπαραγωγή.

Τα δεδομένα της μελέτης έδειξαν ότι υπάρχει σχέση μεταξύ της έκφρασης του dCORL, των νευρώνων που εκκρίνουν ινσουλίνη, της μακροζωίας και του ζευγαρώματος. Τα δεδομένα αυτά είναι: η έκφραση του dCORL reporter σε όλους τους dILP2 neurons της προνύμφης και του ενήλικου, το γεγονός της μειωμένης διάρκειας ζωής των παρθένων μεταλλαγμένων ατόμων dCORL, η εξαφάνιση όλων των dILP2 νευρώνων που δεν εκφράζουν Drifter στο P1, και το γεγονός της πλήρους διάσωσης του φαινοτύπου μετά το ζευγάρωμα των παρθένων μεταλλαγμένων ατόμων dCORL. Έχει δειχθεί ότι το ζευγάρωμα ελαττώνει τη διάρκεια της ζωής του θηλυκού λόγω έκθεσης στο sex-peptide (Chapman et al. 1995). Το Df(4)dCORL επιδεικνύει την αντίθετη συμπεριφορά. Να τονισθεί ότι τα τελευταία είκοσι χρόνια διάφορες μελέτες έδειξαν ότι η σχέση ζευγαρώματος και διάρκειας ζωής είναι είναι αρκετά περίπλοκη. Για παράδειγμα,

η δίαιτα μπορεί να μεταβάλει τις δράσεις του sex-peptide σε διάφορα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά συμπεριλαμβανομένης της διάρκειας ζωής (Fricke et al. 2010).

Εναλλακτικά, υπάρχουν μεταλλάξεις που επηρεάζουν την οδό σηματοδότησης της ινσουλίνης που επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής ανεξάρτητα από το ζευγάρωμα (Huang et al., 2015), χωρίς να υπάρχει σύνδεση μεταξύ της ινσουλίνης, της μακροζωίας και του ζευγαρώματος. Το dCORL πιθανόν να ρυθμίζει την διαφοροποίηση ή τη λειτουργία και έκφραση των νευρώνων που παράγουν ινσουλίνη κατωφερώς της σηματοδοτικής οδού TGF- $\beta$ /Activin ( το dCORL διαφοροποιεί τη σηματοδότηση της activin στους μανιταροειδείς νευρώνες). Η ακτιβίνη είναι ένας σημαντικός μεταβολικός ρυθμιστής μέσω λειτουργικών δεσμών με την ινσουλίνη, το dFOXO και τη μακροζωία (Bai et al. 2013; Ghosh and O'Connor 2014). Επίσης, η Activin που προέρχεται από το έντερο δρα στο λιπώδη ιστό ο οποίος ρυθμίζει το μεταβολισμό των σακχάρων και τριγλυκεριδίων (Song et al. 2017a,b).

Ένα άλλο ενδιαφέρον θέμα είναι ο μηχανισμός που επιτρέπει στη μετάλλαξη dCORL τη διάσωση της διάρκειας ζωής και στα δύο φύλα μετά το ζευγάρωμα. Δύο εργασίες έχουν δείξει σύνδεση μεταξύ των αλλαγών στη αναπαραγωγή (δηλαδή πριν και μετά τη ζευγαρώματος) και την αναδόμηση του εντέρου (Cognigni et al. 2011; Reiff et al. 2015). Μια υπόθεση για την αντιστροφή του φαινότυπου (διάρκεια ζωής) στα μεταλλαγμένα άτομα dCORL, ανεξαρτήτως φύλου, είναι η ύπαρξη ενός νευρωνικού δικτύου που ενέχει την νεαροποιητική ορμόνη (Juvenile hormone). Η ορμόνη αυτή ανταποκρίνεται στην αναπαραγωγική δραστηριότητα, και καθορίζει την έκφραση των νευρώνων του PI που παράγουν τα ινσουλινομιμικά πεπτίδια.

Η διάσωση των dILP2 neurons που δεν εκφράζουν Drifter οδηγεί σε δύο υποθέσεις. Η πρώτη υπόθεση είναι ότι οι dILP2 νευρώνες δεν έχουν χαθεί στα μεταλλαγμένα άτομα dCORL. Αυτό που έχει χαθεί είναι η έκφραση των dILP2 πεπτιδίων. Έτσι αυτό που διασώζεται μέσω του ζευγαρώματος είναι η έκφραση των dILP2. Εναλλακτικά, οι διασωθέντες dILP2 νευρώνες προέρχονται από νευροβλάστες μέσω μιας διαδικασίας που ενεργοποιείται από το ζευγάρωμα. Αυτή η υπόθεση συνάδει με την αναγέννηση του περιοχής PI στα μεταλλαγμένα άτομα dCORL. Μία μόνο εργασία δείχνει την



ενεργοποίηση και διαίρεση νευροβλαστών στον ενήλικο εγκέφαλο μετά από βλάβη (Fernández-Hernández et al. 2013).

Συνοπτικά, τα δεδομένα μας σχετικά με την έκφραση και τη λειτουργία dCORL προτείνουν ότι αυτό το γονίδιο συμμετέχει σε ένα προηγουμένως άγνωστο νευρωνικό δίκτυο που συνδέει το μονοπάτι σηματοδότησης της ινσουλίνης, τη μακροζωία και το ζευγάρι. Οι συντηρημένες αλληλουχίες και η έκφραση όλων των πρωτεϊνών CORL στο ΚΝΣ συν το προφανές προσαρμοστικό όφελος για τους απογόνους μακρόβιων γονέων υποδηλώνει ότι αυτό το δίκτυο υπάρχει στα θηλαστικά.

7. Λειτουργική αναγέννηση του νευρωνικού κυκλώματος που ευθύνεται για την συμπεριφορά διαφυγής του εντόμου. Συμπεριφορική αναγέννηση.

Το κυριότερο εύρημα της μελέτης ήταν η απώλεια και η επανάκτηση της λειτουργίας του νευρωνικού κυκλώματος που ευθύνεται για την συμπεριφορά διαφυγής του εντόμου. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκε ότι η αποστέρηση τροφής ή/και νερού σε άτομα νεαρής ηλικίας είχε ως αποτέλεσμα την κινητική κατάρρευσή του οργανισμού λίγο πριν τον θάνατο. Αυτή η κατάρρευση χαρακτηριζόταν από δύο κινητικά στάδια, το πρώτο στάδιο αφορούσε άτομα που διατηρούσαν την ικανότητα της αναρρίχησης και το δεύτερο άτομα που είχαν χάσει την ικανότητα αυτή. Τα άτομα του δεύτερου κινητικού σταδίου απέτυχαν στη συμπεριφορική δοκιμασία διαφυγής και η ηλεκτροφυσιολογία έδειξε ότι αυτό οφείλεται σε απώλεια του σήματος στο τμήμα του κυκλώματος που εμφανίζει χαρακτηριστικές πλαστικές ιδιότητες. Τέλος, η παροχή τροφής και νερού στα άτομα αυτού του σταδίου επαναφέρει πλήρως τη λειτουργία του κυκλώματος με αποτέλεσμα το ζώο να είναι ξανά ικανό για διαφυγή-αναρρίχηση. Το ίδιο φαινόμενο λειτουργικής σιώπησης (με αποτέλεσμα την απώλεια σήματος) είναι μη αντιστρεπτό και εμφανίζεται κατά τη φυσιολογική γήρανση του οργανισμού στο τελευταίο στάδιο της ζωής (Gaitanidis et al., in preparation). Σε πρώτη ανάγνωση η ομοιότητα στο λειτουργικό φαινότυπο του κυκλώματος μπορεί να εξηγηθεί εάν θεωρήσουμε ότι αυτό το τμήμα του κυκλώματος είναι πιο ευαίσθητο σε επιβλαβή γεγονότα πριν το φυσικό (ηλικιοεξαρτώμενο) ή τον πρόωπο θάνατο. Στα θηλαστικά (τρωκτικά, πρωτεύοντα και άνθρωπος) έχει αναπτυχθεί η θεωρία που συνδέει την πλαστικότητα ενός κυκλώματος

με την ευαισθησία του στη γήρανση και σε νευροεκφυλιστικές νόσους (plasticity vulnerability hypothesis; Gray and Barnes, 2016).

Το τμήμα των νευρώνων που υφίσταται τις μεγαλύτερες επιπτώσεις της γήρανσης ή του νευροεκφυλισμού είναι οι άκανθες (βλέπε Εισαγωγή). Στη περίπτωση του νευρωνικού κυκλώματος διαφυγής είναι πολύ πιθανό η λειτουργική σιώπηση να οφείλεται σε δυσλειτουργία των συνάψεων μεταξύ των αξόνων των προσυναπτικών νευρώνων CoIA και των δενδριτών του γιγαντιαίου νευρώνα. Είναι γνωστό ότι οι συνάψεις αυτές είναι πλαστικές καθώς υπόκεινται στο φαινόμενο της εξοικείωσης, δηλαδή ένα συνεχώς επαναλαμβανόμενο υπερκατωφλικό ηλεκτρικό ερέθισμα δεν προκαλεί δυναμικό ενέργειας μετά από λίγο (Engel and Wu 1996, 1998). Κατά συνέπεια η υπόθεση που θα πρέπει να εξεταστεί στο μέλλον είναι το κατά πόσο οι δενδρίτες του γιγαντιαίου νευρώνα είναι το 'αδύνατο σημείο' του κυκλώματος, το σημείο δηλαδή που διακόπτεται το σήμα.

Η δοκιμασία αποστέρησης τροφής ή/και νερού οδηγεί τον οργανισμό σε εξάντληση του ενεργειακού αποθέματος των κυττάρων που τελικά οδηγεί στον θάνατο. Πιθανόν να υπάρχει συσχετισμός ανάμεσα στα επίπεδα της διαθέσιμης ενέργειας και στο λειτουργικό κατώφλι, που δεν είναι απαραίτητα το ίδιο στις διάφορες κατηγορίες νευρώνων, ή περιοχών νευρώνων (άξονας vs σώμα, δενδρίτες). Από τα δεδομένα φαίνεται ότι το μη πλαστικό τμήμα του κυκλώματος διαφυγής παραμένει λειτουργικό σε άτομα που έχασαν την ικανότητα αναρρίχησης και διαφυγής. Κατά συνέπεια το νευρωνικό κύκλωμα διαφυγής χαρακτηρίζεται από ένα τμήμα πλαστικό που χάνει τη λειτουργικότητά του σε συνθήκες αποστέρησης τροφής και νερού ενώ το μη πλαστικό-στερεοτυπικό τμήμα παραμένει λειτουργικό.

## 8. Μελλοντικοί στόχοι

Το βασικό εύρημα της διατριβής μου είναι ο καθορισμός μιας σειράς παραμέτρων που σχετίζονται με την προθανάτια νοσηρότητα στη *Drosophila melanogaster*. Επειδή η φυσιολογική έκπτωση στη *Drosophila* προσομοιάζει με αυτή των θηλαστικών

συμπεριλαμβανομένη του ανθρώπου, το μοντέλο σύστημα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να μελετηθούν οι φυσιολογικοί και μοριακοί μηχανισμοί, που είναι διατηρημένοι εξελικτικά και υπόκεινται της προθανάτιας νοσηρότητας.

Πιο συγκεκριμένα το γεγονός του διαχωρισμού ατόμων ενός πληθυσμού ανάλογα με τη φυσιολογική και όχι τη χρονολογική ηλικία τους θα επιτρέψει να καθορίσουμε το γενετικό προφίλ της μετάβασης από την υγιή ζωή στη δυσλειτουργία. Αυτό θα επιτρέψει να καθοριστούν σηματοδοτικά μονοπάτια που έχουν καθοριστικό ρόλο για τη μετάβαση από τον υγιή στον παθολογικό φαινότυπο. Η μόχλευση συγκεκριμένων γονιδίων-πρωτεϊνών στη νεαρή ηλικία θα επιτρέψει την συμπίεση της νοσηρότητας πριν τον θάνατο στο επίπεδο του ατόμου και του πληθυσμού.

Υποψήφια σηματοδοτικά μονοπάτια είναι το σύστημα της ινσουλίνη/IGF-1, των αντιοξειδωτικών ενζύμων που εμπλέκονται στη ικανότητα επιδιόρθωσης των οξειδωτικών βλαβών λόγω συσσώρευσης ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS). Τέλος όσον αφορά το κεντρικό νευρικό σύστημα οι ομοιότητες που παρέχει ο πρόωρος προκλητός θάνατος σε σύγκριση με τον ηλικιο-εξαρτώμενο φυσικό θάνατο στη λειτουργική σίγαση των πλαστικών συνάψεων επιτρέπει τον καθορισμό των πιο ευάλωτων φάσεων της συναπτικής διαβίβασης και αντίστοιχων πρωτεϊνικών μορίων.

# **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Jagger C, et al. (2008). "Inequalities in healthy life years in the 25 countries of the European Union in 2005: a cross-national meta-regression analysis." [PubMed: 19010526]

A., B. (2008). Inevitable Aging? Contributions to Evolutionary-Demographic, Springer.

Abadir, P. M. (2011). "The frail renin-angiotensin system." Clin Geriatr Med **27**(1): 53-65.

Adamo, M. L. and R. P. Farrar (2006). "Resistance training, and IGF involvement in the maintenance of muscle mass during the aging process." Ageing Res Rev **5**(3): 310-331.

Afilalo, J., S. Karunanathan, M. J. Eisenberg, K. P. Alexander and H. Bergman (2009). "Role of frailty in patients with cardiovascular disease." Am J Cardiol **103**(11): 1616-1621.

Aggarwal, B. B. and K. B. Harikumar (2009). "Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases." Int J Biochem Cell Biol **41**(1): 40-59.

Aggarwal, B. B., A. Kumar and A. C. Bharti (2003). "Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies." Anticancer Res **23**(1A): 363-398.

Ak, T. and I. Gulcin (2008). "Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin." Chem Biol Interact **174**(1): 27-37.

Allegri, P., A. Mastromarino and P. Neri (2010). "Management of chronic anterior uveitis relapses: efficacy of oral phospholipidic curcumin treatment. Long-term follow-up." Clin Ophthalmol **4**: 1201-1206.

Allen, M. J., J. A. Drummond and K. G. Moffat (1998). "Development of the giant fiber neuron of *Drosophila melanogaster*." J Comp Neurol **397**(4): 519-531.

Allen, M. J. and R. K. Murphey (2007). "The chemical component of the mixed GF-TTMn synapse in *Drosophila melanogaster* uses acetylcholine as its neurotransmitter." Eur J Neurosci **26**(2): 439-445.

Allen, M. J., X. Shan, P. Caruccio, S. J. Froggett, K. G. Moffat and R. K. Murphey (1999). "Targeted expression of truncated glued disrupts giant fiber synapse formation in *Drosophila*." J Neurosci **19**(21): 9374-9384.

Allen, M. J., X. Shan and R. K. Murphey (2000). "A role for Drosophila Drac1 in neurite outgrowth and synaptogenesis in the giant fiber system." Mol Cell Neurosci **16**(6): 754-765.

Amigo, I., S. L. Menezes-Filho, L. A. Luévano-Martínez, B. Chausse and A. J. Kowaltowski (2017). "Caloric restriction increases brain mitochondrial calcium retention capacity and protects against excitotoxicity." Aging Cell **16**(1): 73-81.

Anand, P., A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman and B. B. Aggarwal (2007). "Bioavailability of curcumin: problems and promises." Mol Pharm **4**(6): 807-818.

Anisimov, V. N., M. A. Zabezhinski, I. G. Popovich, T. S. Piskunova, A. V. Semenchenko, M. L. Tyndyk, M. N. Yurova, M. P. Antoch and M. V. Blagosklonny (2010). "Rapamycin Extends Maximal Lifespan in Cancer-Prone Mice." Am J Pathol **176**(5): 2092-2097.

Anversa, P. (2005). "Aging and longevity: the IGF-1 enigma." Circ Res **97**(5): 411-414.

Arber, S., F. A. Barbayannis, H. Hanser, C. Schneider, C. A. Stanyon, O. Bernard and P. Caroni (1998). "Regulation of actin dynamics through phosphorylation of cofilin by LIM-kinase." Nature **393**(6687): 805-809.

Aristotle (1984). The Complete Works of Aristotle: The Revised Oxford Translation, Princeton University Press.

Arking, R., S. Buck, V. N. Novoseltev, D. S. Hwangbo and M. Lane (2002). "Genomic plasticity, energy allocations, and the extended longevity phenotypes of Drosophila." Ageing Res Rev **1**(2): 209-228.

Arking, R. and R. A. Wells (1990). "Genetic alteration of normal aging processes is responsible for extended longevity in Drosophila." Dev Genet **11**(2): 141-148.

Arnsten, A. F., C. D. Paspalas, N. J. Gamo, Y. Yang and M. Wang (2010). "Dynamic Network Connectivity: A new form of neuroplasticity." Trends Cogn Sci **14**(8): 365-375.

Arumugam, T. V., T. M. Phillips, A. Cheng, C. H. Morrell, M. P. Mattson and R. Wan (2010). "Age and energy intake interact to modify cell stress pathways and stroke outcome." Ann Neurol **67**(1): 41-52.

Aspnes, L. E., C. M. Lee, R. Weindruch, S. S. Chung, E. B. Roecker and J. M. Aiken (1997). "Caloric restriction reduces fiber loss and mitochondrial abnormalities in aged rat muscle." Faseb j **11**(7): 573-581.

Atherton, P. J., K. Smith, T. Etheridge, D. Rankin and M. J. Rennie (2010). "Distinct anabolic signalling responses to amino acids in C2C12 skeletal muscle cells." Amino Acids **38**(5): 1533-1539.

Austad, S. N. (2006). "Why women live longer than men: sex differences in longevity." Gend Med **3**(2): 79-92.

Bacon, J. P. S., N.J. (1986). "The dipteran 'Giant fibre' pathway: neurons and signal." J. Comp. Physiol. **158**(4): 529-548.

Bacon, R., Ed. (1806). The Code of Health and Longevity. google, Edinburgh, Printed for A. Constable & co.; [etc., etc.].

Bahadorani, S., J. H. Hur, T. Lo, Jr., K. Vu and D. W. Walker (2010). "Perturbation of mitochondrial complex V alters the response to dietary restriction in Drosophila." Aging Cell **9**(1): 100-103.

Baird, D. H., A. P. Schalet and R. J. Wyman (1990). "The Passover locus in Drosophila melanogaster: complex complementation and different effects on the giant fiber neural pathway." Genetics **126**(4): 1045-1059.

Banach, M., C. Serban, W. S. Aronow, J. Rysz, S. Dragan, E. V. Lerma, M. Apetrii and A. Covic (2014). "Lipid, blood pressure and kidney update 2013." Int Urol Nephrol **46**(5): 947-961.

Barbieri, M., M. Bonafe, C. Franceschi and G. Paolisso (2003). "Insulin/IGF-I-signaling pathway: an evolutionarily conserved mechanism of longevity from yeast to humans." Am J Physiol Endocrinol Metab **285**(5): E1064-1071.

Barger, J. L., R. L. Walford and R. Weindruch (2003). "The retardation of aging by caloric restriction: its significance in the transgenic era." Exp Gerontol **38**(11-12): 1343-1351.

Bartke, A. (2005). "Minireview: role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in mammalian aging." Endocrinology **146**(9): 3718-3723.

Bartke, A. and H. Brown-Borg (2004). "Life extension in the dwarf mouse." Curr Top Dev Biol **63**: 189-225.

Basnet, P. and N. Skalko-Basnet (2011). "Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment." Molecules **16**(6): 4567-4598.

Bates, P. C. and A. T. Holder (1988). "The anabolic actions of growth hormone and thyroxine on protein metabolism in Snell dwarf and normal mice." J Endocrinol **119**(1): 31-41.

Baudisch, A. (2005). "Hamilton's indicators of the force of selection." Proc Natl Acad Sci U S A **102**(23): 8263-8268.

Beccafico, S., F. Riuzzi, C. Puglielli, R. Mancinelli, S. Fulle, G. Sorci and R. Donato (2011). "Human muscle satellite cells show age-related differential expression of S100B protein and RAGE." Age (Dordr) **33**(4): 523-541.

Benbassat, C. A., K. C. Maki and T. G. Unterman (1997). "Circulating levels of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-1 and -3 in aging men: relationships to insulin, glucose, IGF, and dehydroepiandrosterone sulfate levels and anthropometric measures." J Clin Endocrinol Metab **82**(5): 1484-1491.

Bernardo, T. C., I. Marques-Aleixo, J. Beleza, P. J. Oliveira, A. Ascensao and J. Magalhaes (2016). "Physical Exercise and Brain Mitochondrial Fitness: The Possible Role Against Alzheimer's Disease." Brain Pathol **26**(5): 648-663.

Bigot, A., V. Jacquemin, F. Debacq-Chainiaux, G. S. Butler-Browne, O. Toussaint, D. Furling and V. Mouly (2008). "Replicative aging down-regulates the myogenic regulatory factors in human myoblasts." Biol Cell **100**(3): 189-199.

Bishop, N. A., T. Lu and B. A. Yankner (2010). "Neural mechanisms of ageing and cognitive decline." Nature **464**(7288): 529-535.

Biswas, S. K. (2016). "Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox?" Oxid Med Cell Longev **2016**: 5698931.

Bjedov, I., J. M. Toivonen, F. Kerr, C. Slack, J. Jacobson, A. Foley and L. Partridge (2010). "Mechanisms of life span extension by rapamycin in the fruit fly *Drosophila melanogaster*." Cell Metab **11**(1): 35-46.

Bjornsti, M. A. and P. J. Houghton (2004). "The TOR pathway: a target for cancer therapy." Nat Rev Cancer **4**(5): 335-348.

Blagburn, J. M., H. Alexopoulos, J. A. Davies and J. P. Bacon (1999). "Null mutation in shaking-B eliminates electrical, but not chemical, synapses in the *Drosophila* giant fiber system: a structural study." J Comp Neurol **404**(4): 449-458.



Block, G., W. F. Rosenberger and B. H. Patterson (1988). "Calories, fat and cholesterol: intake patterns in the US population by race, sex and age." Am J Public Health **78**(9): 1150-1155.

Bolanowski, M. A., R. L. Russell and L. A. Jacobson (1981). "Quantitative measures of aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*. I. Population and longitudinal studies of two behavioral parameters." Mech Ageing Dev **15**(3): 279-295.

Bourne, J. and K. M. Harris (2007). "Do thin spines learn to be mushroom spines that remember?" Curr Opin Neurobiol **17**(3): 381-386.

Boyle, P. A., A. S. Buchman, R. S. Wilson, S. E. Leurgans and D. A. Bennett (2010). "Physical frailty is associated with incident mild cognitive impairment in community-based older persons." J Am Geriatr Soc **58**(2): 248-255.

Brack, C., E. Bechter-Thuring and M. Labuhn (1997). "N-acetylcysteine slows down ageing and increases the life span of *Drosophila melanogaster*." Cell Mol Life Sci **53**(11-12): 960-966.

Bradford, P. G. (2013). "Curcumin and obesity." Biofactors **39**(1): 78-87.

Brown, G. C. (2015). "Living too long: the current focus of medical research on increasing the quantity, rather than the quality, of life is damaging our health and harming the economy." EMBO Rep **16**(2): 137-141.

Bruijn, J. A. and E. de Heer (1995). "Adhesion molecules in renal diseases." Lab Invest **72**(4): 387-394.

Buchman, A. S., P. A. Boyle, R. S. Wilson, Y. Tang and D. A. Bennett (2007). "Frailty is associated with incident Alzheimer's disease and cognitive decline in the elderly." Psychosom Med **69**(5): 483-489.

Burte, F., V. Carelli, P. F. Chinnery and P. Yu-Wai-Man (2015). "Disturbed mitochondrial dynamics and neurodegenerative disorders." Nat Rev Neurol **11**(1): 11-24.

Burz, C., I. Berindan-Neagoe, O. Balacescu and A. Irimie (2009). "Apoptosis in cancer: key molecular signaling pathways and therapy targets." Acta Oncol **48**(6): 811-821.

Butler, R. N., R. A. Miller, D. Perry, B. A. Carnes, T. F. Williams, C. Cassel, J. Brody, M. A. Bernard, L. Partridge, T. Kirkwood, G. M. Martin and S. J. Olshansky (2008). "New model of health promotion and disease prevention for the 21st century." Bmj **337**: a399.

Cai, S. Q. and F. Sesti (2009). "Oxidation of a potassium channel causes progressive sensory function loss during aging." Nat Neurosci **12**(5): 611-617.

Camacho-Barquero, L., I. Villegas, J. M. Sanchez-Calvo, E. Talero, S. Sanchez-Fidalgo, V. Motilva and C. Alarcon de la Lastra (2007). "Curcumin, a Curcuma longa constituent, acts on MAPK p38 pathway modulating COX-2 and iNOS expression in chronic experimental colitis." Int Immunopharmacol **7**(3): 333-342.

Campbell, A. J. and D. M. Buchner (1997). "Unstable disability and the fluctuations of frailty." Age Ageing **26**(4): 315-318.

Ceda, G. P., E. Dall'Aglio, M. Maggio, F. Lauretani, S. Bandinelli, C. Falzoi, W. Grimaldi, G. Ceresini, F. Corradi, L. Ferrucci, G. Valenti and A. R. Hoffman (2005). "Clinical implications of the reduced activity of the GH-IGF-I axis in older men." J Endocrinol Invest **28**(11 Suppl Proceedings): 96-100.

Cermak, N. M., P. T. Res, L. C. de Groot, W. H. Saris and L. J. van Loon (2012). "Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis." Am J Clin Nutr **96**(6): 1454-1464.

Chan, D. C. (2006). "Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development." Cell **125**(7): 1241-1252.

Chaves, P. H., R. D. Semba, S. X. Leng, R. C. Woodman, L. Ferrucci, J. M. Guralnik and L. P. Fried (2005). "Impact of anemia and cardiovascular disease on frailty status of community-dwelling older women: the Women's Health and Aging Studies I and II." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **60**(6): 729-735.

Chavous, D. A., F. R. Jackson and C. M. O'Connor (2001). "Extension of the *Drosophila* lifespan by overexpression of a protein repair methyltransferase." Proceedings of the National Academy of Sciences **98**(26): 14814-14818.

Chen, H. and D. C. Chan (2009). "Mitochondrial dynamics--fusion, fission, movement, and mitophagy--in neurodegenerative diseases." Hum Mol Genet **18**(R2): R169-176.

Cheng, A., R. Wan, J. L. Yang, N. Kamimura, T. G. Son, X. Ouyang, Y. Luo, E. Okun and M. P. Mattson (2012). "Involvement of PGC-1alpha in the formation and maintenance of neuronal dendritic spines." Nat Commun **3**: 1250.

Cheng, A., Y. Yang, Y. Zhou, C. Maharana, D. Lu, W. Peng, Y. Liu, R. Wan, K. Marosi, M. Misiak, V. A. Bohr and M. P. Mattson (2016). "Mitochondrial SIRT3 Mediates Adaptive Responses of Neurons to Exercise and Metabolic and Excitatory Challenges." Cell Metab **23**(1): 128-142.

Christensen, K., G. Doblhammer, R. Rau and J. W. Vaupel (2009). "Ageing populations: the challenges ahead." Lancet **374**(9696): 1196-1208.

Christensen, K., T. E. Johnson and J. W. Vaupel (2006). "The quest for genetic determinants of human longevity: challenges and insights." Nat Rev Genet **7**(6): 436-448.

Christensen, K., M. McGue, I. Petersen, B. Jeune and J. W. Vaupel (2008). "Exceptional longevity does not result in excessive levels of disability." Proc Natl Acad Sci U S A **105**(36): 13274-13279.

Chuengsamarn, S., S. Rattanamongkolgul, R. Luechapudiporn, C. Phisalaphong and S. Jirawatnotai (2012). "Curcumin extract for prevention of type 2 diabetes." Diabetes Care **35**(11): 2121-2127.

Churchward-Venne, T. A., N. A. Burd, C. J. Mitchell, D. W. West, A. Philp, G. R. Marcotte, S. K. Baker, K. Baar and S. M. Phillips (2012). "Supplementation of a suboptimal protein dose with leucine or essential amino acids: effects on myofibrillar protein synthesis at rest and following resistance exercise in men." J Physiol **590**(11): 2751-2765.

Churgin, M. A., S. K. Jung, C. C. Yu, X. Chen and D. M. Raizen (2017). "Longitudinal imaging of *Caenorhabditis elegans* in a microfabricated device reveals variation in behavioral decline during aging." **6**.

Clancy, D. J., D. Gems, L. G. Harshman, S. Oldham, H. Stocker, E. Hafen, S. J. Leevers and L. Partridge (2001). "Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein." Science **292**(5514): 104-106.

Coggshall, J. C. (1978). "Neurons associated with the dorsal longitudinal flight muscles of *Drosophilla melanogaster*." J Comp Neurol **177**(4): 707-720.

Collard, R. M., H. Boter, R. A. Schoevers and R. C. Oude Voshaar (2012). "Prevalence of frailty in community-dwelling older persons: a systematic review." J Am Geriatr Soc **60**(8): 1487-1492.

Collins, C. A., P. S. Zammit, A. P. Ruiz, J. E. Morgan and T. A. Partridge (2007). "A population of myogenic stem cells that survives skeletal muscle aging." Stem Cells **25**(4): 885-894.

Commission, E. (2012). The 2012 Ageing Report Economic and budgetary projections for the 27 EU Member States (2010-2060).

Consoulas, C., L. L. Restifo and R. B. Levine (2002). "Dendritic remodeling and growth of motoneurons during metamorphosis of *Drosophila melanogaster*." J Neurosci **22**(12): 4906-4917.

Cook-Wiens, E. and M. S. Grotewiel (2002). "Dissociation between functional senescence and oxidative stress resistance in *Drosophila*." Exp Gerontol **37**(12): 1347-1357.

Copeland, J. M., J. Cho, T. Lo, Jr., J. H. Hur, S. Bahadorani, T. Arabyan, J. Rabie, J. Soh and D. W. Walker (2009). "Extension of *Drosophila* life span by RNAi of the mitochondrial respiratory chain." Curr Biol **19**(19): 1591-1598.

Costello, W. J. and R. J. Wyman (1986). "Development of an indirect flight muscle in a muscle-specific mutant of *Drosophila melanogaster*." Dev Biol **118**(1): 247-258.

Cotman, C. W. and N. C. Berchtold (2002). "Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity." Trends Neurosci **25**(6): 295-301.

Cox, K. H., A. Pipingas and A. B. Scholey (2015). "Investigation of the effects of solid lipid curcumin on cognition and mood in a healthy older population." J Psychopharmacol **29**(5): 642-651.

Cristina, D., M. Cary, A. Lunceford, C. Clarke and C. Kenyon (2009). "A regulated response to impaired respiration slows behavioral rates and increases lifespan in *Caenorhabditis elegans*." PLoS Genet **5**(4): e1000450.

Cruz-Jentoft, A. J., J. P. Baeyens, J. M. Bauer, Y. Boirie, T. Cederholm, F. Landi, F. C. Martin, J. P. Michel, Y. Rolland, S. M. Schneider, E. Topinkova, M. Vandewoude and M. Zamboni (2010). "Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People." Age Ageing **39**(4): 412-423.

Cunnane, S., S. Nugent, M. Roy, A. Courchesne-Loyer, E. Croteau, S. Tremblay, A. Castellano, F. Pifferi, C. Bocti, N. Paquet, H. Begdouri, M. Bentourkia, E. Turcotte, M.

Allard, P. Barberger-Gateau, T. Fulop and S. I. Rapoport (2011). "Brain fuel metabolism, aging, and Alzheimer's disease." Nutrition **27**(1): 3-20.

Cunningham, C., D. C. Wilcockson, S. Campion, K. Lunnon and V. H. Perry (2005). "Central and systemic endotoxin challenges exacerbate the local inflammatory response and increase neuronal death during chronic neurodegeneration." J Neurosci **25**(40): 9275-9284.

Curtis, C., G. N. Landis, D. Folk, N. B. Wehr, N. Hoe, M. Waskar, D. Abdueva, D. Skvortsov, D. Ford, A. Luu, A. Badrinath, R. L. Levine, T. J. Bradley, S. Tavaré and J. Tower (2007). "Transcriptional profiling of MnSOD-mediated lifespan extension in *Drosophila* reveals a species-general network of aging and metabolic genes." Genome Biol **8**(12): R262.

Cuthbertson, D., K. Smith, J. Babraj, G. Leese, T. Waddell, P. Atherton, H. Wackerhage, P. M. Taylor and M. J. Rennie (2005). "Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle." FASEB J **19**(3): 422-424.

David, L. and G. Thomas (1983). "Age-dependent behavior loss in adult *Drosophila melanogaster*." Developmental Genetics **4**(3): 211-227.

Deane, C. S., D. C. Hughes, N. Sculthorpe, M. P. Lewis, C. E. Stewart and A. P. Sharples (2013). "Impaired hypertrophy in myoblasts is improved with testosterone administration." J Steroid Biochem Mol Biol **138**: 152-161.

Deng, G., J. H. Yu, Z. Q. Ye and Z. Q. Hu (2008). "[Curcumin inhibits the expression of vascular endothelial growth factor and androgen-independent prostate cancer cell line PC-3 in vitro]." Zhonghua Nan Ke Xue **14**(2): 116-121.

Desmond, N. L. and R. J. Weinberg (1998). "Enhanced expression of AMPA receptor protein at perforated axospinous synapses." Neuroreport **9**(5): 857-860.

Detmer, S. A. and D. C. Chan (2007). "Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics." Nat Rev Mol Cell Biol **8**(11): 870-879.

DiAntonio, A. (2006). "Glutamate receptors at the *Drosophila* neuromuscular junction." Int Rev Neurobiol **75**: 165-179.

Dietrich, M. O., Z. B. Andrews and T. L. Horvath (2008). "Exercise-induced synaptogenesis in the hippocampus is dependent on UCP2-regulated mitochondrial adaptation." J Neurosci **28**(42): 10766-10771.

Ding, Q., S. Vaynman, M. Akhavan, Z. Ying and F. Gomez-Pinilla (2006). "Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function." Neuroscience **140**(3): 823-833.

DiSilvestro, R. A., E. Joseph, S. Zhao and J. Bomser (2012). "Diverse effects of a low dose supplement of lipidated curcumin in healthy middle aged people." Nutr J **11**: 79.

Division., T. W. a. S. B. P. (Oct 12. 1999 ).

Doblhammer, G. and J. Oeppen (2003). "Reproduction and longevity among the British peerage: the effect of frailty and health selection." Proc Biol Sci **270**(1524): 1541-1547.

Driver, C. and A. Georgeou (2003). "Variable effects of vitamin E on Drosophila longevity." Biogerontology **4**(2): 91-95.

Drummond, M. J., C. S. Fry, E. L. Glynn, H. C. Dreyer, S. Dhanani, K. L. Timmerman, E. Volpi and B. B. Rasmussen (2009). "Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis." J Physiol **587**(Pt 7): 1535-1546.

Duan, W. and M. P. Mattson (1999). "Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration improve behavioral outcome and reduce degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease." J Neurosci Res **57**(2): 195-206.

E, L., J. M. Burns and R. H. Swerdlow (2014). "Effect of high-intensity exercise on aged mouse brain mitochondria, neurogenesis, and inflammation." Neurobiol Aging **35**(11): 2574-2583.

Eckert, M. J. and W. C. Abraham (2013). "Effects of environmental enrichment exposure on synaptic transmission and plasticity in the hippocampus." Curr Top Behav Neurosci **15**: 165-187.

Edstrom, E., M. Altun, M. Hagglund and B. Ulfhake (2006). "Atrogin-1/MAFbx and MuRF1 are downregulated in aging-related loss of skeletal muscle." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **61**(7): 663-674.

Eeles, E. M., S. V. White, S. M. O'Mahony, A. J. Bayer and R. E. Hubbard (2012). "The impact of frailty and delirium on mortality in older inpatients." Age Ageing **41**(3): 412-416.

Eggermont, L., D. Swaab, P. Luiten and E. Scherder (2006). "Exercise, cognition and Alzheimer's disease: more is not necessarily better." Neurosci Biobehav Rev **30**(4): 562-575.

Elliott, P. M. (1948). "The thoracico-abdominal nervous system of an adult insect, *Drosophila melanogaster*." Journal of Comparative Neurology **88**(3): 347-409.

Emran, S., M. Yang, X. He, J. Zandveld and M. D. Piper (2014). "Target of rapamycin signalling mediates the lifespan-extending effects of dietary restriction by essential amino acid alteration." Aging (Albany NY) **6**(5): 390-398.

Engberg, H., K. Christensen, K. Andersen-Ranberg, J. W. Vaupel and B. Jeune (2008). "Improving Activities of Daily Living in Danish Centenarians—But Only in Women: A Comparative Study of Two Birth Cohorts Born in 1895 and 1905." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **63**(11): 1186-1192.

Farrelly, C. (2008). "Has the time come to take on time itself?" Bmj **337**: a414.

Fayyazuddin, A., M. A. Zaheer, P. R. Hiesinger and H. J. Bellen (2006). "The nicotinic acetylcholine receptor Dalpha7 is required for an escape behavior in *Drosophila*." PLoS Biol **4**(3): e63.

Ferguson, M., R. J. Mockett, Y. Shen, W. C. Orr and R. S. Sohal (2005). "Age-associated decline in mitochondrial respiration and electron transport in *Drosophila melanogaster*." Biochem J **390**(Pt 2): 501-511.

Fernandes, J. J. and H. Keshishian (1999). Development of the Adult Neuromuscular System. International Review of Neurobiology. R. J. Bradley, R. A. Harris and P. Jenner, Academic Press. **43**: 221-239.

Ferrucci, L., C. Cavazzini, A. Corsi, B. Bartali, C. R. Russo, F. Lauretani, L. Ferrucci, C. Cavazzini, A. M. Corsi, B. Bartali, C. R. Russo, F. Lauretani, S. Bandinelli, S. Bandinelli and J. M. Guralnik (2002). "Biomarkers of frailty in older persons." J Endocrinol Invest **25**(10 Suppl): 10-15.

Finch, C. (1990). Longevity, Senescence and the Genome, Chicago Press;.

Fischbach, K. F. D., A.P.M. (1989). "The optic lobe of *Drosophila melanogaster*. I. A Golgi analysis of wild-type structure." Cell Tissue Res **258**(3): 441-475.

Fontan-Lozano, A., G. Lopez-Lluch, J. M. Delgado-Garcia, P. Navas and A. M. Carrion (2008). "Molecular bases of caloric restriction regulation of neuronal synaptic plasticity." Mol Neurobiol **38**(2): 167-177.

Freedman, V. A., E. Crimmins, R. F. Schoeni, B. C. Spillman, H. Aykan, E. Kramarow, K. Land, J. Lubitz, K. Manton, L. G. Martin, D. Shinberg and T. Waidmann (2004). "Resolving inconsistencies in trends in old-age disability: report from a technical working group." Demography **41**(3): 417-441.

Fridell, Y. W., A. Sanchez-Blanco, B. A. Silvia and S. L. Helfand (2005). "Targeted expression of the human uncoupling protein 2 (hUCP2) to adult neurons extends life span in the fly." Cell Metab **1**(2): 145-152.

Fried, L. P., C. M. Tangen, J. Walston, A. B. Newman, C. Hirsch, J. Gottdiener, T. Seeman, R. Tracy, W. J. Kop, G. Burke and M. A. McBurnie (2001). "Frailty in older adults: evidence for a phenotype." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **56**(3): M146-156.

Fried, L. P., Q. L. Xue, A. R. Cappola, L. Ferrucci, P. Chaves, R. Varadhan, J. M. Guralnik, S. X. Leng, R. D. Semba, J. D. Walston, C. S. Blaum and K. Bandeen-Roche (2009). "Nonlinear multisystem physiological dysregulation associated with frailty in older women: implications for etiology and treatment." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **64**(10): 1049-1057.

Fry, C. S., M. J. Drummond, E. L. Glynn, J. M. Dickinson, D. M. Gundermann, K. L. Timmerman, D. K. Walker, S. Dhanani, E. Volpi and B. B. Rasmussen (2011). "Aging impairs contraction-induced human skeletal muscle mTORC1 signaling and protein synthesis." Skelet Muscle **1**(1): 11.

Fujita, S., H. C. Dreyer, M. J. Drummond, E. L. Glynn, J. G. Cadenas, F. Yoshizawa, E. Volpi and B. B. Rasmussen (2007). "Nutrient signalling in the regulation of human muscle protein synthesis." J Physiol **582**(Pt 2): 813-823.

Fukui, H. H., L. Ackert and J. W. Curtsinger (1996). "Deceleration of age-specific mortality rates in chromosomal homozygotes and heterozygotes of *Drosophila melanogaster*." Experimental Gerontology **31**(4): 517-531.

Fusco, S., C. Ripoli, M. V. Podda, S. C. Ranieri, L. Leone, G. Toietta, M. W. McBurney, G. Schutz, A. Riccio, C. Grassi, T. Galeotti and G. Pani (2012). "A role for neuronal



cAMP responsive-element binding (CREB)-1 in brain responses to calorie restriction." Proc Natl Acad Sci U S A **109**(2): 621-626.

Gaczynska, M., K. L. Rock, T. Spies and A. L. Goldberg (1994). "Peptidase activities of proteasomes are differentially regulated by the major histocompatibility complex-encoded genes for LMP2 and LMP7." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(20): 9213-9217.

Ganeshina, O., R. W. Berry, R. S. Petralia, D. A. Nicholson and Y. Geinisman (2004). "Differences in the expression of AMPA and NMDA receptors between axospinous perforated and nonperforated synapses are related to the configuration and size of postsynaptic densities." J Comp Neurol **468**(1): 86-95.

Garcia, A. M., R. A. Busuttil, R. B. Calder, M. E. Dolle, V. Diaz, C. A. McMahan, A. Bartke, J. Nelson, R. Reddick and J. Vijg (2008). "Effect of Ames dwarfism and caloric restriction on spontaneous DNA mutation frequency in different mouse tissues." Mech Ageing Dev **129**(9): 528-533.

Gargano, J. W., I. Martin, P. Bhandari and M. S. Grotewiel (2005). "Rapid iterative negative geotaxis (RING): a new method for assessing age-related locomotor decline in *Drosophila*." Exp Gerontol **40**(5): 386-395.

Garinis, G. A., L. M. Uittenboogaard, H. Stachelscheid, M. Fousteri, W. van Ijcken, T. M. Breit, H. van Steeg, L. H. Mullenders, G. T. van der Horst, J. C. Bruning, C. M. Niessen, J. H. Hoeijmakers and B. Schumacher (2009). "Persistent transcription-blocking DNA lesions trigger somatic growth attenuation associated with longevity." Nat Cell Biol **11**(5): 604-615.

Garthe, I., T. Raastad, P. E. Refsnes, A. Koivisto and J. Sundgot-Borgen (2011). "Effect of two different weight-loss rates on body composition and strength and power-related performance in elite athletes." Int J Sport Nutr Exerc Metab **21**(2): 97-104.

Gazdzinski, S., J. Kornak, M. W. Weiner and D. J. Meyerhoff (2008). "Body mass index and magnetic resonance markers of brain integrity in adults." Ann Neurol **63**(5): 652-657.

Geinisman, Y., R. W. Berry, J. F. Disterhoft, J. M. Power and E. A. Van der Zee (2001). "Associative learning elicits the formation of multiple-synapse boutons." J Neurosci **21**(15): 5568-5573.

Geinisman, Y., L. deToledo-Morrell and F. Morrell (1991). "Induction of long-term potentiation is associated with an increase in the number of axospinous synapses with segmented postsynaptic densities." Brain Res **566**(1-2): 77-88.

Geinisman, Y., L. Detoledo-Morrell, F. Morrell, I. S. Persina and M. A. Beatty (1996). "Synapse restructuring associated with the maintenance phase of hippocampal long-term potentiation." J Comp Neurol **368**(3): 413-423.

Gems, D. and R. Doonan (2009). "Antioxidant defense and aging in *C. elegans*: is the oxidative damage theory of aging wrong?" Cell Cycle **8**(11): 1681-1687.

Gerdes, L. U., B. Jeune, K. A. Ranberg, H. Nybo and J. W. Vaupel (2000). "Estimation of apolipoprotein E genotype-specific relative mortality risks from the distribution of genotypes in centenarians and middle-aged men: apolipoprotein E gene is a "frailty gene," not a "longevity gene"." Genet Epidemiol **19**(3): 202-210.

Geusens, P. P. and S. Boonen (2002). "Osteoporosis and the growth hormone-insulin-like growth factor axis." Horm Res **58 Suppl 3**: 49-55.

Giannakou, M. E. and L. Partridge (2007). "Role of insulin-like signalling in *Drosophila* lifespan." Trends Biochem Sci **32**(4): 180-188.

Gilbert C, S. N. (1991). "The functional organization of male-specific visual neurons in flies." Journal of Comparative Physiology A **169**(4): 395-411.

Gill, T. M., E. A. Gahbauer, L. Han and H. G. Allore (2010). "Trajectories of disability in the last year of life." N Engl J Med **362**(13): 1173-1180.

Giovannucci, E., M. Pollak, Y. Liu, E. A. Platz, N. Majeed, E. B. Rimm and W. C. Willett (2003). "Nutritional predictors of insulin-like growth factor I and their relationships to cancer in men." Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **12**(2): 84-89.

Gong, Z., O. Kennedy, H. Sun, Y. Wu, G. A. Williams, L. Klein, L. Cardoso, R. W. Matheny, Jr., G. B. Hubbard, Y. Ikeno, R. P. Farrar, M. B. Schaffler, M. L. Adamo, R. H. Muzumdar and S. Yakar (2014). "Reductions in serum IGF-1 during aging impair health span." Aging Cell **13**(3): 408-418.

Gonzalez-Freire, M., R. de Cabo, S. A. Studenski and L. Ferrucci (2014). "The Neuromuscular Junction: Aging at the Crossroad between Nerves and Muscle." Front Aging Neurosci **6**: 208.

Goodman, C. A., J. W. Frey, D. M. Mabrey, B. L. Jacobs, H. C. Lincoln, J. S. You and T. A. Hornberger (2011). "The role of skeletal muscle mTOR in the regulation of mechanical load-induced growth." J Physiol **589**(Pt 22): 5485-5501.

Gorczyca, M. and J. C. Hall (1984). "Identification of a Cholinergic Synapse in the Giant Fiber Pathway of Drosophila Using Conditional Mutations of Acetylcholine Synthesis." Journal of Neurogenetics **1**(4): 289-313.

Grant, W. B. (2016). "Using Multicountry Ecological and Observational Studies to Determine Dietary Risk Factors for Alzheimer's Disease." J Am Coll Nutr **35**(5): 476-489.

Griffioen, K. J., S. M. Rothman, B. Ladenheim, R. Wan, N. Vranis, E. Hutchison, E. Okun, J. L. Cadet and M. P. Mattson (2013). "Dietary energy intake modifies brainstem autonomic dysfunction caused by mutant alpha-synuclein." Neurobiol Aging **34**(3): 928-935.

Grotewiel, M. S., I. Martin, P. Bhandari and E. Cook-Wiens (2005). "Functional senescence in Drosophila melanogaster." Ageing Res Rev **4**(3): 372-397.

Gruenberg, E. M. (1977). "The failures of success." Milbank Mem Fund Q Health Soc **55**(1): 3-24.

Guarente, L. (2008). "Mitochondria--a nexus for aging, calorie restriction, and sirtuins?" Cell **132**(2): 171-176.

Guevara-Aguirre, J., P. Balasubramanian, M. Guevara-Aguirre, M. Wei, F. Madia, C. W. Cheng, D. Hwang, A. Martin-Montalvo, J. Saavedra, S. Ingles, R. de Cabo, P. Cohen and V. D. Longo (2011). "Growth hormone receptor deficiency is associated with a major reduction in pro-aging signaling, cancer, and diabetes in humans." Sci Transl Med **3**(70): 70ra13.

Guo, Z. H. and M. P. Mattson (2000). "Neurotrophic factors protect cortical synaptic terminals against amyloid and oxidative stress-induced impairment of glucose transport, glutamate transport and mitochondrial function." Cereb Cortex **10**(1): 50-57.

Gupta, S. C., S. Patchva and B. B. Aggarwal (2013). "Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials." AAPS J **15**(1): 195-218.

Gupta, S. C., A. K. Tyagi, P. Deshmukh-Taskar, M. Hinojosa, S. Prasad and B. B. Aggarwal (2014). "Downregulation of tumor necrosis factor and other proinflammatory biomarkers by polyphenols." Arch Biochem Biophys **559**: 91-99.

Guralnik, J. M., M. Yanagishita and E. L. Schneider (1988). "Projecting the older population of the United States: lessons from the past and prospects for the future." Milbank Q **66**(2): 283-308.

H., B. D., K. Mary and W. R. J. (1993). "Dendritic reduction in Passover, a *Drosophila* mutant with a defective giant fiber neuronal pathway." Journal of Neurobiology **24**(7): 971-984.

Halagappa, V. K., Z. Guo, M. Pearson, Y. Matsuoka, R. G. Cutler, F. M. Laferla and M. P. Mattson (2007). "Intermittent fasting and caloric restriction ameliorate age-related behavioral deficits in the triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease." Neurobiol Dis **26**(1): 212-220.

Hamilton, D. L., A. Philp, M. G. MacKenzie, A. Patton, M. C. Towler, I. J. Gallagher, S. C. Bodine and K. Baar (2014). "Molecular brakes regulating mTORC1 activation in skeletal muscle following synergist ablation." Am J Physiol Endocrinol Metab **307**(4): E365-373.

Hamilton, W. D. (1966). "The moulding of senescence by natural selection." J Theor Biol **12**(1): 12-45.

Hammond, S. and M. O'Shea (2007). "Escape flight initiation in the fly." J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol **193**(4): 471-476.

Hankey, G. J. (2012). "Nutrition and the risk of stroke." Lancet Neurol **11**(1): 66-81.

Hankinson, S. E., W. C. Willett, G. A. Colditz, D. J. Hunter, D. S. Michaud, B. Deroo, B. Rosner, F. E. Speizer and M. Pollak (1998). "Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer." Lancet **351**(9113): 1393-1396.

Hansen, M., S. Taubert, D. Crawford, N. Libina, S. J. Lee and C. Kenyon (2007). "Lifespan extension by conditions that inhibit translation in *Caenorhabditis elegans*." Aging Cell **6**(1): 95-110.

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

Harman, D. (1972). "The biologic clock: the mitochondria?" J Am Geriatr Soc **20**(4): 145-147.

Harrison, D. E., R. Strong, Z. D. Sharp, J. F. Nelson, C. M. Astle, K. Flurkey, N. L. Nadon, J. E. Wilkinson, K. Frenkel, C. S. Carter, M. Pahor, M. A. Javors, E. Fernandez and R. A. Miller (2009). "Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice." Nature **460**(7253): 392-395.

Hausen K, S. N. (1980). "Sexually dimorphic interneuron arrangements in the fly visual system." Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences **208**(1170): 57-71.

Hepple, R. T., M. Qin, H. Nakamoto and S. Goto (2008). "Caloric restriction optimizes the proteasome pathway with aging in rat plantaris muscle: implications for sarcopenia." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **295**(4): R1231-1237.

Herndon, L. A., P. J. Schmeissner, J. M. Dudaronek, P. A. Brown, K. M. Listner, Y. Sakano, M. C. Paupard, D. H. Hall and M. Driscoll (2002). "Stochastic and genetic factors influence tissue-specific decline in ageing *C. elegans*." Nature **419**(6909): 808-814.

Hidestrand, M., S. Richards-Malcolm, C. M. Gurley, G. Nolen, B. Grimes, A. Waterstrat, G. V. Zant and C. A. Peterson (2008). "Sca-1-expressing nonmyogenic cells contribute to fibrosis in aged skeletal muscle." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **63**(6): 566-579.

Hlavackova, L., A. Janegova, O. Ulicna, P. Janega, A. Cerna and P. Babal (2011). "Spice up the hypertension diet - curcumin and piperine prevent remodeling of aorta in experimental L-NAME induced hypertension." Nutr Metab (Lond) **8**: 72.

Holly, J. M., C. M. Perks and C. E. Stewart (2000). "Overview of insulin-like growth factor physiology." Growth Horm IGF Res **10 Suppl A**: S8-9.

Holtmaat, A., L. Wilbrecht, G. W. Knott, E. Welker and K. Svoboda (2006). "Experience-dependent and cell-type-specific spine growth in the neocortex." Nature **441**(7096): 979-983.

Holzenberger, M., J. Dupont, B. Ducos, P. Leneuve, A. Geloën, P. C. Even, P. Cervera and Y. Le Bouc (2003). "IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice." Nature **421**(6919): 182-187.

Hong, J., M. Bose, J. Ju, J. H. Ryu, X. Chen, S. Sang, M. J. Lee and C. S. Yang (2004). "Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase." Carcinogenesis **25**(9): 1671-1679.

Hood, D. A., L. D. Tryon, H. N. Carter, Y. Kim and C. C. Chen (2016). "Unravelling the mechanisms regulating muscle mitochondrial biogenesis." Biochem J **473**(15): 2295-2314.

Hoppins, S., L. Lackner and J. Nunnari (2007). "The machines that divide and fuse mitochondria." Annu Rev Biochem **76**: 751-780.

Howard, C., L. Ferrucci, K. Sun, L. P. Fried, J. Walston, R. Varadhan, J. M. Guralnik and R. D. Semba (2007). "Oxidative protein damage is associated with poor grip strength among older women living in the community." J Appl Physiol (1985) **103**(1): 17-20.

Hughes, L. a. (1973). " Stereotaxic map of the muscle fibers in the indirect flight muscles of *Drosophila melanogaster* " J Morphol **140**:

Hughes, V. A., W. R. Frontera, M. Wood, W. J. Evans, G. E. Dallal, R. Roubenoff and M. A. Fiatarone Singh (2001). "Longitudinal muscle strength changes in older adults: influence of muscle mass, physical activity, and health." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **56**(5): B209-217.

Hursting, S. D., S. M. Smith, L. M. Lashinger, A. E. Harvey and S. N. Perkins (2010). "Calories and carcinogenesis: lessons learned from 30 years of calorie restriction research." Carcinogenesis **31**(1): 83-89.

Ikeda, K. and J. H. Koenig (1988). "Morphological identification of the motor neurons innervating the dorsal longitudinal flight muscle of *Drosophila melanogaster*." J Comp Neurol **273**(3): 436-444.

Inoki, K., T. Zhu and K. L. Guan (2003). "TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival." Cell **115**(5): 577-590.

Inoue, K., Y. J. Fei, W. Huang, L. Zhuang, Z. Chen and V. Ganapathy (2002). "Functional identity of *Drosophila melanogaster* Indy as a cation-independent, electroneutral transporter for tricarboxylic acid-cycle intermediates." Biochem J **367**(Pt 2): 313-319.

J., M. J. and S. N. J. (1990). "Cluster organization and response characteristics of the giant fiber pathway of the blowfly *Calliphora erythrocephala*." Journal of Comparative Neurology **294**(1): 59-75.

Jacobs, B. L., J. S. You, J. W. Frey, C. A. Goodman, D. M. Gundermann and T. A. Hornberger (2013). "Eccentric contractions increase the phosphorylation of tuberous sclerosis complex-2 (TSC2) and alter the targeting of TSC2 and the mechanistic target of rapamycin to the lysosome." J Physiol **591**(18): 4611-4620.

Jacobs, K., M. G. Todman, M. J. Allen, J. A. Davies and J. P. Bacon (2000). "Synaptogenesis in the giant-fibre system of *Drosophila*: interaction of the giant fibre and its major motorneuronal target." Development **127**(23): 5203-5212.

Jeune, B. (2002). "Living longer--but better?" Aging Clin Exp Res **14**(2): 72-93.

Jeune, B. and H. Brønnum-Hansen (2008). "Trends in health expectancy at age 65 for various health indicators, 1987–2005, Denmark." Eur J Ageing **5**(4).

Johnson, S. C., G. M. Martin, P. S. Rabinovitch and M. Kaeberlein (2013). "Preserving youth: does rapamycin deliver?" Sci Transl Med **5**(211): 211fs240.

Johnson, S. C., P. S. Rabinovitch and M. Kaeberlein (2013). "mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease." Nature **493**(7432): 338-345.

Johnson, T. E. (1987). "Aging can be genetically dissected into component processes using long-lived lines of *Caenorhabditis elegans*." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(11): 3777-3781.

Johnson, T. E. (1990). "Increased life-span of age-1 mutants in *Caenorhabditis elegans* and lower Gompertz rate of aging." Science **249**(4971): 908-912.

Jones, M. A., J. W. Gargano, D. Rhodenizer, I. Martin, P. Bhandari and M. Grotewiel (2009). "A forward genetic screen in *Drosophila* implicates insulin signaling in age-related locomotor impairment." Exp Gerontol **44**(8): 532-540.

Josse, A. R., S. A. Atkinson, M. A. Tarnopolsky and S. M. Phillips (2011). "Increased consumption of dairy foods and protein during diet- and exercise-induced weight loss promotes fat mass loss and lean mass gain in overweight and obese premenopausal women." J Nutr **141**(9): 1626-1634.

Jurenka, J. S. (2009). "Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research." Altern Med Rev **14**(2): 141-153.

K., D. J. and S. N. J. (2003). "Anatomical organization of retinotopic motion-sensitive pathways in the optic lobes of flies." Microscopy Research and Technique **62**(2): 132-150.

Kaaks, R., A. Lukanova and B. Sommersberg (2000). "Plasma androgens, IGF-1, body size, and prostate cancer risk: a synthetic review." Prostate Cancer Prostatic Dis **3**(3): 157-172.

Kaeberlein, M., M. McVey and L. Guarente (1999). "The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms." Genes Dev **13**(19): 2570-2580.

Kahn, A. and M. F. Fraga (2009). "Epigenetics and aging: status, challenges, and needs for the future." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **64**(2): 195-198.

Kang, H. L., S. Benzer and K. T. Min (2002). "Life extension in *Drosophila* by feeding a drug." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(2): 838-843.

Kapahi, P., B. M. Zid, T. Harper, D. Koslover, V. Sapin and S. Benzer (2004). "Regulation of lifespan in *Drosophila* by modulation of genes in the TOR signaling pathway." Curr Biol **14**(10): 885-890.

Kasai, H., M. Matsuzaki, J. Noguchi, N. Yasumatsu and H. Nakahara (2003). "Structure-stability-function relationships of dendritic spines." Trends Neurosci **26**(7): 360-368.

Kenneth G. Manton, E. S. a. H. D. T. (1991). "Limits to Human Life Expectancy: Evidence, Prospects, and Implications." Population Council **17**(4): 603-637.

Kenyon, C. (2011). "The first long-lived mutants: discovery of the insulin/IGF-1 pathway for ageing." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **366**(1561): 9-16.

Kenyon, C., J. Chang, E. Gensch, A. Rudner and R. Tabtiang (1993). "A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type." Nature **366**(6454): 461-464.

King, D. G. and R. J. Wyman (1980). "Anatomy of the giant fibre pathway in *Drosophila*. I. Three thoracic components of the pathway." J Neurocytol **9**(6): 753-770.

Kinsella, K. P., D (2005  
 ). Global Aging: The Challenge of Success.



Kirchner, L., W. Q. Chen, L. Afjehi-Sadat, A. Viidik, M. Skalicky, H. Hoger and G. Lubec (2008). "Hippocampal metabolic proteins are modulated in voluntary and treadmill exercise rats." Exp Neurol **212**(1): 145-151.

Kirkwood, T. (1999). Time of Our Lives: The Science of Human Aging, Aging. Oxford Univ. Press.

Kirkwood, T. B. (2005). "Understanding the odd science of aging." Cell **120**(4): 437-447.

Kirkwood, T. B. and S. N. Austad (2000). "Why do we age?" Nature **408**(6809): 233-238.

Knauf, F., B. Rogina, Z. Jiang, P. S. Aronson and S. L. Helfand (2002). "Functional characterization and immunolocalization of the transporter encoded by the life-extending gene Indy." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(22): 14315-14319.

Knott, A. B., G. Perkins, R. Schwarzenbacher and E. Bossy-Wetzel (2008). "Mitochondrial fragmentation in neurodegeneration." Nat Rev Neurosci **9**(7): 505-518.

Kocaadam, B. and N. Sanlier (2017). "Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health." Crit Rev Food Sci Nutr **57**(13): 2889-2895.

Koenig, J. H. and K. Ikeda (2005). "Relationship of the reserve vesicle population to synaptic depression in the tergotrochanteral and dorsal longitudinal muscles of *Drosophila*." J Neurophysiol **94**(3): 2111-2119.

Koto, M., M. A. Tanouye, A. Ferrus, J. B. Thomas and R. J. Wyman (1981). "The morphology of the cervical giant fiber neuron of *Drosophila*." Brain Res **221**(2): 213-217.

Krishnan, S. N., E. Frei, G. P. Swain and R. J. Wyman (1993). "Passover: a gene required for synaptic connectivity in the giant fiber system of *Drosophila*." Cell **73**(5): 967-977.

Kuptniratsaikul, V., P. Dajpratham, W. Taechaarpornkul, M. Buntragulpoontawee, P. Lukkanapichonchut, C. Chootip, J. Saengsuwan, K. Tantayakom and S. Laongpech (2014). "Efficacy and safety of *Curcuma domestica* extracts compared with ibuprofen in patients with knee osteoarthritis: a multicenter study." Clin Interv Aging **9**: 451-458.

Lao, C. D., M. T. t. Ruffin, D. Normolle, D. D. Heath, S. I. Murray, J. M. Bailey, M. E. Boggs, J. Crowell, C. L. Rock and D. E. Brenner (2006). "Dose escalation of a curcuminoid formulation." BMC Complement Altern Med **6**: 10.

Lashinger, L. M., L. M. Malone, M. J. McArthur, J. A. Goldberg, E. A. Daniels, A. Pavone, J. K. Colby, N. C. Smith, S. N. Perkins, S. M. Fischer and S. D. Hursting (2011). "Genetic reduction of insulin-like growth factor-1 mimics the anticancer effects of calorie restriction on cyclooxygenase-2-driven pancreatic neoplasia." Cancer Prev Res (Phila) **4**(7): 1030-1040.

Lau, M. M., C. E. Stewart, Z. Liu, H. Bhatt, P. Rotwein and C. L. Stewart (1994). "Loss of the imprinted IGF2/cation-independent mannose 6-phosphate receptor results in fetal overgrowth and perinatal lethality." Genes Dev **8**(24): 2953-2963.

Lebovitz, R. M., H. Zhang, H. Vogel, J. Cartwright, L. Dionne, N. Lu, S. Huang and M. M. Matzuk (1996). "Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(18): 9782-9787.

Lee, D. and A. L. Goldberg (2013). "SIRT1 protein, by blocking the activities of transcription factors FoxO1 and FoxO3, inhibits muscle atrophy and promotes muscle growth." J Biol Chem **288**(42): 30515-30526.

Lee, K. S., B. S. Lee, S. Semnani, A. Avanesian, C. Y. Um, H. J. Jeon, K. M. Seong, K. Yu, K. J. Min and M. Jafari (2010). "Curcumin extends life span, improves health span, and modulates the expression of age-associated aging genes in *Drosophila melanogaster*." Rejuvenation Res **13**(5): 561-570.

Lee, R. G., JR, Ed. (2003). Life Span: Evolutionary, Ecological, and Demographic Perspectives., Population Council.

Leger, B., W. Derave, K. De Bock, P. Hespel and A. P. Russell (2008). "Human sarcopenia reveals an increase in SOCS-3 and myostatin and a reduced efficiency of Akt phosphorylation." Rejuvenation Res **11**(1): 163-175B.

Levine, M. E., J. A. Suarez, S. Brandhorst, P. Balasubramanian, C. W. Cheng, F. Madia, L. Fontana, M. G. Mirisola, J. Guevara-Aguirre, J. Wan, G. Passarino, B. K. Kennedy, M. Wei, P. Cohen, E. M. Crimmins and V. D. Longo (2014). "Low protein intake is associated with a major reduction in IGF-1, cancer, and overall mortality in the 65 and younger but not older population." Cell Metab **19**(3): 407-417.

Lin, Y. G., A. B. Kunnumakkara, A. Nair, W. M. Merritt, L. Y. Han, G. N. Armaiz-Pena, A. A. Kamat, W. A. Spannuth, D. M. Gershenson, S. K. Lutgendorf, B. B. Aggarwal and A.

K. Sood (2007). "Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor-kappaB pathway." Clin Cancer Res **13**(11): 3423-3430.

Lin, Y. J., L. Seroude and S. Benzer (1998). "Extended life-span and stress resistance in the Drosophila mutant methuselah." Science **282**(5390): 943-946.

Lipsitz, L. A. (2002). "Dynamics of stability: the physiologic basis of functional health and frailty." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **57**(3): B115-125.

Liu, J., B. Zhang, H. Lei, Z. Feng, J. Liu, A. L. Hsu and X. Z. Xu (2013). "Functional aging in the nervous system contributes to age-dependent motor activity decline in *C. elegans*." Cell Metab **18**(3): 392-402.

Liu, K. A., L. M. Lashinger, A. J. Rasmussen and S. D. Hursting (2014). "Leucine supplementation differentially enhances pancreatic cancer growth in lean and overweight mice." Cancer Metab **2**(1): 6.

Longo, V. D. and M. P. Mattson (2014). "Fasting: molecular mechanisms and clinical applications." Cell Metab **19**(2): 181-192.

Lopez-Lopez, C., D. LeRoith and I. Torres-Aleman (2004). "Insulin-like growth factor I is required for vessel remodeling in the adult brain." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(26): 9833-9838.

Luo, X. G., J. Q. Ding and S. D. Chen (2010). "Microglia in the aging brain: relevance to neurodegeneration." Mol Neurodegener **5**: 12.

Luttik, M. A., K. M. Overkamp, P. Kotter, S. de Vries, J. P. van Dijken and J. T. Pronk (1998). "The *Saccharomyces cerevisiae* NDE1 and NDE2 genes encode separate mitochondrial NADH dehydrogenases catalyzing the oxidation of cytosolic NADH." J Biol Chem **273**(38): 24529-24534.

M, T. (1977). "Physiology of the jump response in *Drosophila melanogaster*." Soc Neurosci Abstr **3**:189.

Maalouf, M., J. M. Rho and M. P. Mattson (2009). "The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies." Brain Res Rev **59**(2): 293-315.

Maalouf, M., P. G. Sullivan, L. Davis, D. Y. Kim and J. M. Rho (2007). "Ketones inhibit mitochondrial production of reactive oxygen species production following glutamate excitotoxicity by increasing NADH oxidation." Neuroscience **145**(1): 256-264.

Maekawa, M., T. Ishizaki, S. Boku, N. Watanabe, A. Fujita, A. Iwamatsu, T. Obinata, K. Ohashi, K. Mizuno and S. Narumiya (1999). "Signaling from Rho to the actin cytoskeleton through protein kinases ROCK and LIM-kinase." Science **285**(5429): 895-898.

Maestu, J., A. Eliakim, J. Jurimae, I. Valter and T. Jurimae (2010). "Anabolic and catabolic hormones and energy balance of the male bodybuilders during the preparation for the competition." J Strength Cond Res **24**(4): 1074-1081.

Mahady, G. B., S. L. Pendland, G. Yun and Z. Z. Lu (2002). "Turmeric (Curcuma longa) and curcumin inhibit the growth of Helicobacter pylori, a group 1 carcinogen." Anticancer Res **22**(6C): 4179-4181.

Mair, W. and A. Dillin (2008). "Aging and survival: the genetics of life span extension by dietary restriction." Annu Rev Biochem **77**: 727-754.

Mair, W., P. Goymer, S. D. Pletcher and L. Partridge (2003). "Demography of dietary restriction and death in Drosophila." Science **301**(5640): 1731-1733.

Malvache, A., S. Reichinnek, V. Villette, C. Haimerl and R. Cossart (2016). "Awake hippocampal reactivations project onto orthogonal neuronal assemblies." Science **353**(6305): 1280-1283.

Manini, T. M. and B. C. Clark (2012). "Dynapenia and aging: an update." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **67**(1): 28-40.

Marchiani, A., C. Rozzo, A. Fadda, G. Delogu and P. Ruzza (2014). "Curcumin and curcumin-like molecules: from spice to drugs." Curr Med Chem **21**(2): 204-222.

Marosi, K., Z. Bori, N. Hart, L. Sarga, E. Koltai, Z. Radak and C. Nyakas (2012). "Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats." Neuroscience **226**: 21-28.

Marosi, K., S. W. Kim, K. Moehl, M. Scheibye-Knudsen, A. Cheng, R. Cutler, S. Camandola and M. P. Mattson (2016). "3-Hydroxybutyrate regulates energy metabolism and induces BDNF expression in cerebral cortical neurons." J Neurochem **139**(5): 769-781.

Marosi, K. and M. P. Mattson (2014). "BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges." Trends Endocrinol Metab **25**(2): 89-98.

Marques-Aleixo, I., P. J. Oliveira, P. I. Moreira, J. Magalhaes and A. Ascensao (2012). "Physical exercise as a possible strategy for brain protection: evidence from mitochondrial-mediated mechanisms." Prog Neurobiol **99**(2): 149-162.

Marques-Aleixo, I., E. Santos-Alves, M. M. Balca, D. Rizo-Roca, P. I. Moreira, P. J. Oliveira, J. Magalhaes and A. Ascensao (2015). "Physical exercise improves brain cortex and cerebellum mitochondrial bioenergetics and alters apoptotic, dynamic and auto(mito)phagy markers." Neuroscience **301**: 480-495.

Martin, I., M. A. Jones and M. Grotewiel (2009). "Manipulation of Sod1 expression ubiquitously, but not in the nervous system or muscle, impacts age-related parameters in Drosophila." FEBS Lett **583**(13): 2308-2314.

Martin, I., M. A. Jones, D. Rhodenizer, J. Zheng, J. M. Warrick, L. Seroude and M. Grotewiel (2009). "Sod2 knockdown in the musculature has whole-organism consequences in Drosophila." Free Radic Biol Med **47**(6): 803-813.

Masoro, E. J., B. P. Yu and H. A. Bertrand (1982). "Action of food restriction in delaying the aging process." Proc Natl Acad Sci U S A **79**(13): 4239-4241.

Massaad, C. A., T. M. Washington, R. G. Pautler and E. Klann (2009). "Overexpression of SOD-2 reduces hippocampal superoxide and prevents memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(32): 13576-13581.

Masternak, M. M., J. A. Panici, M. S. Bonkowski, L. F. Hughes and A. Bartke (2009). "Insulin sensitivity as a key mediator of growth hormone actions on longevity." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **64**(5): 516-521.

Mathews, L. S., R. E. Hammer, R. R. Behringer, A. J. D'Ercole, G. I. Bell, R. L. Brinster and R. D. Palmiter (1988). "Growth enhancement of transgenic mice expressing human insulin-like growth factor I." Endocrinology **123**(6): 2827-2833.

Matsuzaki, M., G. C. Ellis-Davies, T. Nemoto, Y. Miyashita, M. Iino and H. Kasai (2001). "Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons." Nat Neurosci **4**(11): 1086-1092.

Mattison, J. A., G. S. Roth, T. M. Beasley, E. M. Tilmont, A. M. Handy, R. L. Herbert, D. L. Longo, D. B. Allison, J. E. Young, M. Bryant, D. Barnard, W. F. Ward, W. Qi, D. K.

Ingram and R. de Cabo (2012). "Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study." Nature **489**(7415): 318-321.

Mattson, M. P. (2009). "Roles of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in obesity, the metabolic syndrome, and associated vascular and neurodegenerative disorders." Exp Gerontol **44**(10): 625-633.

Mattson, M. P. (2014). "Interventions that improve body and brain bioenergetics for Parkinson's disease risk reduction and therapy." J Parkinsons Dis **4**(1): 1-13.

Mattson, M. P., D. B. Allison, L. Fontana, M. Harvie, V. D. Longo, W. J. Malaisse, M. Mosley, L. Notterpek, E. Ravussin, F. A. Scheer, T. N. Seyfried, K. A. Varady and S. Panda (2014). "Meal frequency and timing in health and disease." Proc Natl Acad Sci U S A **111**(47): 16647-16653.

Mattson, M. P., M. Gleichmann and A. Cheng (2008). "Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders." Neuron **60**(5): 748-766.

Mayeux, R. and Y. Stern (2012). "Epidemiology of Alzheimer disease." Cold Spring Harb Perspect Med **2**(8).

Mazzolani, F. and S. Togni (2013). "Oral administration of a curcumin-phospholipid delivery system for the treatment of central serous chorioretinopathy: a 12-month follow-up study." Clin Ophthalmol **7**: 939-945.

McCarroll, S. A., C. T. Murphy, S. Zou, S. D. Pletcher, C. S. Chin, Y. N. Jan, C. Kenyon, C. I. Bargmann and H. Li (2004). "Comparing genomic expression patterns across species identifies shared transcriptional profile in aging." Nat Genet **36**(2): 197-204.

McCarty, M. F., J. J. DiNicolantonio and J. H. O'Keefe (2015). "Ketosis may promote brain macroautophagy by activating Sirt1 and hypoxia-inducible factor-1." Med Hypotheses **85**(5): 631-639.

McGowan, P. O. and M. Szyf (2010). "Environmental epigenomics: understanding the effects of parental care on the epigenome." Essays Biochem **48**(1): 275-287.

McKiernan, S. H., R. J. Colman, M. Lopez, T. M. Beasley, J. M. Aiken, R. M. Anderson and R. Weindruch (2011). "Caloric restriction delays aging-induced cellular phenotypes in rhesus monkey skeletal muscle." Exp Gerontol **46**(1): 23-29.

Menon, V. P. and A. R. Sudheer (2007). "Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin." Adv Exp Med Biol **595**: 105-125.

Mercken, E. M., S. D. Crosby, D. W. Lamming, L. JeBailey, S. Krzysik-Walker, D. T. Villareal, M. Capri, C. Franceschi, Y. Zhang, K. Becker, D. M. Sabatini, R. de Cabo and L. Fontana (2013). "Calorie restriction in humans inhibits the PI3K/AKT pathway and induces a younger transcription profile." *Aging Cell* **12**(4): 645-651.

Miller, R. A., G. Buehner, Y. Chang, J. M. Harper, R. Sigler and M. Smith-Wheelock (2005). "Methionine-deficient diet extends mouse lifespan, slows immune and lens aging, alters glucose, T4, IGF-I and insulin levels, and increases hepatocyte MIF levels and stress resistance." *Aging Cell* **4**(3): 119-125.

Miller, R. A., D. E. Harrison, C. M. Astle, J. A. Baur, A. R. Boyd, R. de Cabo, E. Fernandez, K. Flurkey, M. A. Javors, J. F. Nelson, C. J. Orihuela, S. Pletcher, Z. D. Sharp, D. Sinclair, J. W. Starnes, J. E. Wilkinson, N. L. Nadon and R. Strong (2011). "Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **66**(2): 191-201.

Miyah JA, E. A. (1985). How Diptera move their wings: a re-examination of the wing base articulation and muscle systems concerned with flight., *Phil Trans R Soc Lond B* **311**:271-302.

Miyazaki, M., J. J. McCarthy, M. J. Fedele and K. A. Esser (2011). "Early activation of mTORC1 signalling in response to mechanical overload is independent of phosphoinositide 3-kinase/Akt signalling." *J Physiol* **589**(Pt 7): 1831-1846.

Mohammadi, A., A. Sahebkar, M. Iranshahi, M. Amini, R. Khojasteh, M. Ghayour-Mobarhan and G. A. Ferns (2013). "Effects of supplementation with curcuminoids on dyslipidemia in obese patients: a randomized crossover trial." *Phytother Res* **27**(3): 374-379.

Mojtahedi, M. C., M. P. Thorpe, D. C. Karampinos, C. L. Johnson, D. K. Layman, J. G. Georgiadis and E. M. Evans (2011). "The effects of a higher protein intake during energy restriction on changes in body composition and physical function in older women." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **66**(11): 1218-1225.

Monteiro, J. P., P. J. Oliveira and A. S. Jurado (2013). "Mitochondrial membrane lipid remodeling in pathophysiology: a new target for diet and therapeutic interventions." *Prog Lipid Res* **52**(4): 513-528.

Moore, D. R., M. J. Robinson, J. L. Fry, J. E. Tang, E. I. Glover, S. B. Wilkinson, T. Prior, M. A. Tarnopolsky and S. M. Phillips (2009). "Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men." Am J Clin Nutr **89**(1): 161-168.

Morse, C. I., J. M. Thom, O. S. Mian, A. Muirhead, K. M. Birch and M. V. Narici (2005). "Muscle strength, volume and activation following 12-month resistance training in 70-year-old males." Eur J Appl Physiol **95**(2-3): 197-204.

Morse, C. I., J. M. Thom, N. D. Reeves, K. M. Birch and M. V. Narici (2005). "In vivo physiological cross-sectional area and specific force are reduced in the gastrocnemius of elderly men." J Appl Physiol (1985) **99**(3): 1050-1055.

Mourier, A., A. X. Bigard, E. de Kerviler, B. Roger, H. Legrand and C. Y. Guezennec (1997). "Combined effects of caloric restriction and branched-chain amino acid supplementation on body composition and exercise performance in elite wrestlers." Int J Sports Med **18**(1): 47-55.

Muller, F. L., W. Song, Y. Liu, A. Chaudhuri, S. Pieke-Dahl, R. Strong, T. T. Huang, C. J. Epstein, L. J. Roberts, 2nd, M. Csete, J. A. Faulkner and H. Van Remmen (2006). "Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy." Free Radic Biol Med **40**(11): 1993-2004.

Mulloney, B. (September 1969). Interneurons in the central nervous system of flies and the start of flight. Zeitschrift für vergleichende Physiologie.

Na, L. X., Y. Li, H. Z. Pan, X. L. Zhou, D. J. Sun, M. Meng, X. X. Li and C. H. Sun (2013). "Curcuminoids exert glucose-lowering effect in type 2 diabetes by decreasing serum free fatty acids: a double-blind, placebo-controlled trial." Mol Nutr Food Res **57**(9): 1569-1577.

Nabeshima, Y., K. Hanaoka, M. Hayasaka, E. Esumi, S. Li, I. Nonaka and Y. Nabeshima (1993). "Myogenin gene disruption results in perinatal lethality because of severe muscle defect." Nature **364**(6437): 532-535.

National Research Council Committee on, P. (1997). The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. Between Zeus and the



Salmon: The Biodemography of Longevity. K. W. Wachter and C. E. Finch. Washington (DC), National Academies Press (US)

National Academy of Sciences.

Neff, F., D. Flores-Dominguez, D. P. Ryan, M. Horsch, S. Schroder, T. Adler, L. C. Afonso, J. A. Aguilar-Pimentel, L. Becker, L. Garrett, W. Hans, M. M. Hettich, R. Holtmeier, S. M. Holter, K. Moreth, C. Prehn, O. Puk, I. Racz, B. Rathkolb, J. Rozman, B. Naton, R. Ordemann, J. Adamski, J. Beckers, R. Bekeredjian, D. H. Busch, G. Ehninger, J. Graw, H. Hofler, M. Klingenspor, T. Klopstock, M. Ollert, J. Stypmann, E. Wolf, W. Wurst, A. Zimmer, H. Fuchs, V. Gailus-Durner, M. Hrabe de Angelis and D. Ehninger (2013). "Rapamycin extends murine lifespan but has limited effects on aging." J Clin Invest **123**(8): 3272-3291.

Newman, J. C. and E. Verdin (2014). "Ketone bodies as signaling metabolites." Trends Endocrinol Metab **25**(1): 42-52.

Nicholson, D. A., R. Yoshida, R. W. Berry, M. Gallagher and Y. Geinisman (2004). "Reduction in size of perforated postsynaptic densities in hippocampal axospinous synapses and age-related spatial learning impairments." J Neurosci **24**(35): 7648-7653.

Nikolic, M., S. Bajek, D. Bobinac, T. S. Vranic and R. Jerkovic (2005). "Aging of human skeletal muscles." Coll Antropol **29**(1): 67-70.

O'Connor, M. S., M. E. Carlson and I. M. Conboy (2009). "Differentiation rather than aging of muscle stem cells abolishes their telomerase activity." Biotechnol Prog **25**(4): 1130-1137.

Oeppen, J. and J. W. Vaupel (2002). "Demography. Broken limits to life expectancy." Science **296**(5570): 1029-1031.

Oksuzyan, A., K. Juel, J. W. Vaupel and K. Christensen (2008). "Men: good health and high mortality. Sex differences in health and aging." Aging Clin Exp Res **20**(2): 91-102.

Olsen, T. S., C. Dehlendorff and K. K. Andersen (2009). "The female stroke survival advantage: relation to age." Neuroepidemiology **32**(1): 47-52.

Onyango, I. G., J. Dennis and S. M. Khan (2016). "Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease and the Rationale for Bioenergetics Based Therapies." Aging Dis **7**(2): 201-214.

Page, M. M., A. B. Salmon, S. F. Leiser, E. L. Robb, M. F. Brown, R. A. Miller and J. A. Stuart (2009). "Mechanisms of stress resistance in Snell dwarf mouse fibroblasts: enhanced antioxidant and DNA base excision repair capacity, but no differences in mitochondrial metabolism." Free Radic Biol Med **46**(8): 1109-1118.

Pallafacchina, G., E. Calabria, A. L. Serrano, J. M. Kalhovde and S. Schiaffino (2002). "A protein kinase B-dependent and rapamycin-sensitive pathway controls skeletal muscle growth but not fiber type specification." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(14): 9213-9218.

Panahi, Y., G. H. Alishiri, S. Parvin and A. Sahebkar (2016). "Mitigation of Systemic Oxidative Stress by Curcuminoids in Osteoarthritis: Results of a Randomized Controlled Trial." J Diet Suppl **13**(2): 209-220.

Panahi, Y., M. S. Hosseini, N. Khalili, E. Naimi, L. E. Simental-Mendia, M. Majeed and A. Sahebkar (2016). "Effects of curcumin on serum cytokine concentrations in subjects with metabolic syndrome: A post-hoc analysis of a randomized controlled trial." Biomed Pharmacother **82**: 578-582.

Panegyres, P. K. (2004). "The contribution of the study of neurodegenerative disorders to the understanding of human memory." Qjm **97**(9): 555-567.

Park, B. S., P. C. Henning, S. C. Grant, W. J. Lee, S. R. Lee, B. H. Arjmandi and J. S. Kim (2013). "HMB attenuates muscle loss during sustained energy deficit induced by calorie restriction and endurance exercise." Metabolism **62**(12): 1718-1729.

Parker, M. G., P. Schön, M. Lagergren and M. Thorslund (2008). "Functional ability in the elderly Swedish population from 1980 to 2005." Eur J Ageing **5**(4): 299-309.

Passtoors, W. M., M. Beekman, J. Deelen, R. van der Breggen, A. B. Maier, B. Guigas, E. Derhovanessian, D. van Heemst, A. J. de Craen, D. A. Gunn, G. Pawelec and P. E. Slagboom (2013). "Gene expression analysis of mTOR pathway: association with human longevity." Aging Cell **12**(1): 24-31.

Pell, J. M. and P. C. Bates (1992). "Differential actions of growth hormone and insulin-like growth factor-I on tissue protein metabolism in dwarf mice." Endocrinology **130**(4): 1942-1950.

Pete, G., C. R. Fuller, J. M. Oldham, D. R. Smith, A. J. D'Ercole, C. R. Kahn and P. K. Lund (1999). "Postnatal growth responses to insulin-like growth factor I in insulin receptor substrate-1-deficient mice." Endocrinology **140**(12): 5478-5487.

Petersen, D. R. and J. A. Doorn (2004). "Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets." Free Radic Biol Med **37**(7): 937-945.

Phelan, P., M. Nakagawa, M. B. Wilkin, K. G. Moffat, C. J. O'Kane, J. A. Davies and J. P. Bacon (1996). "Mutations in shaking-B prevent electrical synapse formation in the Drosophila giant fiber system." J Neurosci **16**(3): 1101-1113.

Phillips, S. M. (2014). "A brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy." Sports Med **44 Suppl 1**: S71-77.

Phillips, T. and C. Leeuwenburgh (2005). "Muscle fiber specific apoptosis and TNF-alpha signaling in sarcopenia are attenuated by life-long calorie restriction." FASEB J **19**(6): 668-670.

Philp, A., D. L. Hamilton and K. Baar (2011). "Signals mediating skeletal muscle remodeling by resistance exercise: PI3-kinase independent activation of mTORC1." J Appl Physiol (1985) **110**(2): 561-568.

Pietrangolo, T., C. Puglielli, R. Mancinelli, S. Beccafico, G. Fano and S. Fulle (2009). "Molecular basis of the myogenic profile of aged human skeletal muscle satellite cells during differentiation." Exp Gerontol **44**(8): 523-531.

Pimentel, G. D., J. C. Rosa, F. S. Lira, N. E. Zanchi, E. R. Ropelle, L. M. Oyama, C. M. Oller do Nascimento, M. T. de Mello, S. Tufik and R. V. Santos (2011). "beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate (HMBeta) supplementation stimulates skeletal muscle hypertrophy in rats via the mTOR pathway." Nutr Metab (Lond) **8**(1): 11.

Piper, M. D., C. Selman, J. J. McElwee and L. Partridge (2008). "Separating cause from effect: how does insulin/IGF signalling control lifespan in worms, flies and mice?" J Intern Med **263**(2): 179-191.

Poli, G., R. J. Schaur, W. G. Siems and G. Leonarduzzi (2008). "4-hydroxynonenal: a membrane lipid oxidation product of medicinal interest." Med Res Rev **28**(4): 569-631.

Pollak, M. N., E. S. Schernhammer and S. E. Hankinson (2004). "Insulin-like growth factors and neoplasia." Nat Rev Cancer **4**(7): 505-518.

Poonam, B., J. M. A., M. Ian and G. M. S. (2007). "Dietary restriction alters demographic but not behavioral aging in *Drosophila*." *Aging Cell* **6**(5): 631-637.

Porter, M. M., A. A. Vandervoort and J. Lexell (1995). "Aging of human muscle: structure, function and adaptability." *Scand J Med Sci Sports* **5**(3): 129-142.

Powers, R. W., 3rd, M. Kaeberlein, S. D. Caldwell, B. K. Kennedy and S. Fields (2006). "Extension of chronological life span in yeast by decreased TOR pathway signaling." *Genes Dev* **20**(2): 174-184.

Priyadarsini, K. I. (2014). "The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent." *Molecules* **19**(12): 20091-20112.

Priyadarsini, K. I., D. K. Maity, G. H. Naik, M. S. Kumar, M. K. Unnikrishnan, J. G. Satav and H. Mohan (2003). "Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin." *Free Radic Biol Med* **35**(5): 475-484.

Qin, W., M. Chachich, M. Lane, G. Roth, M. Bryant, R. de Cabo, M. A. Ottinger, J. Mattison, D. Ingram, S. Gandy and G. M. Pasinetti (2006). "Calorie restriction attenuates Alzheimer's disease type brain amyloidosis in Squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*)." *J Alzheimers Dis* **10**(4): 417-422.

Qin, W., T. Yang, L. Ho, Z. Zhao, J. Wang, L. Chen, W. Zhao, M. Thiyagarajan, D. MacGrogan, J. T. Rodgers, P. Puigserver, J. Sadoshima, H. Deng, S. Pedrini, S. Gandy, A. A. Sauve and G. M. Pasinetti (2006). "Neuronal SIRT1 activation as a novel mechanism underlying the prevention of Alzheimer disease amyloid neuropathology by calorie restriction." *J Biol Chem* **281**(31): 21745-21754.

Qiu, X., K. Brown, M. D. Hirschey, E. Verdin and D. Chen (2010). "Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation." *Cell Metab* **12**(6): 662-667.

R., B., M. A., Z. F. and B. R. (2008). "Sexual selection, sexual conflict and the evolution of ageing and life span." *Functional Ecology* **22**(3): 443-453.

R., C. (2013). *The Ageing Populationed*.

Radak, Z., N. Hart, L. Sarga, E. Koltai, M. Atalay, H. Ohno and I. Boldogh (2010). "Exercise plays a preventive role against Alzheimer's disease." *J Alzheimers Dis* **20**(3): 777-783.

Rantanen, T., S. Volpato, L. Ferrucci, E. Heikkinen, L. P. Fried and J. M. Guralnik (2003). "Handgrip strength and cause-specific and total mortality in older disabled women: exploring the mechanism." J Am Geriatr Soc **51**(5): 636-641.

Ratey, J. J. and J. E. Loehr (2011). "The positive impact of physical activity on cognition during adulthood: a review of underlying mechanisms, evidence and recommendations." Rev Neurosci **22**(2): 171-185.

Recio, M. C., I. Andujar and J. L. Rios (2012). "Anti-inflammatory agents from plants: progress and potential." Curr Med Chem **19**(14): 2088-2103.

Reddy, R. C., P. G. Vatsala, V. G. Keshamouni, G. Padmanaban and P. N. Rangarajan (2005). "Curcumin for malaria therapy." Biochem Biophys Res Commun **326**(2): 472-474.

Renault, V., L. E. Thornell, P. O. Eriksson, G. Butler-Browne and V. Mouly (2002). "Regenerative potential of human skeletal muscle during aging." Aging Cell **1**(2): 132-139.

Renehan, A. G., M. Zwahlen, C. Minder, S. T. O'Dwyer, S. M. Shalet and M. Egger (2004). "Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis." Lancet **363**(9418): 1346-1353.

Richie, J. P., Jr., Y. Leutzinger, S. Parthasarathy, V. Malloy, N. Orentreich and J. A. Zimmerman (1994). "Methionine restriction increases blood glutathione and longevity in F344 rats." FASEB J **8**(15): 1302-1307.

Riley, J. C. ( 2001). Rising Life Expectancy: A Global History, Cambridge University Press,.

Risson, V., L. Mazelin, M. Roceri, H. Sanchez, V. Moncollin, C. Corneloup, H. Richard-Bulteau, A. Vignaud, D. Baas, A. Defour, D. Freyssenet, J. F. Tanti, Y. Le-Marchand-Brustel, B. Ferrier, A. Conjard-Duplany, K. Romanino, S. Bauche, D. Hantai, M. Mueller, S. C. Kozma, G. Thomas, M. A. Ruegg, A. Ferry, M. Pende, X. Bigard, N. Koulmann, L. Schaeffer and Y. G. Gangloff (2009). "Muscle inactivation of mTOR causes metabolic and dystrophin defects leading to severe myopathy." J Cell Biol **187**(6): 859-874.

Robida-Stubbs, S., K. Glover-Cutter, D. W. Lamming, M. Mizunuma, S. D. Narasimhan, E. Neumann-Haefelin, D. M. Sabatini and T. K. Blackwell (2012). "TOR signaling and

rapamycin influence longevity by regulating SKN-1/Nrf and DAF-16/FoxO." Cell Metab **15**(5): 713-724.

Robine, J.-M. S., Y Frontiers of Japanese Demography. J. Goldstein.

Rockwood, K., B. Nassar and A. Mitnitski (2008). "Apolipoprotein E-polymorphism, frailty and mortality in older adults." J Cell Mol Med **12**(6b): 2754-2761.

Rogina, B., R. A. Reenan, S. P. Nilsen and S. L. Helfand (2000). "Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in Drosophila." Science **290**(5499): 2137-2140.

Rolfe, D. F. and G. C. Brown (1997). "Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals." Physiol Rev **77**(3): 731-758.

Rose, M. R. Evolutionary Biology of Aging, Oxford Univ. Press.

Rosenberg, I. H. (1997). "Sarcopenia: origins and clinical relevance." J Nutr **127**(5 Suppl): 990S-991S.

Rossi, P., B. Marzani, S. Giardina, M. Negro and F. Marzatico (2008). "Human skeletal muscle aging and the oxidative system: cellular events." Curr Aging Sci **1**(3): 182-191.

Ruan, H., X. D. Tang, M. L. Chen, M. L. Joiner, G. Sun, N. Brot, H. Weissbach, S. H. Heinemann, L. Iverson, C. F. Wu and T. Hoshi (2002). "High-quality life extension by the enzyme peptide methionine sulfoxide reductase." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(5): 2748-2753.

Sahebkar, A. (2014). "Are curcuminoids effective C-reactive protein-lowering agents in clinical practice? Evidence from a meta-analysis." Phytother Res **28**(5): 633-642.

Sahebkar, A. (2014). "A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials investigating the effects of curcumin on blood lipid levels." Clin Nutr **33**(3): 406-414.

Sahebkar, A., A. Mohammadi, A. Atabati, S. Rahiman, S. Tavallaie, M. Iranshahi, S. Akhlaghi, G. A. Ferns and M. Ghayour-Mobarhan (2013). "Curcuminoids modulate pro-oxidant-antioxidant balance but not the immune response to heat shock protein 27 and oxidized LDL in obese individuals." Phytother Res **27**(12): 1883-1888.

Salles, J., A. Chanet, C. Giraudet, V. Patrac, P. Pierre, M. Jourdan, Y. C. Luiking, S. Verlaan, C. Migne, Y. Boirie and S. Walrand (2013). "1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> enhances the stimulating effect of leucine and insulin on protein synthesis rate through Akt/PKB

and mTOR mediated pathways in murine C2C12 skeletal myotubes." Mol Nutr Food Res **57**(12): 2137-2146.

Salvaterra, P. M. and T. Kitamoto (2001). "Drosophila cholinergic neurons and processes visualized with Gal4/UAS-GFP." Brain Res Gene Expr Patterns **1**(1): 73-82.

Sandri, M., C. Sandri, A. Gilbert, C. Skurk, E. Calabria, A. Picard, K. Walsh, S. Schiaffino, S. H. Lecker and A. L. Goldberg (2004). "Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy." Cell **117**(3): 399-412.

Sanz, A., M. Soikkeli, M. Portero-Otin, A. Wilson, E. Kemppainen, G. McIlroy, S. Ellila, K. K. Kemppainen, T. Tuomela, M. Lakanmaa, E. Kiviranta, R. Stefanatos, E. Dufour, B. Hutz, A. Naudi, M. Jove, A. Zeb, S. Vartiainen, A. Matsuno-Yagi, T. Yagi, P. Rustin, R. Pamplona and H. T. Jacobs (2010). "Expression of the yeast NADH dehydrogenase Ndi1 in Drosophila confers increased lifespan independently of dietary restriction." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(20): 9105-9110.

Scarpulla, R. C. (2008). "Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function." Physiol Rev **88**(2): 611-638.

Schiaffino, S., K. A. Dyar, S. Ciciliot, B. Blaauw and M. Sandri (2013). "Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy." FEBS J **280**(17): 4294-4314.

Schiborr, C., A. Kocher, D. Behnam, J. Jandasek, S. Toelstede and J. Frank (2014). "The oral bioavailability of curcumin from micronized powder and liquid micelles is significantly increased in healthy humans and differs between sexes." Mol Nutr Food Res **58**(3): 516-527.

Schouest L, A. M., Miller T (1986). "The ultra structure and physiology of the tergotrochanteral depressor muscle of the house fly, *Musca domestica*. ." J Exp Zool **239**: 147-158.

Selman, C. (2014). "Dietary restriction and the pursuit of effective mimetics." Proc Nutr Soc **73**(2): 260-270.

Selman, C., S. Lingard, A. I. Choudhury, R. L. Batterham, M. Claret, M. Clements, F. Ramadani, K. Okkenhaug, E. Schuster, E. Blanc, M. D. Piper, H. Al-Qassab, J. R. Speakman, D. Carmignac, I. C. Robinson, J. M. Thornton, D. Gems, L. Partridge and D.

J. Withers (2008). "Evidence for lifespan extension and delayed age-related biomarkers in insulin receptor substrate 1 null mice." FASEB J **22**(3): 807-818.

Selman, C., L. Partridge and D. J. Withers (2011). "Replication of extended lifespan phenotype in mice with deletion of insulin receptor substrate 1." PLoS One **6**(1): e16144.

Selman, C., T. Phillips, J. L. Staib, J. S. Duncan, C. Leeuwenburgh and J. R. Speakman (2005). "Energy expenditure of calorically restricted rats is higher than predicted from their altered body composition." Mech Ageing Dev **126**(6-7): 783-793.

Selman, C. and D. J. Withers (2011). "Mammalian models of extended healthy lifespan." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **366**(1561): 99-107.

Seyfried, T. N. and P. Mukherjee (2005). "Targeting energy metabolism in brain cancer: review and hypothesis." Nutr Metab (Lond) **2**: 30.

Sharples, A. P., N. Al-Shanti, D. C. Hughes, M. P. Lewis and C. E. Stewart (2013). "The role of insulin-like-growth factor binding protein 2 (IGFBP2) and phosphatase and tensin homologue (PTEN) in the regulation of myoblast differentiation and hypertrophy." Growth Horm IGF Res **23**(3): 53-61.

Sharples, A. P., N. Al-Shanti, M. P. Lewis and C. E. Stewart (2011). "Reduction of myoblast differentiation following multiple population doublings in mouse C2 C12 cells: a model to investigate ageing?" J Cell Biochem **112**(12): 3773-3785.

Sharples, A. P., N. Al-Shanti and C. E. Stewart (2010). "C2 and C2C12 murine skeletal myoblast models of atrophic and hypertrophic potential: relevance to disease and ageing?" J Cell Physiol **225**(1): 240-250.

Sharples, A. P., D. J. Player, N. R. Martin, V. Mudera, C. E. Stewart and M. P. Lewis (2012). "Modelling in vivo skeletal muscle ageing in vitro using three-dimensional bioengineered constructs." Ageing Cell **11**(6): 986-995.

Sharples, A. P. and C. E. Stewart (2011). "Myoblast models of skeletal muscle hypertrophy and atrophy." Curr Opin Clin Nutr Metab Care **14**(3): 230-236.

Shen, L. R., L. D. Parnell, J. M. Ordovas and C. Q. Lai (2013). "Curcumin and aging." Biofactors **39**(1): 133-140.

Singh, N. and S. Anand (1995). "Apoptosis in health and disease." Indian J Physiol Pharmacol **39**(2): 91-94.



Sinha, R., T. K. Cooper, C. J. Rogers, I. Sinha, W. J. Turbitt, A. Calcagnotto, C. E. Perrone and J. P. Richie, Jr. (2014). "Dietary methionine restriction inhibits prostatic intraepithelial neoplasia in TRAMP mice." Prostate **74**(16): 1663-1673.

Slagboom, P. E., M. Beekman, W. M. Passtoors, J. Deelen, A. A. Vaarhorst, J. M. Boer, E. B. van den Akker, D. van Heemst, A. J. de Craen, A. B. Maier, M. Rosing, S. P. Mooijaart, B. T. Heijmans and R. G. Westendorp (2011). "Genomics of human longevity." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **366**(1561): 35-42.

Soh, J. W., N. Marowsky, T. J. Nichols, A. M. Rahman, T. Miah, P. Sarao, R. Khasawneh, A. Unnikrishnan, A. R. Heydari, R. B. Silver and R. Arking (2013). "Curcumin is an early-acting stage-specific inducer of extended functional longevity in *Drosophila*." Exp Gerontol **48**(2): 229-239.

Sohal, R. S. (1970). "Mitochondrial changes in the heart of *Drosophila repleta*, Wollaston with age." Exp Gerontol **5**(3): 213-216.

Sohal, R. S., H. H. Ku, S. Agarwal, M. J. Forster and H. Lal (1994). "Oxidative damage, mitochondrial oxidant generation and antioxidant defenses during aging and in response to food restriction in the mouse." Mech Ageing Dev **74**(1-2): 121-133.

Solon-Biet, S. M., A. C. McMahon, J. W. Ballard, K. Ruohonen, L. E. Wu, V. C. Cogger, A. Warren, X. Huang, N. Pichaud, R. G. Melvin, R. Gokarn, M. Khalil, N. Turner, G. J. Cooney, D. A. Sinclair, D. Raubenheimer, D. G. Le Couteur and S. J. Simpson (2014). "The ratio of macronutrients, not caloric intake, dictates cardiometabolic health, aging, and longevity in ad libitum-fed mice." Cell Metab **19**(3): 418-430.

Son, S., K. T. Kim, D. C. Cho, H. J. Kim, J. K. Sung and J. S. Bae (2014). "Curcumin Stimulates Proliferation of Spinal Cord Neural Progenitor Cells via a Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathway." J Korean Neurosurg Soc **56**(1): 1-4.

Song, X., A. Mitnitski and K. Rockwood (2010). "Prevalence and 10-year outcomes of frailty in older adults in relation to deficit accumulation." J Am Geriatr Soc **58**(4): 681-687.

Song, X., A. Mitnitski and K. Rockwood (2011). "Nontraditional risk factors combine to predict Alzheimer disease and dementia." Neurology **77**(3): 227-234.

Soni, K. B. and R. Kuttan (1992). "Effect of oral curcumin administration on serum peroxides and cholesterol levels in human volunteers." Indian J Physiol Pharmacol **36**(4): 273-275.

Speakman, J. R. and C. Selman (2011). "The free-radical damage theory: Accumulating evidence against a simple link of oxidative stress to ageing and lifespan." Bioessays **33**(4): 255-259.

Steiner, J. L., E. A. Murphy, J. L. McClellan, M. D. Carmichael and J. M. Davis (2011). "Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain." J Appl Physiol (1985) **111**(4): 1066-1071.

Stewart, C. E. and P. Rotwein (1996). "Growth, differentiation, and survival: multiple physiological functions for insulin-like growth factors." Physiol Rev **76**(4): 1005-1026.

Stewart, C. E. and P. Rotwein (1996). "Insulin-like growth factor-II is an autocrine survival factor for differentiating myoblasts." J Biol Chem **271**(19): 11330-11338.

Stranahan, A. M. and M. P. Mattson (2012). "Recruiting adaptive cellular stress responses for successful brain ageing." Nat Rev Neurosci **13**(3): 209-216.

Stranahan, A. M., E. D. Norman, K. Lee, R. G. Cutler, R. S. Telljohann, J. M. Egan and M. P. Mattson (2008). "Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats." Hippocampus **18**(11): 1085-1088.

Strausfeld, N. J. B. (1983). "Cobalt-coupled neurons of a giant fibre system in Diptera." U.K. J Neurocytol **12**(6): 971-991.

Streit, W. J. (2006). "Microglial senescence: does the brain's immune system have an expiration date?" Trends Neurosci **29**(9): 506-510.

Suckow, B. K. and M. A. Suckow (2006). "Lifespan Extension by the Antioxidant Curcumin in Drosophila Melanogaster." Int J Biomed Sci **2**(4): 402-405.

Sullivan, P. G., N. A. Rippy, K. Dorenbos, R. C. Concepcion, A. K. Agarwal and J. M. Rho (2004). "The ketogenic diet increases mitochondrial uncoupling protein levels and activity." Ann Neurol **55**(4): 576-580.

Sun, J., D. Folk, T. J. Bradley and J. Tower (2002). "Induced overexpression of mitochondrial Mn-superoxide dismutase extends the life span of adult Drosophila melanogaster." Genetics **161**(2): 661-672.

Sun, J., X. Ren and J. W. Simpkins (2015). "Sequential Upregulation of Superoxide Dismutase 2 and Heme Oxygenase 1 by tert-Butylhydroquinone Protects Mitochondria during Oxidative Stress." Mol Pharmacol **88**(3): 437-449.

Sun, J. and J. Tower (1999). "FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies." Mol Cell Biol **19**(1): 216-228.

Sun YA, N. J., Wyman RJ (1996). "Anatomy of the dorso-ventral motor neurons of *Drosophila*." Soc Neurosci Abst

Sun, Y. A. and R. J. Wyman (1996). "Passover eliminates gap junctional communication between neurons of the giant fiber system in *Drosophila*. off." J Neurobiol **30**(3): 340-348.

Sun, Y. A. and R. J. Wyman (1997). "Neurons of the *Drosophila* giant fiber system: I. Dorsal longitudinal motor neurons." J Comp Neurol **387**(1): 157-166.

Taffett, G. ( Geriatric Medicine An Evidence Based Approach.). : 2003.

Tanouye M, K. D. (1983). "Giant fiber activation of direct flight muscles in *Drosophila*." J. exp. Biol. **105**.: 241-251.

Tanouye, M. A. and R. J. Wyman (1980). "Motor outputs of giant nerve fiber in *Drosophila*." J Neurophysiol **44**(2): 405-421.

Tatar, M., A. Bartke and A. Antebi (2003). "The endocrine regulation of aging by insulin-like signals." Science **299**(5611): 1346-1351.

Taylor, C., J. D. Bartlett, C. S. van de Graaf, J. Louhelainen, V. Coyne, Z. Iqbal, D. P. Maclaren, W. Gregson, G. L. Close and J. P. Morton (2013). "Protein ingestion does not impair exercise-induced AMPK signalling when in a glycogen-depleted state: implications for train-low compete-high." Eur J Appl Physiol **113**(6): 1457-1468.

Terada, N., H. R. Patel, K. Takase, K. Kohno, A. C. Nairn and E. W. Gelfand (1994). "Rapamycin selectively inhibits translation of mRNAs encoding elongation factors and ribosomal proteins." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(24): 11477-11481.

Thomas, J. B. and R. J. Wyman (1982). "A mutation in *Drosophila* alters normal connectivity between two identified neurones." Nature **298**(5875): 650-651.

Thomas, J. B. and R. J. Wyman (1984). "Mutations altering synaptic connectivity between identified neurons in *Drosophila*." J Neurosci **4**(2): 530-538.

Thomas T Perls, M. H. S., John F Lauerman (1999).

Tissenbaum, H. J., TE. (2008). Molecular Biology of Aging.

Toivonen, J. M., G. A. Walker, P. Martinez-Diaz, I. Bjedov, Y. Driège, H. T. Jacobs, D. Gems and L. Partridge (2007). "No influence of Indy on lifespan in *Drosophila* after correction for genetic and cytoplasmic background effects." PLoS Genet **3**(6): e95.

Trimarchi, J. R. and A. M. Schneiderman (1993). "Giant fiber activation of an intrinsic muscle in the mesothoracic leg of *Drosophila melanogaster*." J Exp Biol **177**: 149-167.

Trimarchi, J. R. and A. M. Schneiderman (1995). "Flight initiations in *Drosophila melanogaster* are mediated by several distinct motor patterns." J Comp Physiol A **176**(3): 355-364.

Troen, A. M., E. E. French, J. F. Roberts, J. Selhub, J. M. Ordovas, L. D. Parnell and C. Q. Lai (2007). "Lifespan modification by glucose and methionine in *Drosophila melanogaster* fed a chemically defined diet." Age (Dordr) **29**(1): 29-39.

Trujillo, J., Y. I. Chirino, E. Molina-Jijon, A. C. Anderica-Romero, E. Tapia and J. Pedraza-Chaverri (2013). "Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings." Redox Biol **1**: 448-456.

Vallejo, A. N., J. J. Michel, L. K. Bale, B. H. Lemster, L. Borghesi and C. A. Conover (2009). "Resistance to age-dependent thymic atrophy in long-lived mice that are deficient in pregnancy-associated plasma protein A." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(27): 11252-11257.

van den Berg, E., J. M. Dekker, G. Nijpels, R. P. Kessels, L. J. Kappelle, E. H. de Haan, R. J. Heine, C. D. Stehouwer and G. J. Biessels (2008). "Cognitive functioning in elderly persons with type 2 diabetes and metabolic syndrome: the Hoorn study." Dement Geriatr Cogn Disord **26**(3): 261-269.

van Gool, W. A., D. van de Beek and P. Eikelenboom (2010). "Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide." Lancet **375**(9716): 773-775.

van Praag, H., B. R. Christie, T. J. Sejnowski and F. H. Gage (1999). "Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(23): 13427-13431.

van Praag, H., G. Kempermann and F. H. Gage (1999). "Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus." Nat Neurosci **2**(3): 266-270.

Vaupel, J. W., A. Baudisch, M. Dolling, D. A. Roach and J. Gampe (2004). "The case for negative senescence." Theor Popul Biol **65**(4): 339-351.

Vaupel, J. W. and A. E. Gowan (1986). "Passage to Methuselah: some demographic consequences of continued progress against mortality." Am J Public Health **76**(4): 430-433.

Vaupel JW, L. H. W. D. ( 1994). " Studies in the Economics of Aging." 79–104.

Vaupel, J. W. and E. Loichinger (2006). "Redistributing work in aging Europe." Science **312**(5782): 1911-1913.

Vaz Fragoso, C. A., P. L. Enright, G. McAvay, P. H. Van Ness and T. M. Gill (2012). "Frailty and respiratory impairment in older persons." Am J Med **125**(1): 79-86.

Vellai, T., K. Takacs-Vellai, Y. Zhang, A. L. Kovacs, L. Orosz and F. Muller (2003). "Genetics: influence of TOR kinase on lifespan in *C. elegans*." Nature **426**(6967): 620.

Vera-Ramirez, L., P. Perez-Lopez, A. Varela-Lopez, M. Ramirez-Tortosa, M. Battino and J. L. Quiles (2013). "Curcumin and liver disease." Biofactors **39**(1): 88-100.

Vrailas-Mortimer, A., T. del Rivero, S. Mukherjee, S. Nag, A. Gaitanidis, D. Kadas, C. Consoulas, A. Duttaroy and S. Sanyal (2011). "A muscle-specific p38 MAPK/Mef2/MnSOD pathway regulates stress, motor function, and life span in *Drosophila*." Dev Cell **21**(4): 783-795.

Walker, D. W. and S. Benzer (2004). "Mitochondrial "swirls" induced by oxygen stress and in the *Drosophila* mutant hyperswirl." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(28): 10290-10295.

Wall, B. T. and L. J. van Loon (2013). "Nutritional strategies to attenuate muscle disuse atrophy." Nutr Rev **71**(4): 195-208.

Wallace, D. C. (2005). "A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine." Annu Rev Genet **39**: 359-407.

Walston, J., E. C. Hadley, L. Ferrucci, J. M. Guralnik, A. B. Newman, S. A. Studenski, W. B. Ershler, T. Harris and L. P. Fried (2006). "Research agenda for frailty in older

adults: toward a better understanding of physiology and etiology: summary from the American Geriatrics Society/National Institute on Aging Research Conference on Frailty in Older Adults." J Am Geriatr Soc **54**(6): 991-1001.

Walston, J., M. A. McBurnie, A. Newman, R. P. Tracy, W. J. Kop, C. H. Hirsch, J. Gottdiener and L. P. Fried (2002). "Frailty and activation of the inflammation and coagulation systems with and without clinical comorbidities: results from the Cardiovascular Health Study." Arch Intern Med **162**(20): 2333-2341.

Wang, P. Y., N. Neretti, R. Whitaker, S. Hosier, C. Chang, D. Lu, B. Rogina and S. L. Helfand (2009). "Long-lived Indy and calorie restriction interact to extend life span." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(23): 9262-9267.

Welsh, G. I., C. M. Stokes, X. Wang, H. Sakaue, W. Ogawa, M. Kasuga and C. G. Proud (1997). "Activation of translation initiation factor eIF2B by insulin requires phosphatidylinositol 3-kinase." FEBS Lett **410**(2-3): 418-422.

Westermann, B. (2010). "Mitochondrial dynamics in model organisms: what yeasts, worms and flies have taught us about fusion and fission of mitochondria." Semin Cell Dev Biol **21**(6): 542-549.

Wilkinson, J. E., L. Burmeister, S. V. Brooks, C. C. Chan, S. Friedline, D. E. Harrison, J. F. Hejtmancik, N. Nadon, R. Strong, L. K. Wood, M. A. Woodward and R. A. Miller (2012). "Rapamycin slows aging in mice." Aging Cell **11**(4): 675-682.

Willett, M., J. L. Cowan, M. Vlasak, M. J. Coldwell and S. J. Morley (2009). "Inhibition of mammalian target of rapamycin (mTOR) signalling in C2C12 myoblasts prevents myogenic differentiation without affecting the hyperphosphorylation of 4E-BP1." Cell Signal **21**(10): 1504-1512.

Wise, D. M. C. a. D. A., Ed. ( 2009). Health at Older Ages: The Causes and Consequences of

Declining Disability among the Elderly University of Chicago Press.

Wisser, A. N., W. (1984). "Functional-morphological investigations on the flight muscles and their insertion points in the blowfly *Calliphora erythrocephala* (Insecta, Diptera)." Zoomorphology.

Withers, D. J., D. J. Burks, H. H. Towery, S. L. Altamuro, C. L. Flint and M. F. White (1999). "Irs-2 coordinates Igf-1 receptor-mediated beta-cell development and peripheral insulin signalling." Nat Genet **23**(1): 32-40.

Withers, D. J., J. S. Gutierrez, H. Towery, D. J. Burks, J. M. Ren, S. Previs, Y. Zhang, D. Bernal, S. Pons, G. I. Shulman, S. Bonner-Weir and M. F. White (1998). "Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice." Nature **391**(6670): 900-904.

Wright, L. E., J. B. Frye, B. Gorti, B. N. Timmermann and J. L. Funk (2013). "Bioactivity of turmeric-derived curcuminoids and related metabolites in breast cancer." Curr Pharm Des **19**(34): 6218-6225.

Xie, J., F. E. Matthews, C. Jagger, J. Bond and C. Brayne (2008). "The oldest old in England and Wales: a descriptive analysis based on the MRC Cognitive Function and Ageing Study." Age Ageing **37**(4): 396-402.

Yang, J., M. Anzo and P. Cohen (2005). "Control of aging and longevity by IGF-I signaling." Exp Gerontol **40**(11): 867-872.

Yang, N., O. Higuchi, K. Ohashi, K. Nagata, A. Wada, K. Kangawa, E. Nishida and K. Mizuno (1998). "Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in Rac-mediated actin reorganization." Nature **393**(6687): 809-812.

Yasuyama, K. and P. M. Salvaterra (1999). "Localization of choline acetyltransferase-expressing neurons in Drosophila nervous system." Microsc Res Tech **45**(2): 65-79.

Youle, R. J. and D. P. Narendra (2011). "Mechanisms of mitophagy." Nat Rev Mol Cell Biol **12**(1): 9-14.

Yu, Z., H. Luo, W. Fu and M. P. Mattson (1999). "The endoplasmic reticulum stress-responsive protein GRP78 protects neurons against excitotoxicity and apoptosis: suppression of oxidative stress and stabilization of calcium homeostasis." Exp Neurol **155**(2): 302-314.

Yuan, R., S. W. Tsaih, S. B. Petkova, C. Marin de Evsikova, S. Xing, M. A. Marion, M. A. Bogue, K. D. Mills, L. L. Peters, C. J. Bult, C. J. Rosen, J. P. Sundberg, D. E. Harrison, G. A. Churchill and B. Paigen (2009). "Aging in inbred strains of mice: study design and interim report on median lifespans and circulating IGF1 levels." Aging Cell **8**(3): 277-287.

Yudkoff, M., Y. Daikhin, T. M. Melo, I. Nissim, U. Sonnewald and I. Nissim (2007). "The ketogenic diet and brain metabolism of amino acids: relationship to the anticonvulsant effect." Annu Rev Nutr **27**: 415-430.

Zhang, Y., A. Bokov, J. Gelfond, V. Soto, Y. Ikeno, G. Hubbard, V. Diaz, L. Sloane, K. Maslin, S. Treaster, S. Rendon, H. van Remmen, W. Ward, M. Javors, A. Richardson, S. N. Austad and K. Fischer (2014). "Rapamycin extends life and health in C57BL/6 mice." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **69**(2): 119-130.

Zhong, Y., W. Yu, J. Feng, Z. Fan and J. Li (2014). "Curcumin suppresses tumor necrosis factor-alpha-induced matrix metalloproteinase-2 expression and activity in rat vascular smooth muscle cells via the NF-kappaB pathway." Exp Ther Med **7**(6): 1653-1658.

Zhou, H., C. S. Beevers and S. Huang (2011). "The targets of curcumin." Curr Drug Targets **12**(3): 332-347.

Zid, B. M., A. N. Rogers, S. D. Katewa, M. A. Vargas, M. C. Kolipinski, T. A. Lu, S. Benzer and P. Kapahi (2009). "4E-BP extends lifespan upon dietary restriction by enhancing mitochondrial activity in Drosophila." Cell **139**(1): 149-160.

Zuo, Y., A. Lin, P. Chang and W. B. Gan (2005). "Development of long-term dendritic spine stability in diverse regions of cerebral cortex." Neuron **46**(2): 181-189.

Chapman, T., L. Liddle, J. Kalb, M. Wolfner, and L. Partridge, 1995 Cost of mating in *Drosophila melanogaster* females is mediated by male accessory gland products. *Nature* **373**: 241–244.

Cognigni, P., A. P. Bailey, and I. Miguel-Aliaga, 2011 Enteric neurons and systemic signals couple nutritional and reproductive status with intestinal homeostasis. *Cell Metab.* **13**: 92–104.

Bai, H., P. Kang, A. M. Hernandez, and M. Tatar, 2013 Activin signaling targeted by insulin/dFOXO regulates aging and muscle proteostasis in *Drosophila*. *PLoS Genet.* **9**: e1003941.

Ghosh, A. C., and M. B. O'Connor, 2014 Systemic Activin signaling independently regulates sugar homeostasis, cellular metabolism, and pH balance in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111**: 5729–5734.

Fernández-Hernández, I., C. Rhiner, and E. Moreno, 2013 Adult neurogenesis



in *Drosophila*. *Cell Reports* 3: 1857–1865.

Fricke, C., A. Bretman, and T. Chapman, 2010 Female nutritional status determines the magnitude and sign of responses to a male ejaculate signal in *Drosophila melanogaster*. *J. Evol. Biol.* 23: 157–165.

Huang, C. W., H. D. Wang, H. Bai, M. S. Wu, J. H. Yen et al., 2015 Tequila regulates insulin-like signaling and extends life span in *Drosophila*. *J. Gerontol.* 70: 1461–1469.

Reiff, T., J. Jacobson, P. Cognigni, Z. Antonello, E. Ballesta et al., 2015 Endocrine remodelling of the adult intestine sustains reproduction in *Drosophila*. *eLife* 4: e06930.

Song, W., D. Cheng, S. Hong, B. Sappe, Y. Hu et al., 2017a Midgut-derived Activin regulates glucagon-like action in the fat body and glycemic control. *Cell Metab.* 25: 386–399.

Song, W., E. Owusu-Ansah, Y. Hu, D. Cheng, X. Ni et al., 2017b Activin signaling mediates muscle-to-adipose communication in a mitochondria dysfunction-associated obesity model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114: 8596–8601.