

ΑΝΘΡΩΠΟΙ ΚΑΙ ΣΚΟΥΛΗΚΙΑ II:

Ο ρόλος του νηματώδους *Caenorhabditis elegans* στη σύγχρονη βιολογική και ιατρική έρευνα

Στο προηγούμενο τεύχος είχαμε παρουσιάσει το νηματώδη *Caenorhabditis elegans* ως έναν καλώς μελετημένο οργανισμό-μοντέλο, με μοναδικά χαρακτηριστικά και με δυνατότητες που ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις της σύγχρονης βιοϊατρικής έρευνας. Στη συνέχεια θα αναφερθούμε επιγραμματικά σε τέτοιες έρευνες στο *C. elegans*, οι οποίες έχουν οδηγήσει σε ανακαλύψεις-ορόσημα στους τομείς της νευροβιολογίας, του κυτταρικού θανάτου και της γήρανσης, τομείς στους οποίους το σκουλήκι είχε και εξακολουθεί να έχει καθοριστική συνεισφορά.

Νεκτάριος Ταβερναράκης, Πόπη Συντυχάκη, Χρύσα Σαμαρά, Γιάννης Βόγγλης

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας

Νευροβιολογία

Το νευρικό σύστημα του *C. elegans* αποτελείται από 302 νευρώνες οι οποίοι χωρίζονται σε 118 κλάσεις. Συγκριτικά, το ανθρώπινο νευρικό σύστημα αποτελείται συνολικά από 100 δισεκατομμύρια νευρικά κύτταρα (Εικόνα 1). Για το νευρικό σύστημα του νηματώδους όχι μόνο έχουν περιγραφεί όλες οι κυτταρικές διαίρεσεις που οδηγούν στο σχηματισμό τους, αλλά είναι γνωστό και το ακριβές χρωροχρονικό αναπτυξιακό τους πρότυπο. Έτσι, για κάθε νευρώνα ξεχωριστά είναι γνωστή η ακριβής θέση που φέρει στον οργανισμό, αλλά και το αναπτυξιακό στάδιο κατά το οποίο προήλθε. Επίσης, έχουν χαρτογραφηθεί και όλες οι συνάψεις μεταξύ των νευρικών κυττάρων, ώστε να είναι γνωστό το πλήρες κύκλωμα του νευρικού συστήματος. Έτσι, είναι γνωστό ότι σχηματίζονται συνάψεις με επαφή (gap junctions), που είναι κυρίως νευρομυϊκές και μεταξύ γειτονικών νευρώνων. Η πλειονότητα των συνάψεων ωστόσο είναι χημικές, δηλαδή γίνονται με τη μεσολήβηση νευροδιαβιβαστών (Bargmann and Kaplan, 1998). Στο νηματώδη συναντώνται νευροδιαβιβαστικά μόρια που είναι όμοια με εκείνα των σπονδυλωτών, όπως η ακετυλοχολίνη, η ντοπαμίνη, η σεροτονίνη, το γ-αμινοβουτυρικό οξύ κ.ά. Έχει επίσης χαρακτηριστεί η λειτουργία σχεδόν κάθε νευρικού κυττάρου. Ανάλογα με το ρόλο που επιτελούν, οι νευρώνες χωρίζονται σε αισθητήριους (πρόσληψη ερεθισμάτων), ενδιάμεσους (επεξεργασία και προώθηση του σήματος στον κατάλληλο νευ-



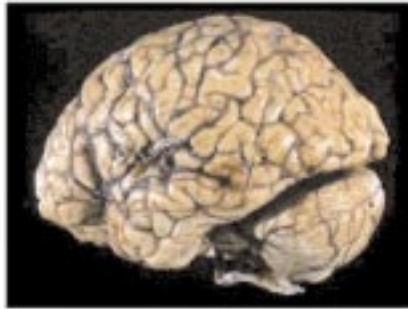
ρών) και κινητικούς (μετάδοση του σήματος στους κατάλληλους μυς). Κάθε νευρώνας είναι υπεύθυνος για μία ή περισσότερες λειτουργίες. Ο νηματώδης έχει την ικανότητα να αντιλαμβάνεται μια σειρά από ερεθίσματα, όπως χημικά, μηχανικά ή θερμικά. Η κάθε αίσθηση που διαθέτει οφείλεται σε μια σειρά από διαφορετικούς και πολύ συγκεκριμένους αισθητήριους νευρώνες. Στους νευρώνες αυτούς φέρει υποδοχείς οι οποίοι είναι στις περισσότερες των περιπτώσεων κανάλια ιόντων (Bargmann, 1998). Η πλειονότητα των αισθητήριων νευρώνων βρίσκεται στο εμπρόσθιο άκρο του οργανισμού (κεφάλι). Πολλοί από τους νευρώνες αυτούς είναι μέρος εξειδικευμένων αισθητήριων οργάνων, που καλούνται sensilla. Ο *C. elegans* αντιλαμβάνεται πάνω από 80 διαφορετικά πτητικά και υδατοδιαλυτά μόρια (Sengupta et al., 1993). Αυτό επιτυγχάνεται μέσω συγκεκριμένων ομάδων νευρικών κυττάρων για τα οποία είναι γνωστές οι μεταξύ τους συνδέσεις, η επιμέρους λειτουργία τους αλλά και τα

ρών) και κινητικούς (μετάδοση του σήματος στους κατάλληλους μυς). Κάθε νευρώνας είναι υπεύθυνος για μία ή περισσότερες λειτουργίες.

Ο νηματώδης έχει την ικανότητα να αντιλαμβάνεται μια σειρά από ερεθίσματα, όπως χημικά, μηχανικά ή θερμικά. Η κάθε αίσθηση που διαθέτει οφείλεται σε μια σειρά από διαφορετικούς και πολύ συγκεκριμένους αισθητήριους νευρώνες. Στους νευρώνες αυτούς φέρει υποδοχείς οι οποίοι είναι στις περισσότερες των περιπτώσεων κανάλια ιόντων (Bargmann, 1998). Η πλειονότητα των αισθητήριων νευρώνων βρίσκεται στο εμπρόσθιο άκρο του οργανισμού (κεφάλι). Πολλοί από τους νευρώνες αυτούς είναι μέρος εξειδικευμένων αισθητήριων οργάνων, που καλούνται sensilla.

Ο *C. elegans* αντιλαμβάνεται πάνω από 80 διαφορετικά πτητικά και υδατοδιαλυτά μόρια (Sengupta et al., 1993). Αυτό επιτυγχάνεται μέσω συγκεκριμένων ομάδων νευρικών κυττάρων για τα οποία είναι γνωστές οι μεταξύ τους συνδέσεις, η επιμέρους λειτουργία τους αλλά και τα

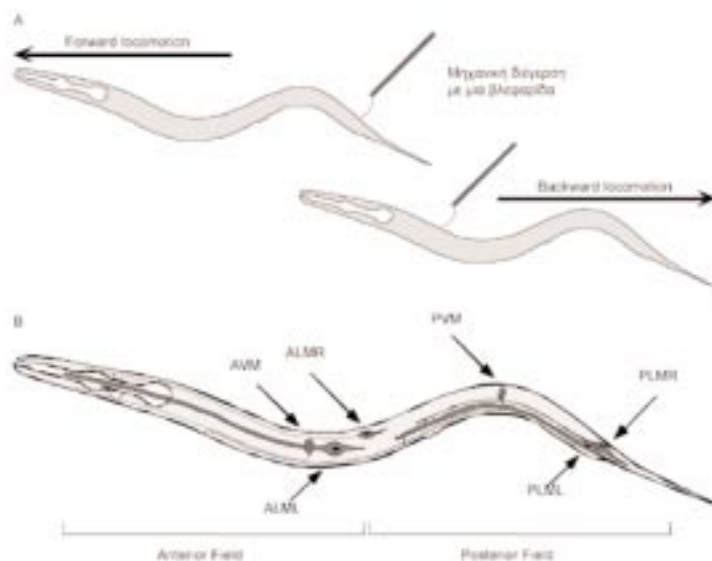
μονοπάτια σηματοδότησης που επάγονται κατά την πρόσληψη και τη μεταφορά του σήματος. Στους νευρώνες αυτούς υπάρχουν υποδοχείς οι οποίοι είτε είναι ειδικοί για την πρόσληψη κάποιου μορίου (π.χ. ιόντων νατρίου) είτε είναι γενικοί. Έτσι, η ικανότητα πρόσληψης χημικών ερεθισμάτων μπορεί να ελεγχθεί, καθώς ο *C. elegans* όταν βρεθεί σε περιβάλλον με κλίση συγκέντρωσης μιας δεδομένης χημικής ένωσης κινείται προς την πηγή της, αν αυτή είναι ελκυστική (υποδηλώνοντας την ύπαρξη θρεπτικών συστατικών), ή απομακρύνεται από αυτήν, αν είναι απωθητική (για ουσίες επιβλαβείς για τον οργανισμό). Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως χημειόταξη (chemotaxis; Bargmann, 1993; Bargmann et al., 1990). Ο *C. elegans* έχει επίσης τη δυνατότητα αίσθησης μηχανικών ερεθισμάτων. Αυτό επιτυγχάνεται με ένα δίκτυο έξι νευρώνων οι οποίοι είναι κατανομημένοι κατά μήκος του σώματος και δίνουν τη δυνατότητα αίσθησης ήπιων ή ισχυρών μηχανικών ερεθισμάτων (Chalfie and Sulston, 1981; Tavernarakis and Driscoll, 1997; Εικόνα 2). Έτσι, ο νηματώδης μπορεί να αντιλαμβάνεται την ύπαρξη ενός εμποδίου και οπισθοχωρώντας να επαναπροσδιορίζει την κατεύθυνσή του. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μετατροπή ενός μηχανικού ερεθίσματος σε βιολογική απάντηση (mechanotransduction) αποτελεί τη βάση ενός μεγάλου αριθμού θεμελιωδών βιολογικών διαδικασιών, όπως οι αισθήσεις της αφής, της ισορροπίας και της ακοής, και συμβάλλει σημαντικά στην ανάπτυξη και διατήρηση της ομοιόστασης των οργανισμών (French, 1992). Όμως, παρά τη μεγάλη σημασία στη βιολογία, πολύ λίγο είναι γνωστά σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους οι μηχανικές δυνάμεις που ασκούνται σε ένα κύτταρο οδηγούν σε ένα εκτενές ρεπερτόριο φυσιολογικών αποκρίσεων. Πρόσφατες γενετικές και ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι κεντρικό ρόλο στο μετασχηματισμό των μηχανικών δυνάμεων σε βιολογικά σήματα έ-



Εικόνα 1. Ο ανθρώπινος εγκέφαλος. Περίπου 70, από τα 100 δισεκατομμύρια νευρικά μας κύτταρα φτάνουν το πιο περίπλοκο ζωικό όργανο που καταφέρει να συνδέσει η φύση. Το σκελίτσο έχει μόλις 302 νευρώνες...

χουν εξειδικευμένα μακρομοριακά συμπλέγματα, που συνδέονται με ιοντικά κανάλια στους αισθητήριους μηχανοϋποδοχείς των διαφόρων οργανισμών (Hamill and Martinac, 2001). Όμως, οι δυσκολίες της άμεσης απομόνωσης και μελέτης των μηχανικά-επαγόμενων μακρομοριακών συμπλόκων και ιοντικών καναλιών καθιστούν αναγκαίες την ανάπτυξη και χρησιμοποίηση γενετικών μοντέλων διαβίβασης μηχανικών ερεθισμάτων. Πράγματι, οι γενετικές προσεγγίσεις έχουν αποδειχθεί εξαιρετικά επιτυχείς στην ταυτοποίηση υποψηφίων ιοντικών καναλιών και άλλων συστατικών των συμπλόκων διαβίβασης μηχανικών διεγέρσεων. Πρωτοποριακές γενετικές μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν από τους Sydney Brenner, Martin Chalfie, Marilyn Dew και John Sulston με χρήση του νηματώδους *Caenorhabditis elegans*, έχουν επιτρέψει τη λεπτομερή περιγραφή της αίσθησης της αφής σε αυτό τον απλό οργανισμό (Chalfie et al., 1985; Sulston et al., 1975; Tavernarakis and Driscoll, 1997; Εικόνα 3). Εκτενείς μελέτες που ακολούθησαν έχουν καταλήξει στον προσδιορισμό ενός μεγάλου αριθμού πρωτεϊνών, που εμπλέκονται στη διαβίβαση μηχανικών ερεθισμάτων και στη σύσταση ενός μοντέλου για το μοριακό σύμπλοκο, που επιτελεί αυτή τη λειτουργία (Goodman and Schwarz, 2003; Tavernarakis and Driscoll, 1997; Tavernarakis et al., 1997; Εικόνα 4). Εκτός από χημικά και μηχανικά ερεθί-

σματα ο *C. elegans* μπορεί να αισθάνεται την περιβαλλοντική θερμοκρασία έχοντας τη δυνατότητα διάκρισης αλλαγών της τάξεως του 0,1οC. Το φαινόμενο αίσθησης της θερμοκρασίας ονομάζεται θερμότηταξη (thermotaxis). Οι αισθητήριοι νευρώνες στους οποίους οφείλεται αυτή η ικανότητα του *C. elegans* έχουν χαρακτηριστεί, ενώ έχει βρεθεί και μια σειρά από υπεύθυνα γονίδια που κωδικοποιούν είτε για υποδοχείς είτε για μόρια που συμβάλλουν στην αφομοίωση και τη μετάδοση του θερμικού ερεθίσματος (Mori, 1999; Mori and Ohshima, 1995). Το θερμοκρασιακό εύρος στο οποίο ζει ο νηματώδης κυμαίνεται μεταξύ 14οC και 26οC. Κατά τη θερμότηταξη το άτομο επιλέγει προς τα πού θα κινηθεί μέσα σε διαβάθμιση θερμοκρασίας στο χώρο και συνήθως οδεύει προς περιοχές με θερμοκρασία ίδια με αυτήν στην οποία είχε αναπτυχθεί. Το νευρικό σύστημα του *C. elegans* χαρακτηρίζεται από την ικανότητα αίσθησης (sensory transduction) όλων σχεδόν των ερεθισμάτων που δέχονται και οι ανώτεροι οργανισμοί. Εκείνο που μετατρέπει το συγκεκριμένο οργανισμό σε πολύτιμο εργαλείο μελέτης της βιολογίας της συμπεριφοράς και των αισθήσεων είναι οι ιδιότητες που χαρακτηρίζουν την αφομοίωση των παραπάνω ερεθισμάτων (sensory integration). Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι κοινά ανάμεσα στο νηματώδη και σε πολυπληκότερους οργανισμούς. Με τον όρο αφομοίωση του ερεθίσμα-



Εικόνα 2. Η αίσθηση της αψής στο σκουλήκι. (Α) Ο *C. elegans* αποφεύγει μηχανικά ερεθίσματα. (Β) Η ανατομική διάταξη των έξι μηχανοαποδοχών (AVM, ALMR, PLMR, ALML, PLML) καθορίζει το εμπρόσθιο και το οπίσθιο πεδίο αίσθησης μηχανικών ερεθισμάτων

τος εννοείται η αλληλαγή της απόκρισης σε αυτό με βάση προγενέστερη εμπειρία, δηλαδή μάθηση ανάλογα με το περιβάλλον. Τέτοια παραδείγματα συναντώνται στον οργανισμό και διαχωρίζονται σε συνδεδεμένη και μη συνδεδεμένη μάθηση. Φαινόμενο μη συνδεδεμένης μάθησης είναι η προσαρμογή σε επαναλαμβανόμενα ερεθίσματα και η τελική απόρριψή τους (adaptation), η ευαισθητοποίηση (sensitization) στην αίσθηση του ερεθίσματος καθώς και η μικρής διάρκειας μνήμη (habituation) (Bernhard and van der Kooy, 2000; Rankin, 2002). Αντίθετα, φαινόμενο συνδεδεμένης μάθησης είναι η μακράς διάρκειας μνήμη (associative learning; Rankin et al., 1990).

Με την έκθεση του νηματώδους σε ένα ερέθισμα, αρχικά παρατηρείται αυξημένη ικανότητα απόκρισης σε αυτό (sensitization), γεγονός που οφείλεται στην έκφραση των κατάλληλων γονιδίων για τη μετάδοση του σήματος από τον αισθητήριο νευρώνα. Αν το ερέθισμα εξακολουθεί να επιδρά, τότε παρατηρείται μείωση της ικανότητας απόκρισης (adaptation) για το δεδομένο ερέθισμα, ενώ ο νευρώνας διατηρεί την ικανότητα αίσθησης διαφορετικών ερεθισμάτων. Αν η μειωμένη απόκριση διαρ-

κεί για μικρό χρονικό διάστημα εξαιτίας ενός ερεθίσματος, το φαινόμενο καλείται μη συνδεδεμένη μνήμη (habituation). Εντούτοις ο νηματώδης έχει τη δυνατότητα συνδυασμού της ύπαρξης δύο διαφορετικών ερεθισμάτων και απόκρισης με βάση αυτά (associative learning). Ο συσχετισμός διαφορετικών ερεθισμάτων και ο καθορισμός της συμπεριφοράς από το σύνολο των ερεθισμάτων αυτών επιτελούνται κυρίως στους ενδιάμεσους νευρώνες. Οι συγκεκριμένοι νευρώνες συνδέονται με μια σειρά από διαφορετικούς αισθητήριους και κινητικούς νευρώνες. Τα διαφορετικά σήματα που φτάνουν εκεί «αξιολογούνται» και επιλέγεται κάθε φορά η απόκριση που είναι ευνοϊκότερη για τον οργανισμό. Με αυτό τον τρόπο, στους ενδιάμεσους νευρώνες εμφανίζεται το φαινόμενο της μνήμης, αλλά και της προσαρμοστικότητας του νευρικού συστήματος (neural plasticity) αφού η απόκριση δεν είναι πάντα η ίδια αλλά μεταβάλλεται ανάλογα με τις συνθήκες (Hobert, 2003).

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα συνδυαστικής μνήμης (associative learning) παρουσιάζεται κατά τη θερμόταξη. Όταν ο νηματώδης αναπτύσσεται παρουσία τροφής σε μια δεδομένη θερμοκρασία,

συσχετίζει αυτά τα δυο διαφορετικά ερεθίσματα (χημικό και θερμικό). Έτσι όπως αναφέραμε και πιο πριν, αν βρεθεί σε ένα περιβάλλον θερμοκρασιακής κλίσης απουσία τροφής, τότε μετακινείται προς τη θερμοκρασία στην οποία αναπτύχθηκε, καθώς η δεδομένη θερμοκρασία υποδηλώνει την ύπαρξη τροφής. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα προσαρμοστικότητας του νευρικού συστήματος (neural plasticity) είναι η χημειόταξη. Είναι γνωστό ότι αν ο *C. elegans* βρεθεί σε περιβάλλον κλίσης συγκέντρωσης μιας ελκτικής ένωσης, θα μετακινηθεί προς την πηγή της. Αν εν τούτοις έχει προηγηθεί συσχετισμός της συγκεκριμένης ένωσης με την έλλειψη τροφής, παρά το γεγονός ότι η ένωση αυτή είναι a priori ελκτική, ο νηματώδης θα την αποφύγει καθώς τώρα υποδηλώνει την έλλειψη τροφής. Οι παραπάνω διαδικασίες λαμβάνουν χώρα σε αισθητήριους και ενδιάμεσους νευρώνες, από τους οποίους καθορίζεται τελικά η συμπεριφορά του οργανισμού.

Μηχανισμοί κυτταρικού θανάτου

Ένας μεγάλος όγκος πληροφοριών σχετικά με τους μηχανισμούς, φυσιολογικού και μη, θανάτου των κυττάρων έχει προέλθει από μελέτες στο *C. elegans*. Στη διεξαγωγή της έρευνας έχει συμβάλει σημαντικά η διαθεύκανση του συνόλου των κυτταρικών διαιρέσεων στον οργανισμό. Είναι γνωστά με ακρίβεια τόσο η ταυτότητα όσο και η θέση των κυττάρων που πεθαίνουν σε συγκεκριμένα στάδια της ανάπτυξης του νηματώδους. Η καταλληλότητα του οργανισμού για τέτοιου είδους μελέτες οφείλεται επιπλέον στο γεγονός ότι είναι διάφανος. Συνεπώς, οι πυρήνες των κυττάρων του είναι ορατοί σε οπτικό μικροσκόπιο και υπάρχει η δυνατότητα διάκρισης αυτών που πεθαίνουν ακόμα και σε ζωντανά άτομα. Τα στοιχεία αυτά έχουν επιτρέψει την απομόνωση ενός μεγάλου αριθμού μεταλλαγών, που επηρεάζουν τους δύο κύριους, μορφολογικά διακριτούς τύπους

κυτταρικού θανάτου, την απόπτωση και τη νέκρωση.

Η απόπτωση αποτελεί την κυριότερη μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Ανωμαλίες κατά τη διαδικασία φυσιολογικής απόπτωσης μπορούν να οδηγήσουν σε ογκογένεση, ενώ συμβάλλουν και σε παθολογικές καταστάσεις, όπως εγκεφαλικά, αυτοάνοσους νόσους και νευροεκφυλιστικά σύνδρομα. Σημαντικό τμήμα της γνώσης σχετικά με τη γενετική ρύθμιση της απόπτωσης προέρχεται από την πρωτοποριακή έρευνα των Sydney Brenner, John Sulston και Robert Horvitz, για την οποία τους απονεμήθηκε το Βραβείο Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής το 2002. Από τα 1090 σωματικά κύτταρα που παράγονται κατά την ανάπτυξη του *C. elegans* μόνο τα 959 παραμένουν στο ενήλικο άτομο (Horvitz et al., 1994). Από τα υπόλοιπα 131 που πεθαίνουν, τα 105 είναι νευρώνες. Η δημιουργία περίσσειας νευρώνων που στη συνέχεια εκφυλίζονται θυμίζει την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος στον άνθρωπο.

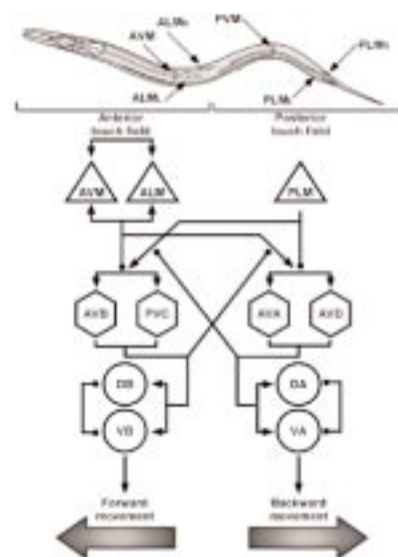
Το “κεντρικό δόγμα” της απόπτωσης βασίζεται στη μελέτη νευρικών κυττάρων του νηματώδους (Hengartner and Horvitz, 1994). Σύμφωνα με αυτό, σε κύτταρα προγραμματισμένα να πεθάνουν επάγεται η πρωτεΐνη thanatin EGL-1, η οποία αλληλεπιδρά με τον αναστολέα CED-9, παρεμποδίζοντας τη δράση του. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης CED-4, που ενεργοποιεί την πρωτεάση CED-3. Η τελευταία είναι απαραίτητη για τη διεξαγωγή του θανάτου. Το μονοπάτι του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου είναι εξελικτικά συντηρημένο από τους νηματώδεις μέχρι τον άνθρωπο και έχουν ταυτοποιηθεί σε σπονδυλωτά μόρια με λειτουργία αντίστοιχη αυτής στο σκουλήκι. Η EGL-1 είναι μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών BH3-only BCL-2 (π.χ. BIM, HRK), η CED-9 είναι μέλος της οικογένειας BCL-2 των αντι-αποπτωτικών παραγόντων (π.χ. BCL-2, BCL-XL), η CED-4 είναι

ομόλογη της Apaf-1 και η CED-3 σχετίζεται με πρωτεάσες κυστεΐνης θηλαστικών, που ονομάζονται “caspases” και συνιστούν το “εκτελεστικό” ένζυμο του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Hengartner, 2000).

Νεκρωτικός κυτταρικός θάνατος επάγεται συνήθως από ακραία ερεθίσματα. Στον άνθρωπο προκαλείται από έληψη οξυγόνου ή απαραίτητων θεραπευτικών συστατικών (π.χ. σε περιπτώσεις ισχαιμίας μετά από εγκεφαλικά), από υψηλές θερμοκρασίες, επίδραση τοξινών και ισχυρών μηχανικών ερεθισμάτων (π.χ. σε τραυματισμούς). Είχε θεωρηθεί γενικά ως μια παθητική διαδικασία, που οδηγεί σε κατάρρευση του κυττάρου. Ωστόσο, από παρατηρήσεις σε οργανισμούς-μοτέλα, όπως η *Drosophila* και ο *C. elegans*, καθώς και σε ανώτερους οργανισμούς, όπως *Xenopus*, αρουραίοι και πρωτεύοντα, διαπιστώθηκε ότι κύτταρα διαφορετικού τύπου και προέλευσης παρουσιάζουν κοινά μορφολογικά και δομικά χαρακτηριστικά κατά τη νέκρωση (όπως εκτεταμένη διόγκωση του κυττάρου, σχηματισμό μεμβρανικών σπειρών κοντά στην πηλασματική μεμβράνη, σχηματισμό κενωτόπιων και ενδοκυττάρωση των σπειρών, συμπύκνωση χρωματίνης και διάσπαση των υποκυτταρικών οργανιδίων), στοιχείο που οφείλεται πιθανά στην ύπαρξη ενός κοινού συντηρημένου μηχανισμού (Syntichaki and Tavernarakis, 2002; Εικόνα 5).

Οι μηχανισμοί νεκρωτικού θανάτου είναι ελάχιστα μελετημένοι σε μοριακό επίπεδο. Τα τελευταία χρόνια πραγματοποιείται μελέτη αυτών σε απλά ζωικά μοντέλα, όπως η *Drosophila* και ο νηματώδης *C. elegans*, στα οποία είναι πιο εύκολη η εφαρμογή μοριακών τεχνικών και η γενετική προσέγγιση (Syntichaki and Tavernarakis, 2003).

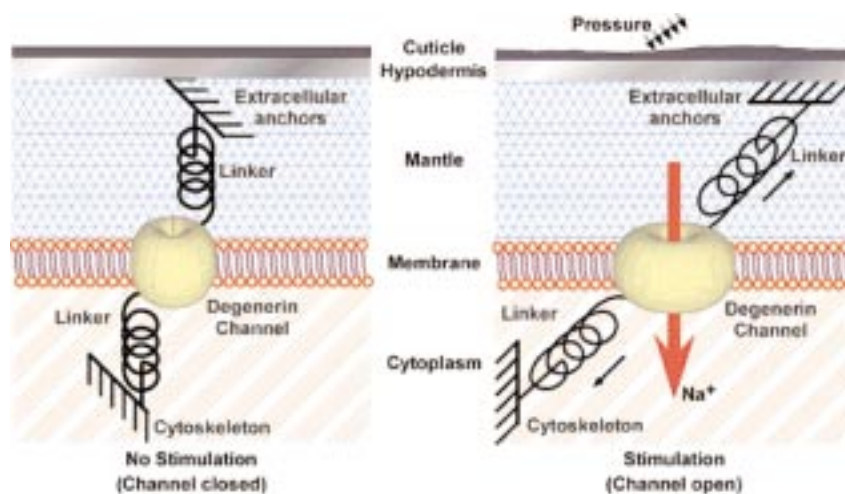
Η δυνατότητα επαγωγής νέκρωσης σε κύτταρα του νηματώδους, με μορφολογικά χαρακτηριστικά παρόμοια του νεκρωτικού θανάτου κυττάρων θηλαστικών, καθιστά τον οργανισμό ιδανικό για



Εικόνα 5. Το κύκλωμα των νευρώνων του ελέγχου της κίνησης για την επίτευξη σε πρόωδη κίνηση (προς τα εμπρός) και οπισώδη κίνηση (προς τα πίσω) νηματώδους. Μία άλλη διαμόρφωση σε διαφορετικές συνθήκες και με άλλους οργανισμούς.

τη διαλεύκανση των βιοχημικών μονοπατιών αυτού του φαινομένου. Έτσι, συνθήκες υποξίας και κυρίως γενετικά αίτια μπορούν να προκαλέσουν νέκρωση σε νευρώνες του νηματώδους. Τα τελευταία αφορούν συνήθως επικρατείς μεταλλάξεις γονιδίων, που κωδικοποιούν για κανάλια ιόντων και τα καθιστούν υπερ-ενεργά (Chalfie and Wolinsky, 1990; Syntichaki et al., 2002; Εικόνα 6).

Μελέτες των μηχανισμών της νέκρωσης στο νηματώδη έχουν φανερώσει καταρχήν τη σημασία της ομοιόστασης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου σε αυτή τη διαδικασία. Σημαντικό επίσης ρόλο στη διαδικασία της νέκρωσης παίζει η διάρρηξη των λιπιδωσωμικών μεμβρανών και η απελευθέρωση στο κυτταρόπληγμα υδρολυτικών ενζύμων (π.χ. cathepsins A, B, L, D), με συνέπεια την πρόκληση βλαβών στο DNA, τις πρωτεΐνες και τελικά το θάνατο του κυττάρου (Syntichaki et al., 2002). Η υψηλή συγκέντρωση ασβεστίου προκαλεί ενεργοποίηση πρωτεασών κυστεΐνης, που ονομάζονται calpains (Εικόνα 7). Αυτές προκαλούν διάρρηξη της μεμβράνης των λιπιδωσωμάτων και απελευθέρωση άηλων υδρολυτικών ενζύ-



Εικόνα 4. Μερικό μοντέλο για την αντίληψη μηχανικών ερεθισμάτων από τους μηχανοευαίσθητους Κεντρικά πόλο έχο ένα μεμβρανικό κανάλι κόντρω το οποίο "ανοίγει" κάτω από μηχανική πίεση εκπολώνοντας το νευρίτιο

μων (π.χ. cathepsins), που καταστρέφουν το κύτταρο (Εικόνα 8).

Η νέκρωση συνιστά ένα σημαντικό πρόβλημα για την ανθρώπινη υγεία. Πάμπολλες παθολογικές καταστάσεις, όπως η τοξίκωση που ακολουθεί την έλλειψη οξυγόνου σε περίπτωση εγκεφαλικού, οι ισχαιμικές ασθένειες της καρδιάς, του ήπατος και του εγκεφάλου και νευροεκφυλιστικά σύνδρομα, όπως η σκλήρυνση κατά πλάκας, οι νόσοι Alzheimer, Huntington, Parkinson και η επιληψία χαρακτηρίζονται από εκτεταμένο νεκρωτικό θάνατο (Syntichaki and Tavernarakis, 2003).

Οι πολλές ομοιότητες ανάμεσα στο νεκρωτικό θάνατο στο νηματώδη και στο νευροεκφυλισμό σε ανώτερους οργανισμούς υποδεικνύουν και κοινούς υπεύθυνους μοριακούς μηχανισμούς (Hall et al., 1997). Τα μόρια τα οποία συμμετέχουν στους κοινούς μηχανισμούς της νέκρωσης πιθανά να αποτελέσουν εξαιρετικούς στόχους για θεραπευτικές παρεμβάσεις, ώστε να επιτευχθεί η επιβίωση των κυττάρων. Συνεπώς, διαθεύκανση της διαδικασίας της νέκρωσης στο *C. elegans* μπορεί να διευκολύνει την ανάπτυξη νέων μεθόδων καταστολής του νεκρωτικού θανάτου που συνοδεύει νευροεκφυλιστικές ασθένειες στον άνθρωπο.

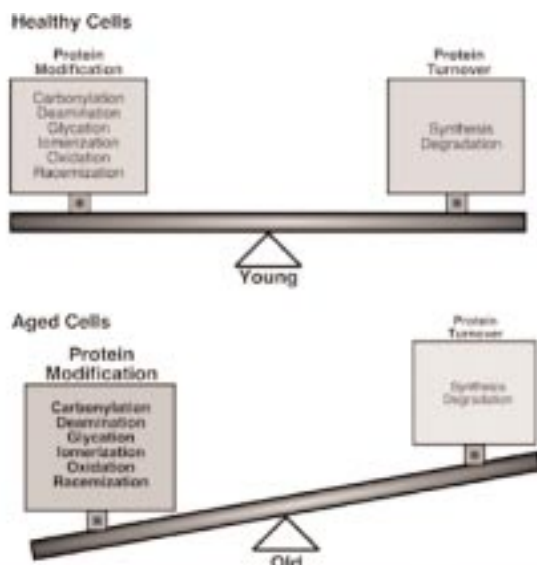
Είναι εύκολο να προσομοιάσουμε στο σκουλήκι τέτοιες σοβαρές παθολογικές καταστάσεις του ανθρώπου με σκοπό να χρησιμοποιήσουμε τα σοβαρά πλεονεκτήματα που προσφέρει ο *C. elegans* για να αναλύσουμε τους υπεύθυνους μοριακούς μηχανισμούς. Δημιουργούμε, όπως ήθεμα, μοντέλα ανθρώπινων ασθενειών χρησιμοποιώντας σκουλήκια (Baumeister and Ge, 2002). Περίπου 42% των γονιδίων του ανθρώπου που εμπλέκονται σε ασθένειες έχουν ορθόλογα στο σκουλήκι (Culetto and Sattelle, 2000). Συνεπώς, μελέτες στο τελευταίο μπορούν να συμβάλουν στην κατανόηση της λειτουργίας των αντίστοιχων ανθρώπινων γονιδίων. Για παράδειγμα, ο *C. elegans* έχει χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο για τη μελέτη του σχηματισμού και της τοξικότητας των αποθεμάτων β-αμυλοειδούς, το οποίο εμπλέκεται στη νόσο του Alzheimer. Η έκφραση του τοξικού πεπτιδίου Αβ1-42 σε μυϊκά κύτταρα του σκουληκιού οδηγεί σε εμφάνιση ινωδών συσσωματωμάτων στο κυτταρόπλασμα και σε προοδευτική παράλυση του ζώου (Link, 2001). Βρέθηκε έτσι ότι συνθήκες που αυξάνουν τη λειτουργία της πρωτεΐνης HSP70 κατέστειλαν την τοξικότητα του πεπτιδίου Αβ1-42.

Ο νηματώδης χρησιμοποιείται επίσης για

τη μελέτη των ασθενειών του Parkinson και του Huntington. Για παράδειγμα, ο νευροεκφυλισμός που παρατηρείται σε ασθενείς με νόσο του Parkinson είναι δυνατόν να προσομοιαστεί στο σκουλήκι, με έκθεση στη νευροτοξίνη 6-OHDA (6-hydroxy-dopamine), η οποία επάγει τον εκφυλισμό των ντοπαμινεργικών του νευρώνων (Nass and Blakely, 2003). Για τη διερεύνηση της παθολογίας ασθενειών που προκαλούνται από πολλαπλές επαναλήψεις του γλυουταμικού οξέος σε μόρια πρωτεϊνών, όπως η νόσος του Huntington, έχουν εκφραστεί τμήματα της Huntingtin με διαφορετικά μήκη επαναλήψεων γλυουταμικού σε νευρώνες του σκουληκιού, ενώ έχουν εκφραστεί και πεπτιδία πολυ-γλυουταμικού σε μυϊκά κύτταρα (Faber et al., 2002). Η προσέγγιση αυτή έχει οδηγήσει στην ταυτοποίηση πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν με την Huntingtin και δρουν προστατευτικά εναντίον της κυτταροτοξικότητας των εκτεταμένων επαναλήψεων γλυουταμικού (Rubinsztein, 2002).

Γήρανση

Σε ευνοϊκό εργαστηριακό περιβάλλον ο νηματώδης *C. elegans* αναπτύσσεται γρήγορα από το έμβρυο σε αναπαραγωγικό ενήλικο άτομο, μέσω τεσσάρων προνυμφικών σταδίων (L1-L4). Η διάρκεια ζωής των ενήλικων σκουληκιών στους 20°C και σε επάρκεια τροφής είναι κατά μέσο όρο 17 ημέρες, με μέγιστη διάρκεια ζωής τις 25 ημέρες. Αντίθετα, σε δυσμενή περιβάλλοντα (υψηλή θερμοκρασία, απουσία τροφής ή υπερπληθυσμό) τα σκουλήκια σταματούν την ανάπτυξη τους πριν από την αναπαραγωγική ωριμότητα, είτε ως προνύμφες L1 (για περίπου μία εβδομάδα) είτε σχηματίζοντας μια εξειδικευμένη μορφή διάπαυσης κατά το στάδιο L2, την προνύμφη dauer. Η μορφή dauer επάγεται στις παραπάνω συνθήκες μέσω μιας ειδικής φερομόνης και χαρακτηρίζεται από αλληλαγές στη μορφολογία και συμπεριφορά οι οποίες επιτρέπουν στο άτομο να επιζήσει για του-



Εικόνα 11 Αετίες αμορφίας: Η αποκαταστατική ανακίνηση των πρωτεϊνών σε νεαρή ηλικία δεν επιτρέπει τη συσσώρευση βλαβών σε αυτές, εξορακίζοντας τη λειτουργικότητά τους. Η αμορφία αναπτύσσεται με το πέρασμα του χρόνου.

τοξίνες κ.λπ.). Έχει προταθεί ότι οι ίδιες μοριακές δραστηριότητες που προστατεύουν το κύτταρο από τις πιέσεις μπορούν να προστατεύσουν το κύτταρο και από τη ζημιά που προκαλείται με τη γήρανση.

Αν και οι υπεύθυνοι μηχανισμοί για τη μακροζωία δεν είναι πλήρως κατανοητοί, είναι γνωστό ότι αναστολή του μονοπατιού σηματοδότησης της ινσουλίνης μπορεί να αυξήσει σημαντικά τη διάρκεια ζωής σε διαφορετικά είδη, όπως στα σκουλήκια, στην *Drosophila*, στη ζύμη και τα τρωκτικά. Σε όλους αυτούς τους οργανισμούς η μείωση του ενδοκρινικού συστήματος ινσουλίνης μπορεί να καθυστερήσει το γήρας χωρίς κάποιο τίμημα στην αναπαραγωγή αλλά με ταυτόχρονη αύξηση της ανθεκτικότητας σε περιβαλλοντικές πιέσεις. Είναι πιθανό ο ίδιος θεμελιώδης μηχανισμός να έχει συντηρηθεί εξελικτικά από τη ζύμη ως τα ποντίκια και να αποτελεί έναν ενιαίο μηχανισμό στη γενετική της μακροζωίας. Ο ίδιος ή διαφορετικός ενιαίος μηχανισμός μακροζωίας είναι και αυτός που απαντά στο θερμιδικό περιορισμό (caloric restriction) των διαφόρων οργανισμών, από τη ζύμη ως τα θηλαστικά (Guarente and Kenyon, 2000). Η πρώτη μεταλλαγή που προσ-

διορίστηκε να οδηγεί σε μακροβιότερα σκουλήκια ήταν στο γονίδιο *age-1*, που κωδικοποιεί για ένα ένζυμο κίνησης λιπιδίων (PI3K). Η κίνηση αυτή είναι μέρος ενός ενδοκρινικού συστήματος σηματοδότησης που ενεργοποιείται από την πρόσδεση μιας ορμόνης (που μοιάζει με την ινσουλίνη) στον υποδοχέα της DAF-2 (insulin/IGF-1-like receptor). Το μεταγωγικό μονοπάτι του αρχικού ερεθίσματος, μέσω της κίνησης PI3K αλλά και άλλων κινασών, οδηγεί στη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα DAF-16 και στον περιορισμό του στο κυτόπλησμα (Hsu et al., 2003). Αντίθετα, όταν το ενδοκρινικό αυτό μονοπάτι δεν μπορεί να ενεργοποιηθεί (λόγω μεταλλαγών σε οποιοδήποτε συστατικό του), ο παράγοντας DAF-16 είναι μη-φωσφορυλιωμένος και μπορεί να μετακινηθεί στον πυρήνα. Εκεί επάγει τη μεταγραφή γονιδίων που αυξάνουν τη διάρκεια ζωής των ενήλικων σκουληκιών κατά δύο ή παραπάνω φορές ή οδηγούν τις προνύμφες L1 στο σχηματισμό dauer (Lee et al., 2001).

Τα γονίδια-στόχοι του μεταγραφικού παράγοντα DAF-16 δεν είναι απολύτως γνωστά. Για τον προσδιορισμό γονιδίων-στόχων του DAF-16 γίνονται εκτεταμένες έρευνες με μικροσυστοιχίες DNA

(DNA microarrays). Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί δύο κατηγορίες γονιδίων-στόχων του DAF-16, η πρώτη περιλαμβάνει 189 γονίδια που ενεργοποιούνται από το DAF-16 και σχετίζονται με μακροζωία, ενώ η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει 122 γονίδια, που καταστέλλονται από το DAF-16 και οδηγούν σε μείωση της διάρκειας ζωής (Lee et al., 2003; Murphy et al., 2003).

Ποιο είναι όμως το αρχικό ερέθισμα που ενεργοποιεί το μονοπάτι της ινσουλίνης; Αυτό μπορεί να είναι είτε περιβαλλοντικό (όπως απουσία τροφής ή υπερπληθυσμός) είτε ενδογενές (από το αναπαραγωγικό σύστημα του σκουληκιού). Έχει προταθεί ότι αυτό το αρχικό ερέθισμα δρα στους αισθητήριους νευρώνες (χμειοϋποδοχείς) του σκουληκιού και προκαλείται η έκκριση της ορμόνης που μοιάζει με την ινσουλίνη, η οποία ρυθμίζει το μεταβολισμό, την αναπαραγωγή και τη διάρκεια ζωής του (Alcedo and Kenyon, 2004). Η ορμόνη αυτή μπορεί είτε να προσλαμβάνεται από άλλα κύτταρα είτε να προκαλεί την παραγωγή άλλων ορμονών (π.χ. στεροειδών) από ειδικά εκκριτικά κύτταρα, οπότε θα μπορούσε να πει κανείς ότι το σκουλήκι έχει το πάγκρεας στη μήτη του. Σε συμφωνία με αυτό, μεταλλάξεις σε γονίδια που μειώνουν την αισθητήρια αντίληψη του σκουληκιού (γύωση και μυρωδιά) ή καταστροφή της γενετικής σειράς που δίνει γένεση στο αναπαραγωγικό του σύστημα έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας ζωής του. Σε γενικές γραμμές, η ορμονική ρύθμιση παρέχει έναν απλό τρόπο στα ζώα, για να συντονιστεί η γήρανση σε διαφορετικούς ιστούς καθώς επίσης και για να μεταβάλλεται η διάρκεια ζωής γρήγορα κατά τη διάρκεια της εξέλιξης. Τέλος, πολλές διαδικασίες στους ανθρώπους που σχετίζονται με την ηλικία, όπως η εφηβεία και η εμμηνόπαυση, ελέγχονται επίσης ορμονικά. Ένας άλλος ενιαίος μηχανισμός μακροζωίας που μπορεί να επεκτείνει τη διάρκεια ζωής σε ένα ευρύ φάσμα οργανι-

σμών (ζύμη, σκουλήκια, μύγες, τρωκτικά και πιθήκους) είναι ο θερμιδικός περιορισμός (caloric restriction). Ο όρος αναφέρεται σε μια διατροφή στην οποία οι θερμίδες περιορίζονται κατά 30-40% σε σχέση με την 'ελευθέρας βούλησης' διατροφή του ατόμου. Ο τρόπος με τον οποίο ο θερμιδικός περιορισμός επεκτείνει τη διάρκεια ζωής είναι ασαφής και ή για είναι γνωστά για τα γονίδια που τον ρυθμίζουν. Ο θερμιδικός περιορισμός στο *C. elegans* επιτυγχάνεται με περιορισμό της ποσότητας των βακτηρίων με τα οποία τρέφεται, ενώ υπάρχουν κάποιες μεταλλάξεις (στα γονίδια eat) που μειώνουν το ρυθμό πρόσληψης της τροφής. Έτσι τα μεταλλαγμένα αυτά άτομα είναι σαν να βρίσκονται συνεχώς κάτω από θερμιδική δίαιτα και γι' αυτό ζουν περισσότερο και είναι πιο ανθεκτικά στις περιβαλλοντικές πιέσεις (Lakowski and Hekimi, 1998). Μια υπόθεση είναι ότι επιφέρει κάποια γενική αλληλαγή στο μεταβολισμό και ταυτόχρονα επιβραδύνει την παραγωγή τοξικών ελεύθερων ριζών οξειδίου (reactive oxygen species, ROS). Αυτές είναι παραπροϊόντα του κανονικού μεταβολισμού (παράγονται κατά τη διαδικασία της αναπνοής) ή παράγονται εξωγενώς από διάφορα περιβαλλοντικά ή ορμονικά ερεθίσματα. Η τοξική τους δράση έγκειται στο ότι μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές μετατροπές στο DNA, στα λιπίδια και στις πρωτεΐνες του κυττάρου. Έτσι τελικά συσσωρεύονται κατεστραμμένα μακρομόρια που συνεισφέρουν στη γήρανση και στο θάνατο του κυττάρου. Στο νηματώδη έχει αναφερθεί ότι ουσίες που μιμούνται τα αντιοξειδωτικά ένζυμα μπορούν να επιμηκύνουν τη ζωή (Sampayo et al., 2003). Μεταλλάξεις επίσης σε συστατικά της αναπνευστικής αλυσίδας που οδηγούν σε μειωμένη κατανάλωση οξειδίου και μικρότερη παραγωγή ελεύθερων ριζών μπορούν να επιμηκύνουν κατά πολύ τη διάρκεια ζωής του σκουληκιού (Feng et al., 2001). Το ίδιο αποτέλεσμα έχουν και οι μεταλλάξεις clk στο *C. elegans*, όπου

γίνεται μειωμένη κατανάλωση του σπινθηρισμού Q της αναπνευστικής αλυσίδας και μικρότερη παραγωγή ελεύθερων ριζών (Hekimi and Guarente, 2003; Hekimi et al., 1998).

Ένας παράγοντας γήρανσης, με τον οποίο ίσως σχετίζεται ο θερμιδικός περιορισμός, είναι η συσσώρευση κατεστραμμένων πρωτεϊνών στο κύτταρο και η αδυναμία αντικατάστασής τους (Tavernarakis and Driscoll, 2002; Εικόνα 11). Έτσι στους αρουραίους έχει δειχθεί ότι με τη γήρα επέρχεται προοδευτική μείωση στους ρυθμούς ανακύκλωσης των πρωτεϊνών (protein turnover), στους μύς και στο συκώτι, και ότι αυτή η πτώ-

ση καθυστερεί με το θερμιδικό περιορισμό των ζώων. Δεν είναι γνωστοί οι μηχανισμοί που ρυθμίζουν την ανακύκλωση των πρωτεϊνών κατά τη γήρανση αλλά είναι αναμενόμενο ότι η διατήρηση του ρυθμών ανανέωσης των πρωτεϊνών σε υψηλά επίπεδα θα ευνοούσε τη μακροζωία. Ο *C. elegans* αποτελεί ιδανικό σύστημα για δοκιμασία της υπόθεσης αυτής αλλά και για περαιτέρω μελέτες στο πεδίο της γήρανσης, που είναι σίγουρο ότι στο μέλλον θα επιφέρουν σημαντικούς καρπούς σχετικά με τη διαλεύκανση και κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που ευθύνονται για τη μακροζωία σε όλους τους οργανισμούς. ■

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Alcedo J., and Kenyon C. (2004). Regulation of *C. elegans* Longevity by Specific Gustatory and Olfactory Neurons. *Neuron* 41, 45-55.
2. Bargmann C.I. (1993). Genetic and cellular analysis of behavior in *C. elegans*. *Annu Rev Neurosci* 16, 47-71.
3. Bargmann C.I. (1998). Neurobiology of the *Caenorhabditis elegans* genome. *Science* 282, 2028-2035.
4. Bargmann C.I. and Kaplan J.M. (1998). Signal transduction in the *Caenorhabditis elegans* nervous system. *Annu Rev Neurosci* 21, 279-308.
5. Bargmann C.I., Thomas J.H. and Horvitz H.R. (1990). Chemosensory cell function in the behavior and development of *Caenorhabditis elegans*. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 55, 529-538.
6. Baumeister R. and Ge L. (2002). The worm in us - *Caenorhabditis elegans* as a model of human disease. *Trends Biotechnol* 20, 147-148.
7. Bernhard N. and van der Kooy D. (2000). A behavioral and genetic dissection of two forms of olfactory plasticity in *Caenorhabditis elegans*: adaptation and habituation. *Learn Mem* 7, 199-212.
8. Chalfie M. and Sulston J. (1981). Developmental genetics of the mechanosensory neurons of *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 82, 358-370.
9. Chalfie M., Sulston J.E. et al. (1985). The neural circuit for touch sensitivity in *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci* 5, 956-964.
10. Chalfie M. and Wolinsky E. (1990). The identification and suppression of inherited neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 345, 410-416.
11. Culetto E. and Sattelle D.B. (2000). A role for *Caenorhabditis elegans* in understanding the function and interactions of human disease genes. *Hum Mol Genet* 9, 869-877.
12. Faber P.W., Voisine C. et al. (2002). Glutamine/proline-rich PQE-1 proteins protect *Caenorhabditis elegans* neurons from huntingtin polyglutamine neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 17131-17136.
13. Feng J., Bussiere F. and Hekimi S. (2001). Mitochondrial electron transport is a key determinant of life span in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Cell* 1, 633-644.
14. Finch C.E. and Ruvkun G. (2001). The genetics of aging. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2, 435-462.
15. French A.S. (1992). Mechanotransduction. *Annu Rev Physiol* 54, 135-152.
16. Garigan D., Hsu A.L. et al. (2002). Genetic analysis of tissue aging in *Caenorhabditis elegans*: a role for heat-shock factor and bacterial proliferation. *Genetics* 161, 1101-1112.
17. Goodman M.B. and Schwarz E.M. (2003). Transducing touch in *Caenorhabditis elegans*. *Annu Rev Physiol* 65, 429-452.
18. Guarente L. and Kenyon C. (2000). Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature* 408, 255-262.
19. Hall D.H., Gu C. et al. (1997). Neuropathology of degenerative cell death in *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci* 17, 1033-1045.
20. Hamill O.P. and Martinac B. (2001). Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol Rev* 81, 685-740.
21. Hekimi S. and Guarente L. (2005). Genetics and the specificity of the aging process. *Science* 299, 1551-1554.
22. Hekimi S., Lakowski B. et al. (1998). Molecular genetics of life span in *C. elegans*: how much does it teach us? *Trends Genet* 14, 14-20.
23. Hengartner M.O. (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407, 770-776.
24. Hengartner M.O. and Horvitz H. R. (1994). Programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Opin Genet Dev* 4, 581-586.
25. Hobert O. (2003). Behavioral plasticity in *C. elegans*: paradigms, circuits, genes. *J Neurobiol* 54, 203-223.
26. Horvitz H.R., Shaham S. et al. (1994). The genetics of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 59, 377-385.
27. Hsu A.L., Murphy C.T. and Kenyon C. (2003). Regulation of aging and age-related disease by DAF-16 and heat-shock factor. *Science* 300, 1142-1145.
28. Kenyon C., Chang J. et al. (1993). A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. In *Nature*, pp. 461-464.
29. Klass M. and Hirsh D. (1976). Non-ageing developmental variant of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 260, 523-525.
30. Lakowski B. and Hekimi S. (1998). The genetics of caloric restriction in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 13091-13096.
31. Lee R.Y., Heng J. and Ruvkun G. (2001). Regulation of *C. elegans* DAF-16 and its human ortholog FOXO1 by the daf-2 insulin-like signaling pathway. *Curr Biol* 11, 1950-1957.
32. Lee S.S., Kennedy S. et al. (2003). DAF-16 target genes that control *C. elegans* life-span and metabolism. *Science* 300, 644-647.
33. Link C.D. (2001). Transgenic invertebrate models of age-associated neurodegenerative diseases. *Mech Ageing Dev* 122, 1639-1649.
34. Mori I. (1999). Genetics of chemotaxis and thermotaxis in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Annu Rev Genet* 33, 399-422.
35. Mori I. and Ohshima Y. (1995). Neural regulation of thermotaxis in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 376, 344-348.
36. Murphy C.T., McCarroll S.A. et al. (2003). Genes that act downstream of DAF-16 to influence the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 424, 277-283.
37. Nass R. and Blakely R.D. (2003). The *Caenorhabditis elegans* dopaminergic system: opportunities for insights into dopamine transport and neurodegeneration. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43, 521-544.
38. Rankin C.H. (2002). From gene to identified neuron to behaviour in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Rev Genet* 3, 622-630.
39. Rankin C.H., Beck C.D. and Chiba C.M. (1990). *Caenorhabditis elegans*: a new model system for the study of learning and memory. *Behav Brain Res* 37, 89-92.
40. Rubinstztein D.C. (2002). Lessons from animal models of Huntington's disease. *Trends Genet* 18, 202-209.
41. Sampayo J.N., Olsen A. and Lithgow G.J. (2003). Oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*: protective effects of superoxide dismutase/catalase mimetics. *Aging Cell* 2, 319-326.
42. Sengupta P., Colbert H.A. et al. (1993). The cellular and genetic basis of olfactory responses in *Caenorhabditis elegans*. *Ciba Found Symp* 179, 235-244; discussion 244-250.
43. Sulston J., Dew M. and Brenner S. (1975). Dopaminergic neurons in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Comp Neurol* 163, 215-226.
44. Syntichaki P. and Tavernarakis N. (2002). Death by necrosis: Uncontrollable catastrophe, or is there order behind the chaos? *EMBO Rep* 3, 604-609.
45. Syntichaki P. and Tavernarakis N. (2003). The biochemistry of neuronal necrosis: rogue biology? *Nat Rev Neurosci* 4, 672-684.
46. Syntichaki P., Xu K. et al. (2002). Specific aspartyl and calpain proteases are required for neurodegeneration in *C. elegans*. *Nature* in press.
47. Tavernarakis N. and Driscoll M. (1997). Molecular modeling of mechanotransduction in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Annu Rev Physiol* 59, 659-689.
48. Tavernarakis N. and Driscoll M. (2002). Caloric restriction and lifespan: a role for protein turnover? *Mech Ageing Dev* 123, 215-229.
49. Tavernarakis N., Shreffler W. et al. (1997). unc-8, a DEG/ENAC family member, encodes a subunit of a candidate mechanically gated channel that modulates *C. elegans* locomotion. *Neuron* 18, 107-119.
50. Van Voornies W.A. (2001). Hormesis and aging. *Hum Exp Toxicol* 20, 315-317; discussion 319-320.