

# Μακροπρόσθεσμος Θερμιδικός Περιορισμός. Η Μαγική Συνταγή για τη Μακροβιότητα;

**Αθανάσιος Βαλαβανίδης**

Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου,  
15784 Αθήνα (valavanidis@chem.uoa.gr)

## Περίληψη

Ο θερμιδικός περιορισμός (calorie restriction) θεωρείται ότι είναι μία από τις προληπτικές τακτικές που θα μπορούσαν δυνητικά να βελτιώσουν την ποιότητα ζωής του ανθρώπου και να επεκτείνουν το προσδόκιμο επιβίωσης χωρίς την εμφάνιση πρώιμων νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Το σύντομο αυτό άρθρο αναλύει τις βασικές γνώσεις επί του θέματος, τα πειραματικά δεδομένα που υπάρχουν σε απλούς οργανισμούς και τα κλινικά πειράματα που γίνονται πρόσφατα σε ανθρώπους.

## Abstract

Calorie restriction has been on the scientific agenda for many years as a preventative way for premature neurodegenerative diseases, increase longevity in humans and good quality of life in old age. In this short paper we present the basic ideas on the subject, the experiments on simple organisms and the latest clinical measurements in humans.

## 1. Διατροφή και Μείωση της Ενεργειακής Πρόσληψης

Η μείωση της ενεργειακής πρόσληψης μέσω της διατροφής σε καθημερινή βάση είναι γνωστό ότι μειώνει τον κίνδυνο για την εμφάνιση νευροεκφυλιστικών ασθενειών και αυξάνει το χρόνο ζωής των πειραματοζώων. Τα ερωτήματα που θέτουν τελευταία οι επιστήμονες είναι κατά πόσο ο θερμιδικός περιορισμός θα έχει παρόμοια αποτελέσματα στον άνθρωπο ή μήπως το γονιδιακό υπόστρωμα του κάθε ατόμου παίζει σημαντικό ρόλο στη μακροβιότητά του;

Τα τελευταία χρόνια έχουμε γίνει μάρτυρες των εκπληκτικών επιτευγμάτων της βιοτεχνολογίας και των «μαγικών» ιατρικών και φαρμακολογικών εφαρμογών για την αντιμετώπιση των χρόνιων ασθενειών και της γήρανσης. Συγχρόνως, ορισμένα επιστημονικά επιτεύγματα μεταφράζονται στα Μέσα Μαζικής Ενημέρωσης (ΜΜΕ) με υπερβολικό τρόπο και έχουν τίτλους για διπλασιασμό της διάρκειας ζωής ή την ανακάλυψη του «θαυμαστού» γονιδίου για την «αιώνια» νεότητα. Αντίθετα, η μελέτη της βιολογίας της γήρανσης και της επιστημονικής τεκμηρίωσης των βιοχημικών μηχανισμών που την επιβραδύνουν, έχουν παρανοηθεί σε μεγάλο βαθμό ή αγνοούνται από το ευρύτερο κοινό.

Οι έρευνες έδειξαν ότι η γήρανση των έμβιων όντων και κατά συνέπεια του ανθρώπου είναι μία φυσιολογική διεργασία που περιλαμβάνει πολλούς

παράγοντες και είναι κυρίως αποτέλεσμα της συσσώρευσης, με την πάροδο του χρόνου, βλαβών (οξειδωτικές και άλλες) σε βασικά βιομόρια (πρωτεΐνες, λιπίδια μεμβρανών των κυττάρων και του DNA) που οδηγούν στην εμφάνιση εκφυλιστικών φαινομένων, χρόνιων ασθενειών και τελικά τον θάνατο. Η βασική θεωρία, που φαίνεται να επιβεβαιώνει τις διάφορες πλευρές του πολυπαραγοντικού φαινομένου της γήρανσης, είναι η θεωρία του οξειδωτικού stress, που την αποκαλούμε με το γενικό όρο, «θεωρία των ελευθέρων ριζών» και εν μέρει έρχεται να επιβεβαιωθεί με ένα ακόμη πρόσφατο πείραμα του θερμιδικού περιορισμού στον άνθρωπο (calorie restriction).

## **2. Θερμιδικός Περιορισμός και Αύξηση του Μέσου Όρου Ζωής στα Πειραματόζωα**

Πειράματα με πειραματόζωα που διατρέφονταν με τρόφιμα πλούσια σε θερμίδες έδειξαν ότι ο οργανισμός τους είχε αυξημένο μεταβολισμό, προκαλούσε ανύψωση της εσωτερικής θερμοκρασίας του σώματος, ενισχυμένη έκκριση ινσουλίνης και επιτάχυνση της εμφάνισης του οξειδωτικού stress. Με βάση την εμπειρία αυτή, την τελευταία δεκαετία έχουν διεξαχθεί πολλά πειράματα με πειραματόζωα (κυρίως μύες, επίμους, πίθηκους, κ.λπ) των οποίων η καθημερινή διατροφή ήταν περιοσμένη σε θερμίδες κατά 30%. Τα αποτελέσματα έδειξαν πρόληψη της εμφάνισης εκφυλιστικών φαινομένων, αναστολή των χρόνιων ασθενειών που συνδέονται με τη γήρανση και παράταση της μακροβιότητας.

Αν και οι βιοχημικοί μηχανισμοί μέσω των οποίων επιτυγχάνονται οι μεταβολές αυτές δεν είναι γνωστοί σε όλη τους την έκταση, οι επιστήμονες πιστεύουν ότι οι εμφανιζόμενοι βιοδείκτες συγκλίνουν στο βασικό συμπέρασμα: η μείωση της ενεργειακής πρόσληψης μειώνει τις μεταβολικές διεργασίες παραγωγής οξειδωτικών οξυγονούχων και αζωτούχων ελευθέρων ριζών και επιτυγχάνεται μείωση του οξειδωτικού stress.

Στα πειράματα αυτά βρέθηκε ότι ο θερμιδικός περιορισμός συνδέονταν άμεσα με το δείκτη ευαισθησίας στην ινσουλίνη (insulin sensitivity), τις αλλαγές στη λειτουργία του νευροενδοκρινικού και συμπαθητικού συστήματος, τη μείωση των οξειδωτικών βλαβών στα μιτοχόνδρια (σημαντικά οργανίδια του κυττάρου για την παραγωγή ενέργειας), μείωση των φλεγμονών και του οξειδωτικού stress.

Μελέτες με ποντίκια που υπόκεινταν σε θερμιδικό περιορισμό έδειξαν μείωση των βλαβών στο DNA των κυττάρων κατά 30% (ανιχνεύεται με το δείκτη σχηματισμού του παραγώγου 8-οξο-7,8-διϋδροξυγουανοσίνη) στον εγκέφαλο, τους μύες του σκελετού και της καρδιάς. Παρόμοιες μειώσεις οξειδωτικών βλαβών σε πρωτεΐνες (ένζυμα) της καρδιάς και του εγκεφάλου παρατηρήθηκαν σε ποντίκια που τρέφονταν επί ένα χρόνο με περιορισμένη διατροφή. Μελέτες με πιθήκους Ρέζους (Rhesus monkeys) που υπέστησαν θερμιδικό περιορισμό βρήκαν διαφοροποιήσεις στην έκφραση γονιδίων που συνδέονται με το οξειδωτικό stress.

Μετά την επιτυχία των πειραμάτων αυτών οι επιστήμονες επέκτειναν την έρευνά τους σε εθελοντές ανθρώπους και προτάθηκαν οι σημαντικότεροι βιοδείκτες (εσωτερική θερμοκρασία σώματος, επίπεδα θειικής δεϋδροεπιανδροστερίνης και ινσουλίνης). Πειράματα με άνδρες μεγάλης ηλικίας αποδείχθηκε ότι οι βιοδείκτες μπορούσαν να συνδυασθούν με τη μακροβιότητα. Μελέτη διάρκειας 6 χρόνων με εθελοντές που συμμετείχαν σε

θερμιδικό περιορισμό και απώλεια βάρους έδειξε ότι παρουσιάσθηκαν χαμηλοί δείκτες γλυκόζης στο αίμα και ινσουλίνης και βιοδείκτες αθηροσκλήρυνσης σε σχέση με την ομάδα αναφοράς.

## 2. Πειράματα Θερμιδικού Περιορισμού στον Άνθρωπο

Τα πειραματόζωα έχουν μικρή διάρκεια ζωής και οι έρευνες θερμιδικού περιορισμού έχουν άμεσα αποτελέσματα, ενώ στον άνθρωπο τα μακροχρόνια πειραματικά προγράμματα ήταν δύσκολο να εφαρμοσθούν και σε μεγάλη κλίμακα. Πρόσφατα όμως μία ομάδα ερευνητών στο Baton Rouge (Pennigton Biomedical Research Centre, Louisiana, ΗΠΑ) ξεκίνησε (2002-2004) το πιο φιλόδοξο πείραμα με 48 άτομα (άνδρες και γυναίκες). Το πρώτο μέρος του πειράματος έχει ήδη δώσει θετικά αποτελέσματα και έχει δημοσιευθεί (2006) στο περιοδικό της Αμερικανικής Ιατρικής Εταιρίας.

Στην έρευνα αυτή, που ήταν τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη (ερευνητές και εθελοντές δεν γνωρίζουν την ακριβή κατανομή τους σε ομάδες) με την ονομασία CALERIE (Comprehensive Assessment of the Long Term Effect of Reducing Intake of Energy), συμμετέχουν 48 άτομα χωρισμένοι σε 4 ομάδες. Οι εθελοντές ήταν υπέρβαροι (δείκτης μάζας σώματος, body mass index, 25-30). Ο BMI προκύπτει όταν διαιρεθεί το βάρος σε κιλά με το τετράγωνο ( $X^2$ ) του ύψους σε μέτρα.

Η πρώτη ομάδα ελάμβανε διατροφή για σταθεροποίηση του σωματικού βάρους (ομάδα αναφοράς), η δεύτερη υπόκεινταν σε θερμιδικό περιορισμό (κατά 25% σε σχέση με τις βασικές ενεργειακές ανάγκες), η τρίτη ομάδα υποκειται σε θερμιδικό περιορισμό και άσκηση (12,5% θ.π. και 12,5% κατανάλωση επιπλέον ενέργεια με άσκηση), η τέταρτη ομάδα είχε πολύ χαμηλή κατανάλωση θερμιδών (890 Kcal/ημέρα) μέχρι να επιτευχθεί απώλεια βάρους κατά 15% και μετά διατήρηση βάρους με μειωμένη διατροφή. Οι εθελοντές συμμετείχαν σε 6μηνη δοκιμασία (χρηματοδοτήθηκαν ώστε να εκτελούν σωστά τις εντολές) και εξετάζονταν 2 φορές την εβδομάδα με πολυάριθμες φυσιολογικές και βιοχημικές μετρήσεις (ανάλυση ούρων αίματος, κ.λπ), ενώ ορισμένες ημέρες παρέμεναν στο νοσοκομείο του ερευνητικού κέντρου για συστηματικότερη παρακολούθηση.

Οι δύο παράγοντες που εξισορροπήθηκαν ήταν το φύλο και οι κατηγορίες βάρους των εθελοντών. Τα δύο γεύματα της ημέρας τα προμηθεύονταν από το ερευνητικό κέντρο καθώς και πακέτα φαγητού που αποστέλλονταν στο σπίτι τους. Τα γεύματα ήταν ρυθμισμένα από ιατρικό πρωτόκολλο και οι ασκήσεις (τρέξιμο, περπάτημα, άσκηση με ποδήλατο) διεξάγονταν υπό την καθοδήγηση των ερευνητών. Κατά τη διάρκεια των ασκήσεων διεξάγονταν μετρήσεις κατανάλωσης ενέργειας και οξυγόνου και 3 φορές την εβδομάδα γίνονταν παρακολούθηση της λειτουργίας της καρδιάς.

Οι βιοχημικές αναλύσεις περιλάμβαναν: μετρήσεις ινσουλίνης στο αίμα, επίπεδα θυροξίνης ( $T_4$ ) και τριϊδοθυροξίνης ( $T_3$ ), μετρήσεις γλυκόζης, επιπέδων καρβονυλίων σε πρωτεϊνικό υπόστρωμα, θειϊκής διϋδροεπιανδροστερόνης (DHEAS) και επίπεδα ορμονών στον θυρεοειδή. Επίσης, έγιναν μετρήσεις μεταβολισμού, όπως οξειδωτικές βλάβες στο DNA (Comet Assay), θερμοκρασία εσωτερικού του σώματος, ενεργειακή κατάλωση σε περίοδο ηρεμίας, απώλεια βάρους, κ.λπ.

Τα αποτελέσματα της έρευνας (αυτό είναι το πρώτο μέρος) ήταν ιδιαίτερα αξιολογικά και ενθαρρυντικά και σε μεγάλο βαθμό συμφωνούν με αυτά που

προέκυψαν από πειράματα σε πειραματόζωα με μικρή διάρκεια ζωής (μύες). Ιδιαίτερα ενθαρρυντικό είναι το γεγονός ότι η παραγωγή οξειδωτικών βλαβών από οξυγονούχες ρίζες μειώθηκαν (μετρήσεις οξειδωτικών βλαβών στο DNA). Ο μεταβολισμός του οργανισμού έδειξε ομαλή προσαρμογή στη μειωμένη διατροφή και οι βιοδείκτες παρέμειναν σε ικανοποιητικά επίπεδα ή μειώθηκαν (ιδιαίτερα ο  $T_3$ ). Αλλά όλα τα αποτελέσματα δεν ήταν θετικά, σε σχέση με την ομάδα αναφοράς, και η πιθανή εξήγηση είναι ο μικρός χρόνος θερμιδικού περιορισμού. Τα καλύτερα αποτελέσματα τα είχε η ομάδα μειωμένης διατροφής και ταυτόχρονης άσκησης.

Οι επιστήμονες μετά την πρώτη επιτυχή φάση της έρευνας θα συνεχίσουν τη μελέτη με 200 άτομα και με διάρκεια 2 χρόνων. Πιστεύεται ότι η δεύτερη φάση του πειράματος θα έχει περισσότερα δεδομένα για να βγουν σωστά συμπεράσματα, αν και τα πρώτα αποτελέσματα είναι εξαιρετικά ελπιδοφόρα.

Αν και πιστεύεται ότι η μακροβιότητα του ανθρώπου δεν πρόκειται να μεταβληθεί σημαντικά (σε αντίθεση με διάφορες υπεραισιόδοξες προβλέψεις), το ζητούμενο είναι οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες των μεγάλων ηλικιών και οι αναπηρίες (όπως η υψηλή πίεση, η αθηροσκλήρυνση, ο διαβήτης, η εμφάνιση κακοήθων όγκων, κ.λπ) θα μπορούσαν να μειωθούν ώστε η ποιότητα ζωής των ηλικιωμένων να είναι καλύτερη. Σημαντικά επιστημονικά περιοδικά έχουν αναφερθεί πρόσφατα στα αποτελέσματα της έρευνας CALERIE και τα θετικά συμπεράσματα για το ρόλο του θερμιδικού περιορισμού.

Μετά την έρευνα αυτή υπήρξαν μερικές ακόμα επιστημονικές έρευνες που εντόπισαν τον θετικό ρόλο του θερμιδικού περιορισμού στα πειραματόζωα στην αύξηση της μακροβιότητας και ιδιαίτερα στην αύξηση της βιογένεσης και της βιοενεργητικής ικανότητας των μιτοχονδρίων (δες βιβλιογραφία).

#### **4. Θερμιδικός Περιορισμός και Γονίδια Μακροβιότητας, Υπάρχει Συσχέτιση;**

Μία άλλη ενδιαφέρουσα πλευρά του θερμιδικού περιορισμού είναι η πρόσφατη ανακάλυψη ότι πιθανόν η ευεργετική βιολογική του δράση ενεργοποιείται μέσω του γονιδίου SIR2, όπως έδειξαν πειράματα στη ζύμη (yeast, *Saccharomyces cerevisiae*), στην ξυδόμυγα Δροσόφιλα (*Drosophila melanogaster*) και στο νηματώδες σκουλίκι (*Caenorhabditis elegans*).

Η ιστορία ξεκινάει πριν 10 χρόνια με την ανακάλυψη της πρωτεΐνης Sir2 στη ζύμη (ιστόνη δεακετυλάση, μία ιστόνη που εξαρτάται από το δινουκλεοτίδιο της νικοτιναμιδικής αδενίνης (NAD<sup>+</sup>, nicotinamide adenine dinucleotide). Διερεύνηση των γονιδιακών τόπων στη ζύμη βρήκε το αντίστοιχο γονιδιακό σύμπλοκο SIR που παίζει σημαντικό ρόλο στην αναδιπλασιαστική ικανότητα των κυττάρων της ζύμης, δηλαδή είναι ρυθμιστής της κυτταρικής γήρανσης (Kennedy BK, et al. Cell 1995, 80:485-496). Έχει προσδιορισθεί ότι η ενεργότητα της αντίστοιχης πρωτεΐνης Sir2 συσχετίζεται με την μακροβιότητα των κυττάρων της ζύμης, ενώ σε στέλεχος ζύμης στο οποίο έχει γίνει απάλειψη του γονιδίου Sir2, με αποτέλεσμα να μην εμφανίζεται και η πρωτεΐνη Sir2, η διάρκεια ζωής του ήταν περιορισμένη. Η Sir2 στη ζύμη έχει προταθεί ως μεσολαβιτής των ευεργετικών δράσεων του θερμιδικού περιορισμού. Αλλά πειράματα όμως έδειξαν ότι η απουσία της Sir2 δεν επηρεάζει την μακροβιότητα των κυττάρων της ζύμης, αλλά τη δράση της αντικαθιστά η πρωτεΐνη Hst2, μία ομόλογη πρωτεΐνη της Sir2, που και αυτή προωθεί τη σταθερότητα του επαναλαμβανόμενου ριβοσωμικού DNA (rDNA).

Στην ουσία οι δύο ομόλογες πρωτεΐνες προωθούν το ίδιο βιοχημικό μηχανισμό και επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής.

Τα αποτελέσματα πειραμάτων με κυτταρικές καλλιέργειες ζύμης δείχνουν ότι η σταθερότητα του DNA είναι κρίσιμη για τη αναδιπλασιαστική ικανότητα και τη μακροβιότητα των κυττάρων. Ο θερμιδικός περιορισμός είναι σίγουρο ότι μειώνει τη μεταβολική διεργασία, παράγονται λιγότερες ελεύθερες ρίζες και δραστικές οξυγονούχες ενώσεις και δημιουργούνται λιγότερες οξειδωτικές βλάβες στα νουκλεοτίδια. Ιδιαίτερα στη ζύμη, είναι γνωστό από πειράματα ότι η γήρανση προκαλείται από ομόλογους ανασυνδυασμούς (homologous recombinations) του rDNA και σχηματισμού εξτρα-χρωμοσωμικών κύκλων rDNA (ανώμαλο DNA), που πολλαπλασιάζονται γεωμετρικά και αναπόφευκτα οδηγούν στο θάνατο του μητρικού κυττάρου ζύμης. Ο σχηματισμός των ανώμαλων τμημάτων του rDNA καταστέλλεται με την δράση της Sir2. Επίσης έχει βρεθεί ότι εάν υπάρχουν επιπλέον αντίγραφα του γονιδίου SIR2 τότε παράγεται πεισσότερη πρωτεΐνη Sir2 και η διάρκεια ζωής αυξάνεται περισσότερο στα κύτταρα της ζύμης.

Τα αποτελέσματα αυτά ήταν φυσικό να παρουσιασθούν με πανηγυρικό τρόπο σε διάφορα συνέδρια και εκλαϊκευμένα επιστημονικά περιοδικά γιατί εξηγούν με σαφή τρόπο τους βιοχημικούς μηχανισμούς που προκαλούν τη γήρανση έμβιων όντων, αλλά και την μακροβιότητα σε περίπτωση που ορισμένα γονίδια ενεργοποιούν κατασταλτικούς παράγοντες βλαβών στο DNA. Η μεγάλη σημασία της ομάδας αυτής των γονιδίων (που καλούνται οικογένεια γονιδίων sirtuin) είναι ότι μεσολαβούν με το θερμιδικό περιορισμό και περιορίζουν τις βλάβες σε βασικά βιομόρια. Αν και τα θετικά μέχρι σήμερα αποτελέσματα έχουν επιτευχθεί σε απλούς οργανισμούς, οι επιστήμονες πιστεύουν ότι τα ίδια γονίδια αυτά ή άλλα που εξελίχθηκαν σε ανώτερους οργανισμούς για να προστατεύσουν το DNA και άλλα βασικά βιομόρια (πρωτεΐνες, λιπίδια μεμβρανών, υδατανθρακικές αλυσίδες) από οξειδωτικές βλάβες, μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στην κατανόηση της μακροβιότητας του ανθρώπου.

## Βιβλιογραφία

**Heilbrow LK**, et al. Effects of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals. A randomized controlled trial. *JAMA* 2006, 295:1539-1548.

**Holliday R**. Aging is no longer an unsolved problem in biology. *Ann NY Acad Sci* 2006, 1067:1-9.

**Lopen-Lluch G**, et al. Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergetic efficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 2006, 103:1768-1773.

**Spinney L**. Eat your cake and have it. Reducing your calorie intake makes you live longer. *Nature* 2006, 441:807-809.

**Singlair DA** and Guarente L. Unlocking the secrets of longevity genes. *Scientific American* 2006, 294:30-37.

**Lamming DW** et al. HST2 mediators SIR2-independent life-span extension by calorie restriction. *Science* 2005, 309:1861-1862.