

Title of study: Effect of Young Rat Plasma on Lifespan of Aging Rats

- **Summary**

A study on older rats to test longevity after plasma transfusion of young rats (9 tested old rats + 8 control old rats). Testing begins in November 2020. This experiment is under the direction of Professor Rodolfo Goya at Institute of Biochemical Research in Argentina, in collaboration with Heales.

- **Introductory remarks**

Several decades ago, studies on heterochronic parabiosis suggested that young blood can rejuvenate aging mice and vice versa, old blood ages young mice.

It is interesting to note that a recent preliminary study reports that repeated intravenous administration (an effective alternative to parabiosis) of a plasma fraction (called Elixir) from young rats to aged counterparts for 5 months, postpones the epigenetic age of the liver, blood and heart tissue of the old treated rats (25 months) to an age close to that of the adult rats (7 months).

Based on the above information, we decided to evaluate the possible effect of young rat plasma on the lifespan of older (25 months) rats. Specifically, we propose to compare the survival of old rats treated intravenously with young plasma with that of correspondingly aged (untreated) controls. We also propose to collect blood samples from all animals, every other week, in order to follow the evolution of epigenetic age over time. As a functional assessment, we plan to evaluate the performance of spatial memory before the start of treatment and 3 months after. Cognitive tests will include an evaluation of motor performance.

- **Protocol outline**

Seventeen female Sprague Dawley rats raised in our rat colony at INIBIOLP will be allotted to two groups

- 1) Control group (C), 8 rats, will receive no treatment.
- 2) Experimental group (E), 9 rats, will receive an intraperitoneal (i.p.) injection of plasma (0.7- 1 ml) from young rats (2 months of age) every other week. The treatment will be life-long (until the natural death of the animals).

- **Measurements to be performed on all animals.**

Blood samples will be taken from the tail veins every other week in order to determine epigenetic age during the treatment.



Before the beginning of the treatment spatial memory performance and motor performance will be assessed in all rats. Spatial memory will be assessed by means of the Barnes maze test, non-invasive procedure well-established in our laboratory. Motor performance will be assessed by means of standard tests also well established in our laboratory

Three months into the treatment a second and final cycle of cognitive and motor tests will be performed on all animals.

Survival curves will be plotted for comparison purposes.

- **Blood sample processing.**

Blood samples will be stored at -80 °C until the end of the experiment. Then, DNA will be extracted with a Qiagen DNA extraction kit and concentration determined by means of a commercial kit.

The sample DNA solutions will be shipped in dry ice to Dr. Steve Horvath for him to perform on each DNA sample, a genome- wide DNA methylation profiling with the Illumina Infinium platform.

The resulting data will be used by Dr. Horvath to determine blood epigenetic age in our rats using the rat algorithm recently set up in collaboration with our laboratory

- **Expected results**

We expect that the proposed study will help clarify whether young plasma can extend the lifespan and healthspan of rats when the treatment starts at an advanced age.

We are particularly interested in determining whether young plasma treatment prevents or at least attenuates the well-established age-related decline in spatial memory performance that occurs both in rats and humans.

Titre de l'étude : Effet du plasma de jeunes rats sur la durée de vie de rats vieillissants

- **Résumé**

Une étude sur des rats âgés pour tester la longévité après transfusion de plasma de jeunes rats (9 rats âgés testés + 8 rats âgés témoins). Les tests commencent en novembre 2020. Cette expérience est sous la direction du professeur Rodolfo Goya à l'Institut de recherche biochimique en Argentine, en collaboration avec Heales.

- **Remarques introductives**

Il y a plusieurs décennies, des études sur la parabiose hétérochronique ont suggéré que le sang jeune peut rajeunir les souris vieillissantes et vice versa, le sang vieux vieillit les jeunes souris.

Il est intéressant de noter qu'une étude préliminaire récente rapporte que l'administration intraveineuse répétée (une alternative efficace à la parabiose) d'une fraction plasmatique (appelée Élixir) de jeunes rats à des homologues âgés pendant 5 mois, repousse l'âge épigénétique du foie, du sang et du tissu cardiaque des vieux rats traités (25 mois) à un âge proche de celui des rats adultes (7 mois).

Sur la base des informations ci-dessus, nous avons décidé d'évaluer l'effet possible du plasma des jeunes rats sur la durée de vie des rats plus âgés (25 mois). Plus précisément, nous proposons de comparer la survie des vieux rats traités par voie intraveineuse avec du plasma jeune avec celle des témoins d'âge correspondant (non traités). Nous proposons également de prélever des échantillons de sang de tous les animaux, une semaine sur deux, afin de suivre l'évolution de l'âge épigénétique dans le temps. Comme évaluation fonctionnelle, nous prévoyons d'évaluer les performances de la mémoire spatiale avant le début du traitement et 3 mois après. Les tests cognitifs incluront une évaluation des performances motrices.

- **Aperçu du protocole**

Dix-sept rats femelles Sprague Dawley élevés dans notre colonie de rats à, l'Institut de recherche en biochimie de la Plata, seront répartis en deux groupes

1) Le groupe témoin (C), 8 rats, ne recevra aucun traitement.

2) Le groupe expérimental (E), 9 rats, recevra une injection intrapéritonéale (i.p.) de plasma (0,7- 1 ml) de jeunes rats (2 mois) toutes les deux semaines. Le traitement durera toute la vie (jusqu'à la mort naturelle des animaux).

- **Les mesures seront effectuées sur tous les animaux.**

Des échantillons de sang seront prélevés dans les veines de la queue toutes les deux semaines afin de déterminer l'âge épigénétique pendant le traitement.

Avant le début du traitement, les performances de mémoire spatiale et les performances motrices seront évaluées chez tous les rats. La mémoire spatiale sera évaluée au moyen du test du labyrinthe de Barnes, une procédure non invasive bien établie dans notre laboratoire. La performance motrice sera évaluée au moyen de tests standard également bien établis dans notre laboratoire

Trois mois après le début du traitement, un deuxième et dernier cycle de tests cognitifs et moteurs sera effectué sur tous les animaux.

Des courbes de survie seront tracées à des fins de comparaison.

- **Traitement des échantillons sanguins.**

Les échantillons de sang seront conservés à -80 °C jusqu'à la fin de l'expérience. Ensuite, l'ADN sera extrait à l'aide d'un kit d'extraction d'ADN de Qiagen et la concentration sera déterminée au moyen d'un kit commercial.

Les solutions d'échantillons d'ADN seront expédiées dans de la glace sèche au Dr Steve Horvath pour qu'il effectue, sur chaque échantillon d'ADN, un profilage de méthylation de l'ADN à l'échelle du génome avec la plateforme Illumina Infinium.

Les données obtenues seront utilisées par le Dr Horvath pour déterminer l'âge épigénétique du sang de nos rats à l'aide de l'algorithme du rat récemment mis au point en collaboration avec notre laboratoire

- **Résultats escomptés**

Nous espérons que l'étude proposée permettra de clarifier si le jeune plasma peut prolonger la durée de vie et la santé des rats lorsque le traitement commence à un âge avancé.

Nous sommes particulièrement intéressés de déterminer si le traitement du jeune plasma prévient ou au moins atténue le déclin lié à l'âge des performances de la mémoire spatiale qui se produit à la fois chez les rats et les humains.