

Изучение возможностей клеточной терапии для продления женской половой функции в модельных экспериментах на мышах

Богданенко Е.В.¹, Карнаухов А.В.², Карнаухова Е.В.²,
Сергиевич Л.А.², Карнаухова Н.А.², Манохина И.А.², Карнаухов В.Н.²

¹ — ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

² — Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3;

Наступление менопаузы у женщины сопровождается резким ухудшением ее здоровья и работоспособности. Трансплантация костного мозга (КМ) могла бы быть способом отсрочки старческих изменений в организме женщины, сопровождающихся серьезными патологиями. Для тестирования этого метода были проведены модельные эксперименты, где в качестве реципиентов использовались самки мышей 6–8-мес. возраста инбредной линии C57BL/6J, а самки мышей C57BL/6 — Tg(ACVB-EGFP)1Osb/J 1,5–2-мес. возраста — в качестве доноров. Инъекции КМ проводили 1 раз в 3 мес. В период после трансплантации у самок-реципиентов определяли количество появившихся пометов, выживших мышат и среднюю продолжительность их жизни (СПЖ). Также проверяли, не было ли случая рождения ими мышат с геном зеленого флуоресцентного белка EGFP (т.е. превращения стволовых клеток КМ в клетки зародышевого пути). Обнаружено, что экспериментальные животные дольше жили и производили больше пометов, в которых выжило больше потомства, по сравнению с контрольными. Мышат с геном EGFP среди потомства этих самок обнаружено не было. В работе делается вывод, что существует прямая связь между увеличением показателей фертильности и СПЖ. Превращения стволовых клеток КМ в клетки зародышевого пути не было обнаружено. На основе полученных данных в качестве метода сохранения и поддержания половой функции у женщин предложена трансплантация собственного КМ, взятого в молодом возрасте и сохраняемого в криобанке.

Ключевые слова: клеточная терапия, трансплантация костного мозга, старение, клетки зародышевого пути, информационная гипотеза старения, продолжительность жизни, GFP⁺ мыши, кривая фертильности, выжившее потомство, ауто трансплантация

Введение

Одним из переломных моментов в жизни любой женщины является наступление менопаузы. В среднем в европейских странах оно происходит в возрасте 45–50 лет и сопровождается быстрым прогрессированием ранее приобретенных хронических заболеваний и появлением новых, среди которых такие опасные, как гипертония, ишемическая болезнь сердца, когнитивные дисфункции и остеопороз [4]. Как известно, у молодых женщин эти вышеперечисленные заболевания почти или совсем не встречаются благодаря защитному действию эстрогена, и резкое снижение его уровня в крови приводит к быстрому старению и болезням. Недавние исследования на мышах подтвердили прямую причинно-следственную связь между отказом яичников и ухудшением здоровья [11]. Множество женщин в Европе вообще и в РФ в частности работают, и от времени наступления менопаузы до времени выхода на пенсию проходит период не менее 10 лет. К 45 годам женщины имеют большой опыт работы и часто являются ценными сотрудниками, что важно в странах со стареющим населением, однако из-за проблем со здоровьем они не имеют физической возможности работать и дальше с полной отдачей. Поэтому продление периода фертильности и, следовательно, отсрочка появления старческих болезней является важной социальной и медицинской проблемой, в том числе и в России.

В настоящее время ряд неприятных симптомов менопаузы смягчают с помощью гормонозаместительной терапии. Однако она часто имеет противопоказания и может вызывать развитие гормонозависимых видов рака, таких как кар-

цинома молочной железы или рак яичника. Поэтому представляется актуальным поиск методов сохранения и поддержания половой функции у женщин, вступающих в менопаузу, не имеющих отрицательных побочных эффектов.

С этой целью нами на мышах инбредной линии C57Bl/6J был проведен эксперимент по продлению у них периода фертильности посредством подсадки «пожилым» самкам клеток костного мозга (КМ) от молодых самок C57BL/6 — Tg(ACVB-EGFP)1Osb/J, разводимых на основе этой же линии и несущих ген зеленого флуоресцентного белка. Кроме того, найти связь между длительностью периода фертильности и общей продолжительностью жизни у подопытных и контрольных животных.

Материалы и методы

В эксперименте использовались интактные самки мышей инбредной линии C57Bl/6J (черные, условно — «дикого типа») в возрасте 6–8 мес. в качестве реципиентов костного мозга. Интактные самки C57BL/6 — Tg(ACVB-EGFP)1Osb/J, разводимые на основе этой же линии и несущие ген зеленого флуоресцентного белка (EGFP), были донорами КМ. Мыши с трансгеном EGFP были получены при содействии А.М. Малащенко из Научного Центра биомедицинских технологий РАМН, куда они поступили из Jackson Laboratory, Bar Harbor, США с любезного разрешения А.В. Червонского.

Эксперименты по сингенной трансплантации были спланированы так, чтобы снизить возможность развития иммунной реакции на клетки донора с учетом того, что даже при

сингенной трансплантации, предполагающей полное соответствие по генам главного комплекса гистосовместимости (ГКС), возможны вариации аллелей генов, не связанных с генами ГКС. Поэтому к каждой самке «дикого типа» с 5–8-мес. возраста примерно через каждые 3 мес. подсаживался самец — ее брат или ее взрослый сын, несущий ген EGFP, с целью получения потомства с высокой степенью инбредности, среди которого по достижении 1,5–2-месячного возраста отбирался донор КМ с геном EGFP. Для старых самок, не способных дать потомство, подбирались молодые доноры из числа их потомства.

Было сформировано две экспериментальных группы животных, в которых реципиентами и донорами были самки. Для формирования первой экспериментальной и контрольной групп был проведен дополнительный инбридинг, который заключался в получении самок — будущих реципиентов от одной и той же самки-родоначальницы и ее сына или потомка последующих 2–3 поколений. Для создания второй экспериментальной и контрольной групп такой инбридинг не проводился.

В контрольных группах трансплантация КМ не проводилась. Количество животных составило 11 и 10 для первой и второй экспериментальной групп и 12 и 13 особей для двух контрольных групп соответственно.

Животные содержались в виварии ИБК РАН по 1–3 мыши в клетке на рационе из гранулированного корма, с дополнительной подкормкой зерносмесью, состоящей из пшеницы, ячменя, красного проса, семечек подсолнуха, кукурузы и травяных гранул. Костный мозг получали растиранием в керамической ступке обеих бедренных костей доноров с добавлением фосфатно-солевого буфера в объеме 600 мкл. Полученную суспензию фильтровали через капроновый фильтр с размером пор 70 мкм. Инъекция производилась в хвостовую вену мыши; объем вводимого материала составлял 100 мкл. В обеих экспериментальных группах трансплантация КМ проводилась в количестве $17,5 \pm 0,2 \cdot 10^6$ клеток с интервалом в 3 мес. с 6–8 мес. возраста до смерти животного. После введения костного мозга самок размещали с самцами и фиксировали время рождения потомства и количество мышат, а также способность самок выкормить потомство. Так же поступали и с контрольными самками. Все животные содержались в виварии до наступления естественной смерти. Прижизненно у них отслеживались отклонения в состоянии здоровья, в том числе появление опухолей. Подсчитывалась также средняя продолжительность жизни животных в опыте и контроле.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ SigmaPlot 12.0. Доверительную вероятность p отличия плодовитости и средней продолжительности жизни мышей между контрольной и экспериментальной группой определяли стандартным образом с использованием критерия Стьюдента [3]. Для аппроксимации экспериментальных данных по фертильности использовали полиномиальные функции первого-второго порядка, вычисленные с использованием компьютерного языка программирования Matematika 5.2.

Результаты и их обсуждение

Результаты эксперимента по определению параметра фертильности для животных из первой и второй экспериментальной групп, которым проводилась сингенная трансплантация КМ, представлены на рис. 1,А и 1,Б соответ-

венно. На них отображена зависимость среднего количества мышат, рожденных самками определенной категории, от возраста. Отдельно на рисунках показано количество выживших мышат в помете (светлые точки). Объединенные результаты рождаемости и выживания мышат у самок из обеих контрольных и обеих экспериментальных групп (у самок младше 6 мес.) являются общими при построении всех трех кривых фертильности (рис. 1, В), так как они получены до момента трансплантации КМ. Параметр максимальной фертильности (около 5–7 мышат в помете) в контроле и в эксперименте не отличался и регистрировался у самок в возрасте 3–8 мес. В первой экспериментальной группе потомство самок выживало полностью или почти полностью вплоть до 17 мес., когда из 3 родившихся мышат все выжили. При этом в возрастной период 8–13 мес. рождалось 6–7 мышат, из которых выживало в основном по 4–6 мышат, в период 13–17 мес. — 4–2 и 4–1 мышонка соответственно. Кривая фертильности в этой группе стала круто снижаться только после достижения самками возраста 15 мес. Во второй группе в возрастной период 8–13 мес. рождаемость составила в среднем несколько меньше — 3–6 мышат, из которых выживало в среднем по 3–4 мышонка. Последний выживший помет пришелся на конец этого периода, когда из четырех родившихся выжило двое мышат. Всего же в этой группе мышата рождались у отдельных самок до достижения ими 15-мес. возраста, и кривая фертильности в среднем для этой группы оказалась ниже и короче, чем для 1-й группы. В контроле эта кривая резко падает уже после достижения мышами возраста 10 мес., когда рождаемость снижалась вплоть до 3–2 мышат в помете, причем не все из них выживали. Последнее рождение мышат в контрольной группе произошло у самок в 12-месячном возрасте, когда из двух родившихся выжил только один мышенок.

В первой и второй экспериментальных группах количество пометов, зарегистрированных после 7 мес., составило по 21 и 18 соответственно. В группах контроля было зарегистрировано в общей сложности 40 пометов в возрасте 7–12 мес. Следовательно, в среднем на одну самку в возрасте после 7 мес. в первой экспериментальной группе пришлось по 1,9 помета, во второй группе — по 1,8 помета, а в объединенной группе контроля — только по 1,6 помета, т.е. в среднем все экспериментальные животные дали на 15,5% больше пометов в расчете на мышь, чем контрольные.

Таким образом, полученные нами данные позволяют сделать вывод, что трансплантация КМ приводит к увеличению периода фертильности у самок мышей с частичным сохранением лактации и, следовательно, способствует выживанию части родившегося «сверхпланового» потомства. Также наблюдается тенденция к увеличению среднего количества пометов и количества родившихся и выживших мышат в каждом помете у мышей-реципиентов по сравнению с интактными животными. Похожие данные были получены в работе Selesniemi et al. [13]. Они также использовали в качестве реципиентов КМ старых мышей линии C57Bl/6J дикого типа, а в качестве доноров — мышей C57Bl/6 — Tg(ACTB-EGFP)10sb/J. Однако независимо от того, с какого возраста авторами вводился ежемесячно КМ самкам-реципиентам до конца периода фертильности — с 8,5 мес. или начиная с 3 мес., им не удалось повысить химеризацию яичников до сколько-нибудь существенного уровня, и клетки донора в этих органах обнаруживались не

более чем через месяц после трансплантации. При этом все мышата, рожденные реципиентами после трансплантации, оставались черными. Такой же результат получился и в нашей работе — все родившиеся у реципиентов КМ мышата не были носителями гена EGFP. Это и неудивительно, так как из предыдущей нашей работы известно, что при безоблучательной трансплантации КМ клеток с геном EGFP мышам без этого гена наибольшие сроки регистрации EGFP⁺-клеток у реципиента составляют 12 суток после инъекции, и то в органах кроветворения — костном мозге и селезенке [2]. Однако мы все-таки считаем, что одной из причин полученного в данной работе результата удлинения периода фертильности может быть эффект временного замещения функций стволовых клеток стареющего организма стволовыми клетками молодого донора. Появился ряд работ, в которых опровергается детерминирование количества яйцеклеток в яичниках при рождении, поскольку после трансплантации КМ у подвергнутых перед этим химиотерапии мышей обнаружены ооциты, происходящие из клеток донора, внутри незрелых фолликулов [7, 8]. Возможно также, что взаимодействие «старых» клеток с «молодыми» приводит к перепрограммированию первых, причем это скорее всего происходит не на уровне яичника, а, как минимум, на уровне гипоталамо-гипофизарной системы.

При трансплантации КМ в организм реципиента, кроме клеток, попадает и ряд цитокинов. Что касается провоспалительных цитокинов, таких, как интерлейкин 1 (альфа и бета), фактор некроза опухолей и интерлейкин-6, выделяемых в периферию в ответ на воспаление или повреждение, то они могут взаимодействовать с головным мозгом через гуморальные и нервные пути. Этот процесс включает в себя диффузию циркулирующих цитокинов через районы, не имеющие непрерывного гематоэнцефалического барьера и находящиеся близко к гипоталамусу, а также связывание циркулирующих цитокинов прямо с рецепторами эндотелиальных клеток, формирующих гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), заставляя их секретировать цитокины и другие иммунные молекулы прямо в области мозга. Существуют также активный транспорт цитокинов с периферии, в процесс которого вовлечены переносчики, встроенные в ГЭБ, и прямая активация центростремительных и катехоламинэргических цепей симпатической нервной системы циркулирующими цитокинами [6, 9, 12, 14]. Следовательно, эти же пути могут быть доступны и для других биологически активных соединений, которые находятся в трансплантируемом КМ.

Как известно, при наступлении менопаузы нарушается синтез гонадотропин-рилизинг-гормонов в гипоталамусе. В гипофизе на месте областей, вырабатывающих гонадотропные гормоны, которые определяют работу яичников, образуются «дыры», т.е. происходит апоптоз секретирующих клеток. Наличие этого явления подтверждается исследованием, в котором инактивация проапоптотического гена Вах у мышей привела к поддержке пула фолликулов в яичниках и к удлинению периода функционирования гонад у самок до очень преклонного возраста [11]. Такое удлинение минимизировало появление многих возрастных проблем со здоровьем у старых самок, включая потерю мышечной и костной массы, повышение жировоголожения, алопецию и катаракту [10]. В нашем эксперименте подопытные животные также в целом выглядели более здоровыми, чем контрольные (данные не показаны).

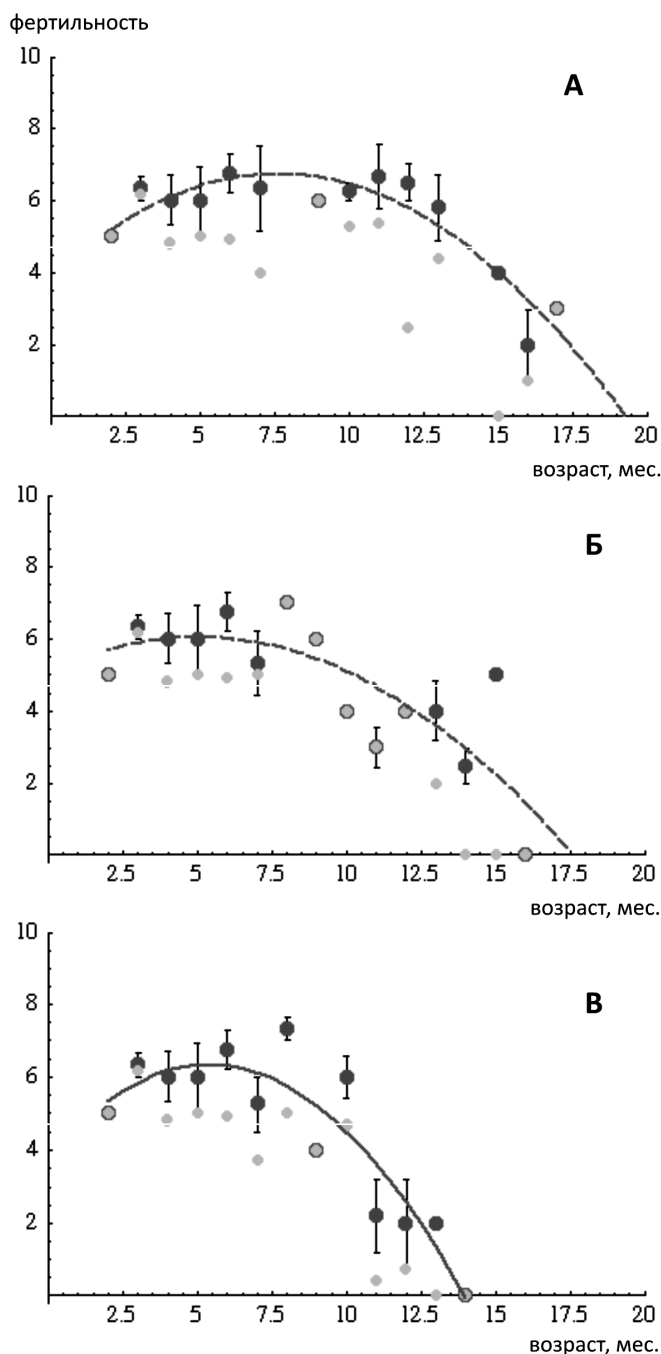


Рис. 1. Результаты эксперимента по определению фертильности для самок из первой и второй экспериментальной групп (с 6–8 мес. мышам проводилась сингенная трансплантация КМ): А — первая экспериментальная группа; Б — вторая экспериментальная группа; В — контроль. Темные кружки — фертильность самок (среднее количество детенышей, рожденных самками определенного возраста) в зависимости от их возраста. Отдельно на рисунке показано среднее количество выживших мышат в помете (светлые точки). В контрольную группу вошли самки из первой и второй контрольной группы геронтологического эксперимента. В контроль по фертильности вошли также результаты рождаемости первых двух экспериментальных групп самок до момента трансплантации КМ (самки младше 6 мес.). Показаны графики аппроксимации квадратичным полиномом. (Ошибка: среднее \pm стандартное отклонение).

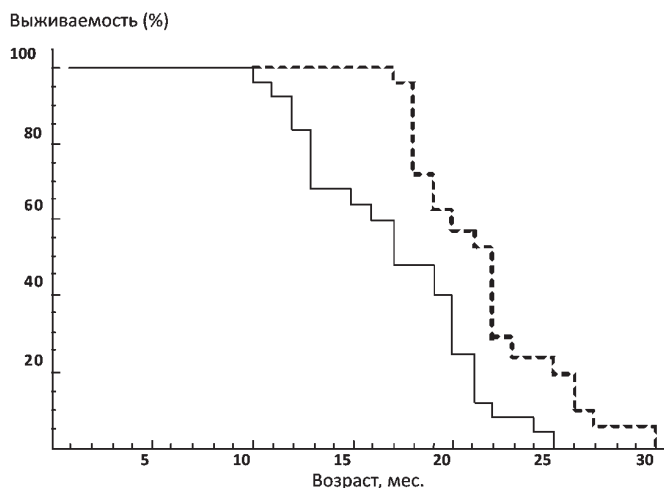


Рис. 2. Кривая выживаемости контрольной и экспериментальной групп мышей в зависимости от возраста (первая и вторая группы мышей вместе). Пунктирная линия — экспериментальная группа, 21 самка (трансплантация КМ, начало трансплантации: 6–8 мес.). Сплошная линия — контрольная группа, 25 самок (трансплантация КМ не проводилась). Средняя продолжительность жизни (СПЖ) для мышей экспериментальной группы составила $21,5 \pm 1,6$ мес., контрольной — $17,2 \pm 1,8$ мес. (СПЖ в экспериментальной группе на 25% больше, чем в контрольной, $p = 0,95$).

В нашей работе положительный эффект сингенной трансплантации КМ выразился также в существенном увеличении средней продолжительности жизни (СПЖ) мышей-реципиентов. Для мышей 1-й экспериментальной группы СПЖ оказалась на 34% больше контрольной и составила $20,6 \pm 2,2$ мес. (в контроле $15,4 \pm 2,6$ мес., $p = 0,95$), для 2-й она была на 19% больше контрольной и составила $22,6 \pm 1,6$ мес. (в контроле $18,9 \pm 1,4$ мес., $p = 0,80$). Мы считаем полученное различие в увеличении СПЖ между двумя экспериментальными группами закономерным и объясняем его предварительно проведенным дополнительным инбридингом для первой экспериментальной группы и соответствующей ей контрольной группы мышей. Кроме того, СПЖ для первой и второй групп, как в контроле, так и в эксперименте, несколько отличается (СПЖ меньше в первой группе) и, по-видимому, связано с фактом более высокой степени инбредности в первой группе животных.

На рис. 2 показана кривая выживания для совместной выборки первой и второй экспериментальной группы и их групп контроля. СПЖ в эксперименте составила $21,5 \pm 1,6$ мес., что на 25% больше, чем для контрольной группы (в контроле $17,2 \pm 1,8$ мес., $p = 0,95$). Совместные данные позволяют повысить статистическую достоверность полученного результата за счет увеличения объема выборки и сделать вывод о возможности существенного продления жизни животных при сингенной трансплантации КМ.

Если сравнить эти данные с данными по фертильности, то можно увидеть, что экспериментальные животные, имевшие в среднем большую продолжительность жизни, демонстрировали большую длительность репродуктивного периода, в течение которого ими было произведено больше пометов с большим количеством мышат в каждом, чем контрольные.

Поскольку другими исследователями было показано, что продолжительность жизни у мышей может быть увеличена трансплантацией яичников от молодых взрослых самок старым [5], то, видимо, оба полученных нами эффекта являются взаимосвязанными.

Заключение

Таким образом, положительный эффект сингенной трансплантации показал принципиальные возможности клеточной терапии по увеличению как качества, так и продолжительности жизни. Кроме того, полученные результаты являются экспериментальным подтверждением информационной гипотезы старения о возможности замены клеточного состава с целью продления жизни многоклеточных организмов.

В связи с полученными нами данными напрашивается идея создания криобанка костного мозга, взятого у молодых женщин для последующей аутотрансплантации в старом возрасте. К тому моменту, когда деградация яичников стареющего донора достигнет критического уровня, введение клеток с пониженным уровнем генетических повреждений согласно информационной гипотезе старения должно улучшить функциональное состояние его организма [1]. «Молодые» стволовые клетки будут постепенно замещать «старые» и нарабатывать дочерние специализированные клетки, обладающие неповрежденным геномом и более высокими функциональными возможностями.

Соответствующие технологии извлечения, криосохранения и трансплантации костного мозга отработаны и имеют многолетний положительный опыт применения в широкой медицинской практике.

Список литературы

1. Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В. Информационная гипотеза старения: каким образом «ускользает» от старения зародышевая линия? // Биофизика. — 2009. — Т. 54, №4. — С. 726–732.
2. Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова Н.А., Богданенко Е.В., Манохина И.А., Карнаухов В.Н. Сравнительный анализ эффективности безоблучательной сингенной и аллогенной трансплантации EGFP+ клеток костного мозга мышей с использованием метода микроспектрального флуоресцентного анализа для исследования // Биофизика. — 2014. — Т. 59, №6. — С. 1135–1142.
3. Митин И.В., Русаков В.С. Анализ и обработка экспериментальных данных. — М.: Физический факультет МГУ, 2009. — 44 с.
4. Buckler H. The menopause transition: endocrine changes and clinical symptoms // J. Br. Menopause Soc. — 2005. — №11. — P. 61–65.
5. Cargill S.L., Carey J.R., Muller H.G., Anderson G. Age of ovary determines remaining life expectancy in old ovariectomized mice // Aging Cell. — 2003. — № 2. — P. 185–190.
6. Dilger, R.N., Johnson, R.W., Aging, microglial cell priming, and the discordant central inflammatory response to signals from the peripheral immune system // J. Leukoc. Biol. — 2008. — №84. — P. 932–939.
7. Johnson J., Bagley J., Skaznik-Wikiel M., Lee H.-J., Adams G.B., Niikura Y., Tschudy K.S., Tilly J.C., Cortes M.L., Forkert R., Spitzer T., Iacomini J., Scadden D.T., Tilly J.L. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells derived from bone marrow and peripheral blood // Cell. — 2005. — №122. — P. 303–315.
8. Lee H.-J., Selesniemi K., Niikura Y., Niikura T., Klein R., Dombkowski D.M., Tilly J.L. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse

model of chemotherapy-induced premature ovarian failure // J. Clin. Oncol. — 2007. — №25. — P. 3198–3204.

9. Nguyen M.D., Julien J.P., Rivest S., Innate immunity: the missing link in neuroprotection and neurodegeneration? // Nat. Rev. Neurosci. — 2002. — №3. — P. 216–227.

10. Perez G.I., Jurisicova A., Wise L., Lipina T., Kanisek M., Bechard A., Takai Y., Hunt P., Roder J., Grynypas M., Tilly J.L. Absence of the pro-apoptotic Bax protein extends fertility and alleviates age-related health complications in female mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2007. — №104. — P. 5229–5234.

11. Perez G.I., Robles R., Knudson C.M., Flaws J.A., Korsmeyer S.J., Tilly J.L. Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by Bax-deficiency // Nat. Genet. — 1999. — №21. — P. 200–203.

12. Quan N., Banks W.A., Brain-immune communication pathways // Brain Behav. Immun. — 2007. — №21. — P. 727–735.

13. Selesniemi K., Lee H.J., Niikura T., Tilly J.L. Young adult donor bone marrow infusions into female mice postpone age-related reproductive failure and improve offspring survival // Aging — 2009. — Vol. 1, № 1. — P. 49–57.

14. Wynne A.M., Henry C.J., Godbout J.P. Immune and behavioral consequences of microglial reactivity in the aged brain // Integr. Comp. Biol. — 2009. — №49. — P. 254–266.

Поступила 12.07.2015

References

1. Kapnauxov A.V., Kapnauxova E.V. Informacionnaja gipoteza starenija: kakim obrazom «uskol'zaet» ot starenija zarodyshevaja linija? // Biofizika. — 2009. — T. 54, №4. — S. 726–732.

2. Karnauhov A.V., Karnauhova E.V., Sergievich L.A., Karnauhova N.A., Bogdanenko E.V., Manokhina I.A., Karnauhov V.N. Sravnitel'nyj analiz jeffektivnosti bezobluchatel'noj singennoj i allogennoj transplantacii EGFP+ kletok kostnogo mozga myshej s ispol'zovaniem metoda mikrospektral'nogo fluorescentnogo analiza dlja issledovaniya // Biofizika. — 2014. — T. 59, №6. — S. 1135–1142.

3. Mitin I.V., Pucakov V.C. Analiz i obpabotka jeksepimental'nyx dannyx. — M.: Fizicheskij fakul'tet MGU, 2009. — 44 c.

4. Buckler H. The menopause transition: endocrine changes and clinical symptoms // J. Br. Menopause Soc. — 2005. — №11. — P. 61–65.

5. Cargill S.L., Carey J.R., Muller H.G., Anderson G. Age of ovary determines remaining life expectancy in old ovariectomized mice // Aging Cell. — 2003. — № 2. — P. 185–190.

6. Dilger R.N., Johnson R.W., Aging, microglial cell priming, and the discordant central inflammatory response to signals from the peripheral immune system // J. Leukoc. Biol. — 2008. — №84. — P. 932–939.

7. Johnson J., Bagley J., Skaznik-Wikiel M., Lee H.-J., Adams G.B., Niikura Y., Tschudy K.S., Tilly J.C., Cortes M.L., Forkert R., Spitzer T., Iacomini J., Scadden D.T., Tilly J.L. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells derived from bone marrow and peripheral blood // Cell. — 2005. — №122. — P. 303–315.

8. Lee H.-J., Selesniemi K., Niikura Y., Niikura T., Klein R., Dombkowski D.M., Tilly J.L. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure // J. Clin. Oncol. — 2007. — №25. — P. 3198–3204.

9. Nguyen M.D., Julien J.P., Rivest S., Innate immunity: the missing link in neuroprotection and neurodegeneration? // Nat. Rev. Neurosci. — 2002. — №3. — P. 216–227.

10. Perez G.I., Jurisicova A., Wise L., Lipina T., Kanisek M., Bechard A., Takai Y., Hunt P., Roder J., Grynypas M., Tilly J.L. Absence of the pro-apoptotic Bax protein extends fertility and alleviates age-related health complications in female mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2007. — №104. — P. 5229–5234.

11. Perez G.I., Robles R., Knudson C.M., Flaws J.A., Korsmeyer S.J., Tilly J.L. Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by Bax-deficiency // Nat. Genet. — 1999. — №21. — P. 200–203.

12. Quan N., Banks W.A., Brain-immune communication pathways // Brain Behav. Immun. — 2007. — №21. — P. 727–735.

13. Selesniemi K., Lee H.J., Niikura T., Tilly J.L. Young adult donor bone marrow infusions into female mice postpone age-related reproductive failure and improve offspring survival // Aging — 2009. — Vol. 1, № 1. — P. 49–57.

14. Wynne A.M., Henry C.J., Godbout J.P. Immune and behavioral consequences of microglial reactivity in the aged brain // Integr. Comp. Biol. — 2009. — №49. — P. 254–266.

Received 12.07.2015

Study of cell therapy possibilities for renewal of feminine sexual function on mouse model experiments

Bogdanenko E.V.¹, Karnaukhov A.V.², Karnaukhova E.V.²,
Sergievich L.A.², Karnaukhova N.A.², Manokhina I.A.², Karnaukhov V.N.²

¹ — FSBSI «Research Institute of General Pathology and Pathophysiology», ul. Baltiyskaya 8, Moscow, 125315 Russia

² — Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

Oncoming menopause in woman is accompanying by severe breakdown of her health and performance capability. Bone marrow (BM) transplantation might be a way to postpone aging alterations in woman's organism accompanying by serious pathologies. To test this method the model experiments have been carried out in which the female mice of 6–8 months of age and C57BL/6J inbred strain were used as recipients and the female C57BL/6 — Tg(ACTB-EGFP)10sb/J mice of 1,5–2 months of age were used as donors. BM infusions were carried out once every three months. During the posttransplantation period the number of delivered litters and the number of survived pups and mean lifespan (MLS) were defined in the recipient females. In addition, a chance of offspring delivery with the gene of green fluorescent protein by recipients (namely, transformation of BM stem cells into germ cell line) was examined. It was found that the experimental animals lived longer than the control ones. They delivered more litters and more their offsprings per litter survived as compared with the control animals. Pups with EGFP gene were not found between offspring of the BM recipients. It is concluded that the direct relationship exists between increasing fertility data and MLS. The transformation of the BM stem cells into the germ line cells was not detected. On basis of our data the transplantation of the own BM obtained from women of young age and preserved in a cryobank is proposed as a method of saving and maintaining woman's sex.

Key words: cell therapy, bone marrow transplantation, ageing, germ cell line, information theory of ageing, life span, EGFP+ mice, fertility curve, surviving, survived offsprings, autotransplantation