

Сергей Амстиславский, Сюзанна ла Фальци. Крионика – мифы и реальность

«...Уходит поезд в небеса – счастливый путь...»
Из «Баллады об уходе в рай»
Владимира Высоцкого

1. Введение

Идеи крионики, в частности, мечта о том, чтобы жить вечно – не новы. Множество книг, а также целый ряд кинофильмов, такие, например, как «Бегство мистера Мак Кинли», который был в кинопрокате в нашей стране ещё в советские времена, были построены именно на этих идеях. В этой кинокартине главный герой «сбегает от проблем» в будущее, будучи замороженным. Сейчас появилось великое множество кинофильмов на ту же самую тему: это и «Vanilla sky» и «Sleeper», и другие, всех не перечислить, но именно «Бегство Мистера Мак Кинли», где Владимир Высоцкий пел свою знаменитую «Балладу об уходе в рай», принес в нашу страну идеи крионики в те памятные, теперь уже далекие 1970-е. Как в самой кинокартине, так и в песне, строчка из которой взята эпиграфом, поднимаются многие нравственные и этические проблемы, связанные с крионикой. Мы в данной статье этих проблем сознательно касаться не будем, но сосредоточимся главным образом на биологических аспектах крионики.

В своей знаменитой книге «Перспективы бессмертия» (Ettinger, 1964) Роберт Эттингер впервые в наиболее полной и развернутой форме сформулировал основные идеи крионики, что сделало его лидером в этой области. Сам же «отец крионики», который после демобилизации из вооруженных сил США получил университетский диплом сразу по двум специальностям – математике и физике, писал о себе довольно скромно. *«Будучи всего лишь учителем колледжа по физике и математике, я никогда не имел и не имею официальных полномочий... Это в течение длительного времени было причиной отсутствия инициативы с моей стороны, так как у меня нет соответствующего научного веса, формальной квалификации в данной области; кроме того, я не очень подхожу на роль лидера. Но проходили годы и никто, более подходящий на эту роль, чем я, так и не появился. Я, в конце концов, решил взяться за перо. Позже, я думаю, мне надо будет сформировать соответствующие организации...»*⁴²

В своей книге Эттингер развил концепцию «приостановленной смерти». По мнению Эттингера, процесс умирания не мгновенный акт, но имеет определенную протяженность во времени, этот процесс может быть приостановлен и «законсервирован» с перспективой оживления этого человека в будущем. Концепция «приостановленной смерти» исходит из того, что современные способы диагностики того, что смерть наступила, не абсолютны, а относительны и зависят, в частности, от уровня развития медицинских технологий и их доступности в критический момент времени. Чтобы эта мысль Эттингера стала понятной, достаточно привести простой пример. Если у человека случился инфаркт где-нибудь в таежной деревне, где нет ни достаточного медицинского оборудования, ни квалифицированного персонала, то этот эпизод с большой вероятностью приведет к летальному исходу. Если же, напротив, подобный удар случился, когда человек находился в больнице большого города, в которой используют современные методы реанимации и лечения, то вполне вероятно, что этот человек выживет и, возможно, еще будет достаточно долго и счастливо жить. Автор перенес эту идею на ось времени. Он предположил, что критерии смерти различаются не только в зависимости от места, где человек находится в критической ситуации, но и от эпохи, в которую он живет. Согласно Эттингеру, человека, которого современная медицина считает умершим, доктора из будущего, возможно, смогут оживить, если в момент диагностики смертельного исхода специалисты по крионике будут рядом и процесс умирания будет «приостановлен».

⁴² http://en.wikipedia.org/wiki/Robert_Ettinger.

В этой своей знаменитой книге, основным идеям которой следуют практики от крионики и в наши дни, Эттингер предложил и метод «путешествия во времени». Автор изучил современную ему литературу по криобиологии, науке которая изучает жизнь при низких температурах. Это направление биологической науки как раз переживало бурный подъем, начиная с конца 1940-х годов (см. Smith, 1961 в качестве исторического обзора научных достижений криобиологии той поры) и сейчас этот подъем продолжается. Эттингер делает вывод о том, что криоконсервация при температурах жидкого азота или даже жидкого гелия является именно тем способом, который позволит сохранить биологический субстрат и позволит специалистам из будущего оживить этого человека.

Однако как во времена написания книги «Перспективы бессмертия», так и в наши дни, криоконсервация с успехом применяется лишь по отношению к суспензиям клеток, сперматозоидам, ранним стадиям развития эмбрионов или другим микроскопически мелким объектам, но не по отношению к таким крупным телам, какими являются человек или представитель любого другого вида млекопитающих. Именно по этой причине в научном сообществе идеи крионики воспринимаются весьма критически, особенно криобиологами, которые хорошо осведомлены о том, где, на сегодняшний день, проходит граница применения научно обоснованных методов криобиологии. Следует отметить в этой связи, что науке пока не известны случаи успешной заморозки и криоконсервации при температурах жидкого азота или жидкого гелия каких либо животных, размер которых превышал бы несколько миллиметров.

Чтобы сразу определиться с терминами, надо сказать, что когда в современной биологической литературе встречается термин «криоконсервация», то имеется в виду консервация тех или иных биологических объектов в течение некоторого времени при температуре жидкого азота, т.е. при -196° Цельсия. Причем успешной считается криоконсервация, когда объект полностью сохраняет свою жизнеспособность после размораживания. Если же объект хранился при этих температурах, но никто никогда не доказал, что этот объект сохраняет жизнеспособность, то слово «криоконсервация» здесь подходит лишь весьма условно, поэтому при дальнейшем изложении мы будем брать это слово в кавычки, говоря о «криоконсервации» крионавтов. «Крионавтами» в англоязычной литературе называют тех, «пациентов», которые прошли полную заморозку и хранятся при температуре жидкого азота. До того, как будущие «крионавты» достигли температуры жидкого азота, т.е. с момента начала подготовительных процедур крионики их называют «пациентами». Это слово мы будем также употреблять в кавычках, поскольку «пациентами» крионики юридически могут быть лишь те, кого современная медицина считает умершими.

После написания своей знаменитой книги Эттингер стал президентом Института крионики (*Cryonics Institute*) и общества бессмертия (*Immortalist Society*). Именно эти две организации, наряду с Алькором (*Alcor: Life Extension Foundation*), наиболее известны в современном мире как предприятия, развивающие идеи крионики и применяющие их на практике. Причем Алькор сейчас является лидером в данной области. Все эти три организации находятся в США. Именно США до последнего времени были единственной страной, где имелись предприятия, практикующие крионику. Общество бессмертия выпускает журнал «*The immortalist*», на страницах которого обсуждаются вопросы, имеющие отношение к крионике и, в более широком контексте, к увеличению продолжительности жизни. В самое последнее время, однако, наблюдается экспансия крионики и в другие страны. На сайте фирмы КриоРус⁴³ сообщается, что первые крионавты появились и в России.

Первым человеком, тело которого было подвергнуто заморозке и консервации, был профессор из Калифорнии Джеймс Бедфорд. Умирая от рака, он высказал в качестве последнего желания быть «криоконсервированным». Его желание было выполнено, и тело профессора и в настоящий момент времени находится в жидком азоте в одном из сосудов фирмы Алькор. Однако наиболее известным крионавтом является бейсбольный кумир Тэд Уильямс. Он был подвергнут процедурам крионики в фирме Алькор и заморожен в 2002-м году. Однако вскоре после этого началась семейная дискуссия о том, «а действительно ли Тэд хотел быть замороженным?». Разразился скандал, который имел негативные последствия как для Алькора, так и для Института крионики, возглавляемого Эттингером (хотя последний не имел прямого отношения к заморозке Тэда Уильямса).

⁴³ <http://www.kriorus.ru/russia.html>.

Что же все-таки представляет собой крионика, которая предоставляет довольно дорогую услугу по консервации того, что является некой «биологической сущностью» того или иного человека? Является ли крионика «наукой» или «псевдонаукой»? Где проходит граница между научно обоснованными и экспериментально проверенными методами криобиологии и таинственным миром идей крионики? Этим и многим другим вопросам, связанным с термином «крионика» и посвящена эта статья.

2. Подготовка к «путешествию во времени» и эксперименты на собаках и кошках

Согласно современной литературе, когда говорят о практических аспектах крионики, то имеют в виду *«практику заморозки больных людей в надежде на восстановление их жизни в будущем, когда будут разработаны соответствующие технологии»* (Carpenter, 2003). Одним из ключевых моментов, который позволяет практиковать крионику, является разница во времени между так называемой «клинической смертью» и теми совершенно необратимыми изменениями, которые следуют за этим событием через некоторое время. Как свидетельствуют те, кто осуществляет идеи крионики на практике, *«с точки зрения закона, факт смерти обозначает то, что квалифицированные эксперты-медики делают заключение о том, что восстановление кровообращения (или попытки восстановления кровообращения) не представляется возможными... Настоящая же смерть наступает, когда клетки организма необратимо разрушаются – т.е. через несколько минут или даже часов после подобного заключения. Мы считаем, что наши «пациенты» на момент начала применения процедур крионики еще не умерли, но находятся в коматозном состоянии... После оживления они, скорее всего, лишь будут на какое-то время в состоянии амнезии, то есть кратковременной потери памяти связанной с тем, что электрическая активность мозга какое-то время отсутствовала...»* (цитировано по Carpenter, 2003; Lemler et al., 2004). Согласно утверждению представителей фирмы Алькор, *«юридически смерть констатируют, когда сердце перестает биться и дыхание отсутствует, но не когда умирает мозг... критерии «смерти мозга» применяют лишь в связи с пересадкой органов»* (Lemler et al., 2004).

В чем же заключаются услуги крионики на практике? Ниже приведено описание подготовки «пациента» к «путешествию во времени», как это делается в наиболее известной в мире фирме – фирме Алькор в США. Когда врач констатирует смерть, транспортная бригада специалистов фирмы Алькор проводит на месте первые процедуры подготовки «пациента» к заморозке и криоконсервации. При этом специалисты транспортной бригады делают всё возможное, чтобы максимально полно использовать упомянутую выше разницу во времени между смертью *«de jure»* и смертью *«de facto»*. После того, как врач делает заключение о том, что наступила смерть, «пациента» немедленно подключают к системе искусственного поддержания циркуляции. После подключения к системе чаще всего циркуляция в теле восстанавливается через 2–4 минуты. На фоне механической поддержки дыхания и циркуляции крови, осуществляемых при помощи этой системы, производятся инъекции ряда препаратов. Эта медикаментозная подготовка имеет целью поддержать обмен веществ в тканях тела и защитить их от повреждающих последствий кислородного голодания (ишемии), которое имело место во время остановки кровообращения, а также от дальнейшего повреждения тканей после возобновления доступа кислорода к этим тканям при восстановлении циркуляции (что может иметь весьма негативные последствия на фоне эпизодов ишемии).

В практике Алькор, в настоящее время, практикуется применение антикоагулянтов, таких, как гепарин, а также ряда других препаратов: блокаторов кальциевых каналов, ингибиторов свободных радикалов и других. Наряду с введением препаратов, бригада Алькор проводит хирургические операции на кровеносных сосудах, целью которых является наиболее эффективное обеспечение кровоснабжением самого важного с точки зрения крионики органа – головного мозга. При этом, конечно, ухудшается кровоснабжение других частей тела, в частности конечностей. Однако согласно концепции крионики, другие органы и части тела не так важны, как мозг. Предполагается, что если «доктора будущего» найдут способ оживить замороженный мозг, то для них не будет большой проблемы также и с телом, вплоть до регенерации нового тела.

Если эти подготовительные процедуры проходят без осложнений, то хирургия и фармакологические воздействия завершаются в течение 45 минут. В течение следующих 15 минут «пациент» охлаждается до $+5^{\circ}\text{C}$ и в таком виде транспортируется в главное здание Алькор для дальнейшего этапа – насыщения тканей криопротектором.

Следующий этап – насыщение органов и тканей криопротектором имеет целью защиту клеток организма от повреждения в ходе процесса замораживания. В настоящее время в фирме Алькор в качестве криопротектора применяют глицерин, однако уже разработаны и проходят испытания в экспериментах на животных более сложные криопротекторы, которые, как показано, более эффективно предохраняют мозг от криоповреждений (Pichugin et al., 2006). Криопротектор вводят в возрастающих концентрациях для насыщения тканей тела, при этом используется собственная система кровообращения «пациента», которого опять подключают к искусственной системе циркуляции. Этот этап длится от двух до четырех часов и в результате около 60% жидкостей тела замещается глицерином.

В ходе прокачивания (перфузии) растворов глицерина состояние «пациента» и его реакция на процедуры тщательно регистрируется и контролируется. Такие показатели, как перфузионное давление, скорость насыщения тканей криопротектором, температура тела и другие параметры тщательно оцениваются и регулируются с целью достижения оптимального режима введения криопротектора. В черепе делается небольшое отверстие с целью визуального контроля поверхности мозга: оптимальный режим насыщения криопротектором тканей мозга является главным приоритетом. Если ткани мозга в ходе процедуры сморщиваются, это считается хорошим индикатором того, что вода замещена глицерином, и процесс перфузии идет в оптимальном режиме.

Если по условиям контракта замораживанию и «криоконсервации» следует подвергнуть лишь головной мозг, то «пациент» получает весь комплекс описанных выше процедур, но после этапа насыщения криопротектором голову отчленивают от тела, и лишь голова будет подвергнута замораживанию. Эта услуга, когда лишь мозг (внутри черепной коробки) подвергают «криоконсервации» носит специальное название – нейро (*neuro*).

После завершения насыщения тканей тела раствором криопротектора «пациент» отсоединяется от системы поддержания циркуляции и помещается в два пластиковых пакета. Оба пакета непроницаемы для жидкостей. После этого «пациента» помещают в ванну с холодным силиконовым маслом. В течение последующих 36–48 часов температура ванны (и соответственно температура «пациента») постепенно снижается от $+5^{\circ}$ до -79° . Этот процесс равномерного снижения температуры достигается путем добавления кусков сухого льда в ванну. Как только температура в ванне снизилась до -79° , «пациента» быстро вынимают из ванны, верхний пакет снимают и быстро переносят в спальный мешок, предварительно охлажденный до той же температуры. Поверх одевают еще один охлажденный спальный мешок. После этого «пациента», одетого в пластиковый пакет и два спальника кладут в алюминиевый сосуд, в котором ему предстоит пройти окончательные этапы заморозки до достижения температуры жидкого азота (-196° Цельсия). Это достигается контролируемым постепенным снижением температуры в алюминиевом сосуде в парах жидкого азота. Процесс продолжается в течение примерно 5 дней. При достижении температуры -196° тело переносится в жидкий азот и хранится в этом состоянии в специальном сосуде (см. рис.1).



Рис.1.

В научной публикации, которую группа крионистов из фирмы Алькор опубликовала недавно в анналах Нью-Йоркской Академии наук, приводятся результаты их собственных экспериментов на собаках, подтверждающих некоторые частные постулаты крионики. У собак в условиях комнатных температур (то есть без специального охлаждения тела) было полностью прекращено кровообращение путем фибрилляции сердца. Через 14–16 минут после этого кровообращение восстанавливали, собаки оживали, причем дальнейшие тесты показали, что высшая нервная деятельность у этих собак не нарушена, и они демонстрируют нормальное поведение и тот же уровень способностей, как до своей клинической смерти (Lemler et al., 2004). При обсуждении своих результатов, полученных на собаках, авторы упоминают работу, проведенную много лет назад на кошках. В этом случае схема эксперимента была аналогичной, и у подопытных кошек вызывали ишемию в условиях нормальных температур. Однако кровообращение отсутствовало в течение целого часа. После столь длительного периода, когда органы и ткани были лишены доступа кислорода, кошек возвращали к жизни, причем со временем у них восстанавливалось нормальное поведение, в частности, характерное для кошек поведение «умывания», чистки своего туалета и т.д. Кошки по-прежнему различали работников этой лаборатории, которых они знали до своей клинической смерти (Hossmann et al., 1987).

Следует сразу сказать, что и кошки, и собаки относятся к отряду хищных (*Carnivora*) и способность переживать эпизоды, когда органы и ткани лишены доступа кислорода, вероятно, выработалась эволюционно, в связи с образом жизни их предков, до того, как эти виды животных были одомашнены. Подобные эксперименты на других видах животных могут дать совершенно иной результат и даже короткий промежуток кислородного голодания мозга может привести к необратимым последствиям.

Несмотря на эти оговорки, результаты упомянутых экспериментов представляют, безусловно, большой интерес для нейробиологии. Эти данные также свидетельствуют в пользу отстаиваемого представителями Алькор утверждения крионики о том, что существует значительный интервал времени между клинической смертью, оцениваемой по остановке дыхания и кровообращения и «настоящей смертью», которая, согласно постулатам крионики, наступает лишь когда необратимо разрушается мозг. Сходные эксперименты на собаках упоминаются также и в книге Эттингера (Ettinger, 1964), но там описано восстановление поведения у собак, которые пережили клиническую смерть в условиях гипотермии. Однако прошло уже более 40 лет со времени появления этой книги и рождения крионики, однако, по-прежнему, существует главная (возможно вечная) проблема, которая не позволяет назвать крионику наукой. Эта проблема заключается в том, что никому до сих пор не удалось «оживить» ни одного из «пациентов» крионики или даже просто представить доказательства того, что какое-либо млекопитающее (за исключением микроскопически мелких – эмбриональных стадий развития) было успешно заморожено до температуры жидкого азота и было «оживлено» после криоконсервации. Иными словами, отсутствует экспериментальное подтверждение основного постулата крионики о том, что жизнеспособность замороженных крионавтов можно восстановить. Таким образом, как во времена написания Робертом Эттингером его знаменитой книги, так и в наши дни, это предположение принимается апологетами крионики исключительно «на веру» – без научных доказательств.

В упомянутой публикации из анналов Нью-Йоркской академии наук представители фирмы Алькор вынуждены констатировать то, что ожидания их клиентов быть в будущем возвращенными к жизни базировались и базируются на «предположении» о том, что «*медицинский и научный прогресс будет продолжаться*» и в один прекрасный день станет возможным то, что не представляется возможным в наше время (Lemler et al., 2004). Однако, как сказал известный криобиолог Артур Ров (Artur Rowe), «*верить в то, что крионика сможет помочь реанимировать замороженных – это всё равно, что верить в то, что гамбургер может превратиться обратно в корову*». Действительно, как бытовой, так и научный опыт свидетельствует о том, что живое может стать неживым и раньше или позже это происходит. Достаточно вспомнить комара, убитого на плече или ту же корову, превращенную в гамбургер, как в примере Артура Рова. Между тем, примеры «превращений» в обратном направлении, когда умершее животное удастся оживить, науке пока не известны. Здесь следует сразу оговориться. Современные научные технологии позволяют получить «живое» путем взятия отдельных клеток из мертвого животного и последующих манипуляций, таких, как репродуктивное клонирование или инъекция сперматозоида в яйцеклетку. Подобные примеры, в частности, приведены в следующем разделе нашей публикации. Однако эти технологии не относятся к крионике, так как

крионика нацелена на консервацию с перспективой оживления самого «пациента», а не получения потомства от него путем биопсии и последующих манипуляций.

3. Научно-обоснованные подходы: криобиология и современные репродуктивные технологии

Во времена, когда Роберт Эттингер писал свою книгу, т.е. в 1960-х годах, доминирующим методом замораживания было относительно медленное охлаждение биологических объектов (так называемое программное замораживание). Этот метод стал внедряться в практику после того, как случайно были обнаружены криопротективные свойства глицерина (Polge et al., 1949; Polge, Smith, 1950). Эти же криобиологи из Великобритании предложили метод замораживания и криоконсервации сперматозоидов, который с начала 1950-х начал активно внедряться в животноводство многих стран (Polge, Smith, 1950). Позже другие британские ученые показали, что преимплантационные эмбрионы (т.е. – до момента имплантации в матку) млекопитающих тоже возможно подвергать замораживанию и криоконсервации (Whittingham et al., 1972; Wilmut, 1972). В наше время сотни тысяч эмбрионов крупного скота и других сельскохозяйственных животных подвергаются криоконсервации (Thibier, 1998; 2002). Это существенно облегчает обмен генетическим материалом, в том числе интернациональный.

Криобиолог Петер Мэйзур и его ученики описали (математически и биологически) те процессы, которые происходят в ходе программного замораживания биологических объектов. Это теоретическое обоснование того, что уже использовали практики, а именно – метода постепенного (программного) замораживания, получило названия «двухфакторной теории Мэйзура» (Mazur, 1977; 1988 Farrant et al., 1977). Данная теория была разработана с использованием достаточно сложного математического аппарата и была подтверждена множеством экспериментов. Согласно теории Мэйзура, основными повреждающими факторами при медленном замораживании является образование внутриклеточных кристаллов льда и экспозиция клеток в гипертонических растворах в течение процесса замораживания. Важными для практиков выводами этой теории является то, что повреждение клеток при замораживании зависит от проницаемости клеточной мембраны и скорости охлаждения (Mazur, 1977; Farrant et al., 1977).

Вскоре были разработаны оптимальные программы замораживания, которые различались как для отдельных типов замораживаемых объектов, так и для разных видов животных. Эти программы позволяли достаточно успешно замораживать клеточные суспензии (Rowe, 1994), сперматозоиды (Watson, 2000) и преимплантационные эмбрионы (Dobrinsky, 2002; Leibo, Songasen, 2002; Amstislavsky et al., 2006a) разных видов животных. При замораживании этих микроскопически мелких биологических объектов согласно специально разработанных программ, образование внутриклеточных кристаллов льда минимально, так как внутриклеточная вода успевает выйти через клеточные мембраны, а экспозиция в гипертонических растворах (которые образуются, когда вода в жидкой фазе вокруг эмбрионов начинает кристаллизоваться в лед) происходит в течение достаточно короткого времени, что не приносит большого вреда (Mazur, 1977; Farrant et al., 1977). Кроме глицерина, для заморозки различных типов клеток применяют и другие криопротекторы, такие как диметилсульфоксид, этиленгликоль и другие (Pedra et al., 2005). Показано, что разные криопротекторы обладают разной проницаемостью в клетки, и мера их токсичности по отношению к клеткам зависит не только от времени экспозиции и типа клеток, но и от температуры (Wusteman et al., 2004). Таким образом, оптимальные условия замораживания того или иного типа клеток обычно подбирают экспериментально, при этом, конечно, эксперимент строится с учетом основных положений теории Мэйзура.

Наиболее «крупными» стадиями в развитии млекопитающих, которые когда-либо удавалось замораживать при помощи традиционных способов, описанных в этом параграфе, являются преимплантационные эмбрионы. Размер преимплантационных эмбрионов большинства видов млекопитающих – несколько десятых долей миллиметра, однако это уже многоклеточное образование, и зачастую приходится прибегать к разным ухищрениям, чтобы достичь успеха. Тем не менее, эмбрионы лабораторных (Mobraaten, 1986); большинства сельскохозяйственных (Dobrinsky, 2002), некоторых пушных (Lindeberg et al., 2003; Amstislavsky et al., 2006), а также диких (Leibo, Songasen, 2002) млекопитающих удается успешно заморозить и хранить при

температуре жидкого азота. Сразу отметим, что под «успешной заморозкой» мы имеем в виду лишь те случаи, когда после криоконсервации при температуре жидкого азота эмбрионы были разморожены, трансплантированы самке-реципиенту и родилось живое потомство. Это единственный критерий, которому доверяет научное сообщество, все остальные критерии жизнеспособности эмбрионов после разморозки могут вызывать критику (вполне, на наш взгляд, обоснованную).

Когда программное замораживание, основанное на двухфакторной теории Мэйзура, попытались применить к более крупным объектам, чем ранние эмбрионы, то результаты заморозки были в подавляющем большинстве случаев отрицательными. Например, в обзорной статье Якобсена и Пегга сообщалось о попытке насыщения раствором криопротектора некоторых органов, таких, например, как почки, и последующего постепенного охлаждения их до температур -80° Цельсия. Результат был негативным для всех исследованных органов (Jakobsen, Pegg, 1984). Причины неудач подобных экспериментов по применению традиционных программ замораживания при работе с органами перечисляются в ряде обзорных статей (Pegg, 2001; Pegg, 2006). Органы состоят из разных типов клеток, причем между этими разными типами клеток имеются сложные межклеточные контакты. Каждый тип клеток имеет свои собственные криобиологические характеристики, и программа охлаждения, рассчитанная для одних клеток, может оказаться далеко не оптимальной по отношению к другим. Клеточные контакты особенно чувствительны и чаще всего необратимо разрушаются при применении традиционных программ заморозки. Самое же главное осложнение для того, чтобы теория Мэйзура была применена к органам, является то, что их величина измеряется не микронами и даже не миллиметрами. То есть соотношение поверхности и объема у этих органов очень далеко от оптимума. Напомним, что чем больше орган, тем меньше это соотношение поверхности и объема. Теория же Мэйзура хорошо «работает» лишь на объектах, имеющих радиус не более миллиметра.

Альтернативный подход к замораживанию биологических объектов получил название «витрификация». Теоретические основы витрификации с использованием достаточно сложного математического аппарата разрабатывались еще в 1930-х годах Льюетом и его учениками и коллегами (Luyet, Hodapp, 1938). На некоторое время этот подход оказался на втором плане, заслоненный успехами в создании криобанков эмбрионов и семени при помощи методов программного замораживания. Кроме того, казалось, что технически выполнить рекомендации Льюета было несколько сложнее, чем следовать рекомендациям теории Мэйзура. Тем не менее, когда криобиологи столкнулись с проблемами возникающими при криоконсервации органов, они вспомнили про Льюета и витрификацию. Витрификация была впервые успешно применена для заморозки эмбрионов в 1980-е годы (Fahy et al., 1985). В настоящий момент метод считается перспективным не только для замораживания мелких биологических объектов, таких, как клеточные суспензии (Wusteman et al., 2003), сперматозоиды (Isachenko et al., 2003) и эмбрионы (Kasai, Mukaida, 2004), но также для замораживания срезов органов и тканей (de Graaf, Koster, 2003; Pichugin et al., 2006) и даже для замораживания целых органов (Fahy et al., 2004; Pegg, 2006).

Согласно теоретическим предсказаниям Льюета, витрификация позволяет вообще избежать образования кристаллов льда, как внутриклеточных, так и внеклеточных. При соблюдении необходимых условий, главными из которых являются очень высокие концентрации криопротекторов в среде и очень быстрое снижение температуры во время процесса замораживания, замораживаемый объект переходит в «стекловидное состояние», минуя фазу кристаллизации льда. С использованием витрификации недавно удалось успешно заморозить почку кролика до температур -45°C , причем после размораживания и трансплантации эта почка нормально функционировала (Fahy et al., 2004). Конечно, это еще не криоконсервация, так как под этим термином обычно понимают хранение при температуре жидкого азота, но прогресс в деле создания криобанков органов в последние годы безусловно наметился.

Особенно успешны эксперименты по замораживанию генеративных органов – семенников и яичников. Накапливается всё больше экспериментальных и клинических данных о том, что ткань семенника или яичника вполне реально подвергать криоконсервации, и этот подход даже рекомендован, как одна из реальных возможностей восстановления плодовитости у людей, перенесших химио- и лучевую терапию в связи с лечением рака в раннем возрасте (Novatta, 2003). Относительно недавно родился первый ребенок у такой пациентки, у которой до начала химиотерапии были удалены и подвергнуты криоконсервации яичники. После окончания курса лечения и полного выздоровления этой молодой женщине была проведена трансплантация ее

собственной яичниковой ткани, взятой из криобанка, где кусочки ее яичниковой ткани сохранялась при температуре жидкого азота в течение ряда лет. Через некоторое время эта женщина смогла родить собственного ребенка зачатого естественным путем (Donnez et al., 2004).

Не менее впечатляющи и данные, полученные в экспериментах на животных. В работе Огонуки с соавторами (Ogunuki et al., 2006) сообщается, что удалось получить живое потомство от мертвых мышей. Тушки самцов мышей и выделенные из этих тушек репродуктивные органы хранились в холодильнике при -20°C в течение 15-ти лет. Затем как из сохраненных органов, так и из тушек были выделены сперматозоиды и сперматиды. Причем специальный тест показал, что эти сперматозоиды не только неподвижны, но специальные тесты подтвердили, что они «мертвы», хотя признаков деградации ДНК не было. После инъекции этих сперматозоидов в специально подготовленные ооциты (половые клетки самок), некоторые из них стали развиваться. Последующая трансплантация полученных таким образом эмбрионов привела к рождению потомства.

Эта работа показывает, что не столь уж фантастичны проекты восстановления исчезнувших видов животных. Если животное, скажем мамонт или саблезубый тигр, сохранилось в вечной мерзлоте и в его семенниках имеются мертвые сперматозоиды, у которых, однако, сохранен геном, как в описанных выше экспериментах на мышах, то задача получить потомство от этого вымершего животного хоть и технически очень сложна, но всё же представляется научно обоснованной даже при современном уровне развития технологий. Взятые от сохраненных в условиях вечной мерзлоты животных сперматозоиды могут быть инъецированы в ооциты ныне живущих родственников этих вымерших видов и развившиеся эмбрионы могут быть трансплантированы самкам-реципиентам этих видов.

О том, что межвидовая трансплантация является интересным и перспективным научным направлением, мы уже писали как в научных (Amstislavsky et al., 2006(b); Амстиславский, 2006a), так и в научно-популярных журналах (Амстиславский, 2006 б). Более того, современные достижения в области репродуктивного клонирования (Holt, 2003) показывают, что даже наличие репродуктивных клеток не является, строго говоря, обязательным условием для получения живого потомства от мертвых животных. Группа профессора Лоя из Италии продемонстрировала, что трансплантация ядер соматических клуток от мертвых животных способна привести к рождению живого потомства. Эта научная группа из Италии работает на паре близкородственных видов муфлон – домашняя овца. Муфлон – это самостоятельный вид овец, который в дикой природе обитает на острове Сардиния в Средиземном море. Ядра были получены из кумулюсных клеток (которые не являются половыми клетками, хотя и находятся в яичниках) от муфлонов, найденных мертвыми на пастбище, в энуклеированные ооциты домашних овец. Последующая трансплантация полученных таким образом эмбрионов овцам-реципиентам привела к рождению живых ягнят муфлона (Loi et al 2001).

Другим перспективным подходом, о котором нельзя не упомянуть, является криоконсервация срезов органов (de Graaf, Koster, 2003). Недавно была опубликована работа Пичугина с соавторами, в которой авторы продемонстрировали сохранение жизнеспособности клеток одного из отделов головного мозга крыс – гиппокампа после замораживания (витрификации) и хранения при температуре жидкого азота срезов этого отдела мозга (Pichugin et al., 2006). Эта действительно интересная на наш взгляд работа была интерпретирована представителями фирмы Алькор как в некотором роде доказательство того, что и целиком весь мозг человека можно успешно подвергнуть криоконсервации (см. дискуссию к статье Lemler et al., 2004, где работа Пичугина с соавторами цитируется как «*in press*»). Однако толщина срезов гиппокампа в работе Пичугина с соавторами составляла всего 500 микрон. Не надо быть большим специалистом в криобиологии, чтобы понять, что успешно заморозить такой срез несравненно легче, чем заморозить целый мозг. Кроме того, критерии оценки жизнеспособности, применяющиеся в экспериментах по криоконсервации органов и тканей весьма субъективны и односторонни, что обсуждается в недавнем обзоре на эту тему (Pegg, 2006) и с чем мы, со своей стороны, вполне согласны. По мнению Пегга, большинство этих критериев не дает однозначного ответа на вопрос, является ли объект перенесший криоконсервацию «живым» или же «мертвым». Это в полной мере можно отнести и к цитируемой работе Пичугина с соавторами. Применявшийся в данной работе критерий жизнеспособности – способность клеток, перенесших криоконсервацию, поддерживать высокие концентрации внутриклеточного калия еще недостаточен, чтобы утверждать о том, например, что нейронные процессы в этих срезах будут протекать точно так же, как и до заморозки. Тем не менее, эта работа является, на наш взгляд, несомненным

достижением и показывает, что потенциал методов криобиологии еще далеко не исчерпан, и следует ожидать интересных открытий и в будущем.

4. Вместо заключения

Большинство известных криобиологов скептически относятся к идеям крионики, а особенно к современным попыткам применения этих идей на практике. Одной из причин такого скептицизма является то, что возможность «оживления» крионавтов никогда не была подтверждена экспериментально. Другой причиной является то, что крионика использует те же «методы», что и криобиология. Для людей, которые не имеют специального медицинского или биологического образования, слова «криобиология» и «крионика» звучат почти одинаково, и этим людям необходимо специально объяснять, что криобиология базируется на выверенных экспериментом фактах и строгим математическом аппарате, а крионика лишь использует методы криобиологии для достижения заманчивых целей «бессмертия», реальность достижения которых никто не доказал.

Следует отметить, что кроме биологической стороны у крионики есть множество юридических, моральных и этических аспектов, обсуждение которых не является задачей нашей публикации. В качестве примера можно упомянуть, что в своей книге Эттингер обсуждает вопрос о том, следует ли считать брак расторгнутым, если один из супругов был подвергнут криоконсервации, или же считать живого супруга и крионавта по-прежнему состоящими в браке. Познакомиться с дискуссией по многочисленным юридическим, моральным и этическим вопросам крионики можно по книге Эттингера (Ettinger, 1964), которая, кроме всего прочего, хорошо написана и, на наш взгляд, прочтение этой книги безусловно интересно с точки зрения знакомства с законченным и ярким произведением литературы, не говоря уже о том, что жизнь и личность самого автора книги (Роберта Эттингера) не может не вызывать уважения, как бы не относиться к основанной им крионике.

Практические услуги по «достижению бессмертия» вплоть до самого последнего времени оказывались лишь в США, главным образом в фирме Алькор и Институте Крионики, причем эти услуги нельзя назвать дешевыми. Для того, чтобы, в конце концов, подвергнуться заморозке в Институте Крионики, будущий крионавт должен вначале стать членом этого института. Цена процедуры заморозки будет либо 28.000 либо 35.000 долларов США в зависимости от величины взноса, который заплатит человек при вступлении в члены этой организации. Однако названная цена не включает некоторые услуги, например транспортные, которые оплачиваются отдельно. Институт Крионики предоставляет своим членам лишь услугу по полной заморозке, практика заморозки только мозга («нейро») в этой организации отсутствует. Другая фирма, которая на сегодняшний день является лидером в области практической крионики – это упоминавшаяся выше фирма Алькор. Стоимость полного комплекса процедур по заморозке тела составляет в Алькоре 150.000, а стоимость заморозки только мозга (внутри головы), то есть услуга «нейро» составляет 80.000 долларов США.

На сегодняшний день в Институте Крионики поддерживается при температуре жидкого азота около 75 крионавтов, а также около 40 их питомцев (кошек и собак). Алькор также сохраняет в жидком азоте около 75 крионавтов, причем большая часть их находится в состоянии «нейро». В этой связи можно озвучить вопрос, который уже поднимался 5 лет назад на страницах такого уважаемого отечественного периодического издания, как журнал «Химия и жизнь». Именно на страницах этого журнала известные криобиологи из Харьковского Института Криобиологии и Криомедицины Академии Наук Украины напрямую поставили самый главный вопрос: «проснутся» ли «замороженные»? Ответ профессиональных криобиологов был весьма скептическим (Бабийчук, Грищенко, 2001). Несмотря на впечатляющий прогресс в деле создания криобанков не только клеток и эмбрионов, но и органов, который наблюдался за 5 лет, прошедших со времени упомянутой публикации, мы разделяем этот скептицизм в отношении реалистичности оживления крионавтов даже в будущем. Эта цель остается и в наши дни, по-прежнему, такой же иллюзорной, как она была более 40 лет назад во время написания Эттингером его книги. Современные методы репродуктивной биологии и репродуктивного клонирования позволяют получить потомство не только от живого, но и от мертвого животного, однако эти возможности не являются предметом крионики, которая ориентирована исключительно на сохранение «личности», что на практике сводится к заморозке человеческого тела и,

прежде всего, головного мозга, где, согласно постулатам крионики, сосредоточен основной жизненный опыт и «индивидуальность» того или иного человека. Не вызывает, однако, сомнения, что успешная заморозка и криоконсервация головного мозга не представляется возможным при современном уровне развития технологий.

Что же все-таки такое крионика, если рассматривать это сложное явление на простой оси «хорошо–плохо»? Хорошо ли, что люди, которые верят в научно-технический прогресс и в то, что у крионики есть будущее, инвестируют достаточно крупные суммы в «криоконсервацию» своих тел? Следует сказать, что существует достаточно много людей по всему земному шару, которые инвестируют часть своих средств в рискованные предприятия; таким образом, крионика не является в этом смысле уникальным явлением. Можно достаточно уверенно говорить о том, что у тех крионавтов, которые были заморожены до сих пор, шансы быть «оживленными» нулевые. Однако через несколько веков или тысячелетий они могут оказаться очень хорошим свидетельством того, что из себя представляли люди в XX–XXI веках, поскольку морфологическая структура этих тел будет сохранена в жидком азоте очень хорошо. Следует отметить, что в наше время у антропологической науки имеется интерес к нашим предкам, жившим в доисторические времена. Об этом свидетельствует, например, целая серия научных работ в связи с обнаружением так называемого «ледяного человека», погибшего около 5300 лет назад и прекрасно сохранившегося в замороженном состоянии во льду. «Ледяной человек», случайно обнаруженный в Альпах в 1991 году, был всесторонне исследован с применением всех доступных в наше время научных методов, и имеется обширная литература, посвященная этому редкому свидетельству прошлых тысячелетий (см., например, Murphy et al., 2003 в качестве обзора). Сохранение в жидком азоте морфологической структуры тела гораздо эффективнее, чем во льду, поэтому хранящиеся в сосудах Алькора и Института Крионики крионавты могут оказать неопределимую услугу антропологической науке будущего.

Старение, по современным представлениям, это прогрессивно нарастающий дефицит функции клеток и органов, что приводит к таким болезням, как рак, сердечно-сосудистые заболевания и нейро-дегенеративные расстройства (Culter, Mattson, 2006). По мере улучшения условий жизни, снижается смертность, уменьшается эволюционное давление на выживание и репродукцию в молодом возрасте, что повышает продолжительность жизни и жизненные запросы. Возрастание понимания тех процессов, которые приводят к старению, могут помочь продлить «здоровую старость» (Westendorp, 2006). Некоторые перспективы частичного омоложения являются многообещающими, однако их описание выходит за рамки этой небольшой статьи, посвященной крионике, стремящейся не к здоровой старости, а к продлению человеческой жизни за пределы старости и за пределы существующей эпохи. Цель данной публикации заключалась в обзоре криобиологических достижений, а также базовых идей, на которых зиждется крионика. При этом мы исходили из нашего собственного понимания основ криобиологии и крионики и опыта применения некоторых методов криобиологии в нашей собственной практике работы над созданием криобанков эмбрионов. Надеемся, что эта публикация окажется полезной для понимания крионики и поможет сориентироваться в потоке информации на эту тему, который можно найти в изобилии, например, на бескрайних просторах интернета.

Литература:

Амстиславский С.Я. *Межвидовая трансплантация эмбрионов и клеточных ядер как подход к сохранению исчезающих видов млекопитающих*. Онтогенез. 2006 (а). Т. 37. С. 3–11.

Амстиславский С.Я. *Детеныши иного вида*. Химия и жизнь – 21 век. 2006(б). № 9. С. 8–13.

Бабийчук Г.А., Грищенко В.И. *Проснутся ли «замороженные»? Криобиология: настоящее и будущее*. Химия и жизнь – 21 век. 2001. № 5. С.8–12.

Amstislavsky S., Lindeberg H., Aalto J., Jarvinen M., Valtonen M., Kizilova E., Zudova G., Ternovskaya Yu. *Embryo cryopreservation and transfer in Mustelidae: Approaches to ex situ conservation of endangered European mink*. International Journal of Refrigeration. 2006 (а). 29: 396–402.

Amstislavsky S., Kizilova E., Ternovskaya Y., Zudova G., Lindeberg H., Aalto J., Valtonen M. *Embryo development and embryo transfer in the European mink (Mustela lutreola), an endangered mustelid species*. Reprod. Fertil. Dev. 2006 (b). 18(4):459–467.

Carpenter M. *Cryonics: Cheating death or just freezing it?* 2003. <http://www.students.emory.edu/HYBRIDVIGOR/cryonics.htm>.

Cutler R.G., Mattson M.P. *Introduction: The adversity of aging*. Aging Research Reviews. 2006. 5: 221–238.

- Dobrinsky J.R. *Advancements in cryopreservation of domestic animal embryos*. Theriogenology. 2002. 57(1): 285–302.
- Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, van Langendonck A. *Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue*. Lancet. 2004.364(9443): 1405–1410.
- de Graaf I.A., Koster H.J. *Cryopreservation of precision-cut tissue slices for application in drug metabolism research*. Toxicol In Vitro. 2003. 17(1): 1–17.
- Ettinger R.C.W. *The prospects of Immortality*. Doubleday. New York. 1964. 177 P.
- Fahy GM, Wowk B, Wu J, Phan J, Rasch C, Chang A, Zendejas E. *Cryopreservation of organs by vitrification: perspectives and recent advances*. Cryobiology. 2004. 48(2): 157–178.
- Farrant J, Lee H, Walter CA. *Effects of interactions between cooling and rewarming conditions on survival of cells*. Ciba Found Symp. 1977 Jan 18–20;(52):49–67.
- Hovatta O. *Cryobiology of ovarian and testicular tissue*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2003. 17(2): 331–42.
- Holt W.V., Pickard A.R., Prather R.S. *Wildlife conservation and reproductive cloning*. Reproduction. 2004. 127(3): 317–324.
- Hossmann K.A., Schmidt-Kastner R., Grosse P.B. *Recovery of integrative central nervous function after one hour global cerebro-circulatory arrest in normothermic cat*. J.Neurol.Sci. 1987. 77: 305–320.
- Isachenko E., Isachenko V., Katkov I., Dessole S., Nawroth F. *Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: from past practical difficulties to present success*. Reprod Biomed Online. 2003. 6(2): 191–200.
- Jacobsen I.A, Pegg D.E. *Cryopreservation of organs: a review*. Cryobiology. 1984. 21(4): 377–384.
- Kasai M., Mukaida T. *Cryopreservation of animal and human embryos by vitrification*. Reprod Biomed Online. 2004. 9(2):164–170.
- Leibo S.P., Songsasen N. *Cryopreservation of gametes and embryos of non-domestic species*. Theriogenology. 2002. 57(1):303–326.
- Lemler J., Harris S., Platt C., Huffman T. *The Arrest of Biological Time as a Bridge to Engineering Negligible Senescence*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2004. 1019: 559–563.
- Lindeberg H., Aalto J., Amstislavsky S., Piltti K., Jarvinen M., Valtonen M. *Surgical recovery and successful surgical transfer of conventionally frozen-thawed embryos in the farmed European polecat (Mustela putorius)*. Theriogenology. 2003. 60(8): 1515–1525.
- Loi P., Ptak G., Barboni B., Fulka J., Cappai P., Clinton M. *Genetic rescue of an endangered mammal by cross-species nuclear transfer using post-mortem somatic cells*. Nat Biotechnol. 2001. 19(10): 962–964.
- Luyet B., Hodapp E.L. *Revival of frog's spermatozoa vitrified in liquid air*. Proc Soc Exp Biol Med. 1938. 39: 433–435.
- Mazur P. *Slow-freezing injury in mammalian cells*. Ciba Found Symp. 1977. 20(52): 19–48.
- Mazur P. *Stopping biological time. The freezing of living cells*. Ann NY Acad Sci. 1988. 541: 514–531.
- Mobraaten L.E. *Mouse embryo cryobanking*. J In Vitro Fert Embryo Transf. 1986. 3(1): 28–32.
- Murphy WA , Nedden Dz D, Gostner P, Knapp R, Recheis W, Seidler H. *The iceman: discovery and imaging*. Radiology. 2003. 226(3): 614–629.
- Ogonuki N, Mochida K, Miki H, Inoue K, Fray M, Iwaki T, Moriwaki K, Obata Y, Morozumi K, Yanagimachi R, Ogura A. *Spermatozoa and spermatids retrieved from frozen reproductive organs or frozen whole bodies of male mice can produce normal offspring*. Proc Natl Acad Sci USA. 2006.103(35): 13098–13103.
- Pedro P.B., Yokoyama E., Zhu S.E., Yoshida N., Valdez D.M., Tanaka M., Edashige K. Kasai M. *Permeability of mouse oocytes and embryos at various developmental stages to five cryoprotectants*. J Reprod Dev. 2005. 51(2): 235–246.
- Pegg D.E. *The current status of tissue cryopreservation*. Cryo Letters. 2001. 22(2): 105–114.
- Pegg D.E. *The preservation of tissues for transplantation*. Cell Tissue Bank. 2006. 7(4): 349–358.
- Pichugin Y., Fahy G., Morin R. *Cryopreservation of rat hippocampal slices by vitrification*. Cryobiology. 2006. 52(2): 228–240.
- Polge C., Smith A.U., Parks A.S. *Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures*. Nature.1949. 164: 666.
- Polge C., Smith A.U., *Survival of spermatozoa at low temperatures*. Nature. 1950. 166 (4225): 668–669.
- Rall W.F., Fahy G.M. *Ice-free cryopreservation of mouse embryos at –196 degrees C by vitrification*. Nature. 1985. 313(6003): 573–575.
- Rowe A.W. *Primates: models for red cell transfusion studies – cryopreservation and survival of transfused cells in primates*. J Med Primatol. 1994. 23 (8). 415–425.
- Smith A.U. *Biological effects of freezing and supercooling*. 1961. Williams & Wilkons, Baltimor. USA.
- Thibier M. *The 1997 embryo transfer statistics from around the world: a Data Retrieval Committee report*. Embryo Transfer Newslett. 1998. 16: 17–20.
- Thibier M. *A contrasted year for the world activity of the animal embryo transfer industry*. A report from the IETS Data Retrieval Committee. Embryo Transfer Newslett. 2002. 20: 13–18.

Watson P.F. *The causes of reduced fertility with cryopreserved semen*. *Animal Reprod Sci.* 2000. 60–61. 481–492.

Westendorp R.G. *What is the healthy aging in the 21st century*. *Am J Clin Nutr.* 2006. 83(2): 404S–409S.

Wilmut I. *The low temperature preservation of mammalian embryos*. *J Reprod Fertil.* 1972. 31(3): 513–514.

Whittingham D.G., Leibo S.P., Mazur P. *Survival of mouse embryos frozen to –196 degrees and –269 degrees C*. *Science.* 1972. 178(59): 411–414.

Wusteman M.C., Pegg D.E., Wang L.H., Robinson M.P. *Vitrification of ECV304 cell suspensions using solutions containing propane-1, 2-diol and trehalose*. *Cryobiology.* 2003. 46(2): 135–145.

Wusteman M., Robinson M., Pegg D. *Vitrification of large tissues with dielectric warming: biological problems and some approaches to their solution*. *Cryobiology.* 2004. 48(2): 179–189.

© 2007 Сергей Амстиславский, Сюзанна ла Фальци (текст)