

Холодное сердце: как работают технологии криозаморозки



Криокосмонавты, проспавшие десятки лет на пути к отдаленной звездной системе, — частая тема в книгах научных фантастов. Сегодня технологии криоконсервации развиваются очень стремительно — неужели человечество полетит к звездам? Рассказываем о крионике, криобиологии и других «крио» в нашей статье.

Этот текст — часть гйда «Ничего невозможного», в котором мы вместе с учёными разбираемся, какие из технологий давно перестали быть фантастикой, а какие навсегда останутся только в книгах и фильмах.

— Пожилой профессор был готов к любому исходу событий и лег отдохнуть от своих трудов, упиваясь колоссальными, беспрецедентными результатами, которых он сможет достичь. Его тело никогда не разрушится; и никогда его кости не побелеют, чтобы вернуться в прах земной, из которого все люди изначально пришли и в который они должны вернуться. Его тело прекрасно сохранится миллионы лет, не тронутое седой дланью того времени, которое могут вообразить себе только геологи и астрономы».

Повесть «Спутник Джеймисон», Нил Джонс

О чем эта цитата?

Заморозка людей — излюбленная тема фантастов. Специальные камеры для долгосрочного хранения человеческих тел регулярно упоминаются в литературе и кино. Иногда заморозка происходит случайно, в результате сильного обморожения человека. Этот образ встречается как в серьезных фильмах, таких как «Бегство мистера Мак-Кинли», «Аватар» Джеймса Кэмерона, новые фильмы франшизы «Чужой» Риддли Скотта, так и в сатирических произведениях: фильме «Идиократия», сериалах «Южный парк» и «Футурама».

Особую роль в череде произведений о криоконсервации было суждено занять рассказу Нила Джонса «Спутник Джеймисон». Главный герой этого рассказа, профессор Джеймисон, отправляет своё тело на орбиту Земли с целью заморозить себя в космосе и дожить до далекого будущего. Ему это удастся, и спустя миллионы лет раса механизированных людей подбирает Джеймисона и возвращает к жизни.

В возрасте 12 лет с этим рассказом познакомился Роб Эттингер, ставший впоследствии главным популяризатором крионики.

Крионика — это учение, согласно которому тела погибших людей возможно заморозить и вернуть к жизни в далеком будущем, когда технологии позволят исправить любые дефекты организма. Научное сообщество считает крионику лженаучным учением, а предоставление услуг по замораживанию погибших людей — шарлатанством. Практикующие крионику организации требуют очень больших денег за свои услуги. К примеру, в России замораживание тела целиком обойдется приблизительно в 36 000 долларов, головного мозга — в 15 000 долларов. Сохранить ДНК (для последующего гипотетического клонирования) — 900 долларов.

Роб Эттингер также является в каком-то смысле писателем-фантастом: в 1964 году вышла его книга «Перспективы бессмертия», где он постарался изложить свое видение того, каким образом технология криоконсервации в сочетании с другими изобретениями будущего сможет навсегда изменить человеческое общество. Несмотря на многие художественные достоинства, с реальной наукой она имеет мало общего. К обозначенным Эттингером горизонтам криобиологии ещё долго не подобраться.

Это возможно?

Криоконсервация — это действительно существующий в криобиологии способ хранения биологических объектов при температуре жидкого азота $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Криоконсервация считается успешной, если объект полностью сохранил свою жизнеспособность после размораживания. О том, зачем учёные на самом деле замораживают живые клетки и организмы, проект [ПостНаука](#) спросил криобиолога **Сергея Амтиславского**.

Эксперименты с понижением температуры хранения биологических образцов начались в XX веке и никогда не ставили целью замораживание человека или других животных целиком. Одним из первопроходцев в этой области стал русский учёный Илья Иванов, специалист в области искусственного осеменения. В ходе своей работы в 1910–1920-х годах он неоднократно прибегал к охлаждению семени лошадей до температур порядка $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Полноценная криоконсервация стала возможна после открытия **криопротекторов** — веществ, защищающих клетки от повреждающего эффекта замораживания. Они снижают температуру кристаллизации и защищают мембраны клеток. Первым известным криопротектором стал глицерин, защищающие свойства которого обнаружили британские учёные Кристофер Полдж, Одри Смит и Алан Паркс в 1949 году. Им удалось охладить сперматозоиды нескольких видов животных до температуры жидкого азота, а после этого разморозить и успешно осуществить искусственное осеменение. Благодаря этому открытию с середины XX века замораживание семени сельскохозяйственных животных широко распространилось во многих странах.

Научная база

Существует два подхода к криоконсервации биологических объектов. Первый из них — **программное замораживание**, основанное на открытиях и разработках Питера Мейзура и его учеников. Они установили, что при правильно подобранной скорости охлаждения насыщенного криопротектором биологического объекта внутриклеточные кристаллы льда, неизбежно образующиеся при охлаждении, будут достаточно маленькими, чтобы не рвать мембраны клеток.

Другой подход — **витрификация**. Впервые его начал разрабатывать коллектив учёных во главе с Бэзилем Льюэтом в 1930-х годах. Согласно их математическим расчетам, при очень

высоких концентрациях криопротекторов и резком снижении температуры объект сразу витрифицируется — переходит в стекловидное состояние, минуя фазу кристаллизации.

Перед началом заморозки необходимо насытить биологический образец криопротектором. Витрификация, однако, требует большей концентрации этих веществ. Затем образец помещается в некоторую ёмкость, где постепенно, в несколько этапов, пропитывается криопротектором.

После этого начинается процесс охлаждения. При программном замораживании используют фризера — аппарат, который постепенно понижает температуру биологического образца по заранее подобранной программе. Сначала охлаждение идёт со скоростью 1–2 градуса в минуту, затем, после так называемого сидинга, то есть начала индуцированной кристаллизации, охлаждение продолжают, но более медленно: температуру снижают на десятые доли градуса в минуту. Доведя образец до нужной точки (как правило, приблизительно до -30 – -45 °C), его погружают в криохранилище, наполненное жидким азотом, где он и находится до востребования.

Витрификация не требует наличия фризера — достаточно криопротектора, то есть ёмкости для хранения биологических образцов и источника жидкого азота. Образцы сразу погружаются в азот, из-за чего жидкости в них не превращаются в лёд, а мгновенно «стекленеют». Однако при кажущейся простоте этот вид криоконсервации требует высокого мастерства при выполнении: нужно вручную быстро погрузить объект в жидкий азот, не навредив замораживаемому объекту.



Сергей Амстиславский, доктор биологических наук, эмбриолог, заведующий сектором криоконсервации и репродуктивных технологий Института цитологии и генетики СО РАН:

— Современное исследование физиков из Института автоматики и электрометрии СО РАН, проведённое совместно с нами, показало, что при определенных условиях программного замораживания и при использовании французской соломины в качестве криоконтейнера не вся жидкость превращается в лёд: часть её стеклется и остаётся в этом аморфном состоянии. Это говорит о перспективах совмещения программного замораживания и

витрификации для снижения негативных эффектов от каждого из методов.

Технически процедура выведения из состояния криоконсервации сходна для программно замороженных и для витрифицированных объектов. Различается лишь скорость: витрифицированный объект нужно разморозить резко, а прошедший программную заморозку — более плавно. Для этого контейнер с образцом нужно просто нагреть: поместить в тёплую воду, подержать на воздухе при комнатной температуре или даже просто обдуть тёплым воздухом — в зависимости от того, как происходило охлаждение и на каком носителе или в каком контейнере была проведена криоконсервация. Работы основателя современной криобиологии Питера Мэйзура показали, что скорость нагревания образца не менее важная составляющая успеха криоконсервации, чем скорость охлаждения. При витрификации нагревание должно происходить очень быстро. Если этого не сделать, образуются кристаллы льда, и клетки могут погибнуть.

В 2017 году группе исследователей из лаборатории Джона Бишофа удалось успешно криоконсервировать зародыши рыб данио-рерио, что не удавалось сделать раньше из-за особенностей строения их оболочек. Их охладили до температуры жидкого азота со скоростью 90 тысяч градусов в минуту, а для разогрева использовали луч лазера, который ударил по зародышу в самый момент его извлечения из жидкого азота. Наночастицы золота в криопротекторе помогли сделать разогрев «объёмным» и практически мгновенным — 14 миллионов градусов в минуту.

После размораживания необходимо избавиться от криопротекторов. Практически все из них являются более или менее токсичными веществами, которые при положительных температурах могут привести к гибели биологического образца. К примеру, сам по себе глицерин в дозах, используемых в косметических средствах и в качестве пищевого эмульгатора, практически не вредит человеку. Однако в высоких концентрациях глицерин может нанести серьёзный ущерб здоровью человека. Биологический же объект, подвергавшийся заморозке, буквально пропитан этим веществом или другими проникающими внутрь клеток криопротекторами (этиленгликоль, пропиленгликоль или диметилсульфоксид). Кроме того, размораживаемый объект, как правило, очень сильно обезвожен после воздействия криопротектора, поэтому его необходимо «отмыть», одновременно позволив насытиться влагой.

Эксперименты

Основное поле деятельности современной криобиологии — это заморозка половых клеток живых организмов, а также их эмбрионов. Эти объекты достаточно простые, чтобы без последствий справиться с резким и сильным перепадом температуры. Но даже с ними существуют трудности: так, ооциты (женские половые клетки) гораздо труднее консервировать, чем сперматозоиды, а эмбрионы являются уже полноценными многоклеточными организмами, к которым у ряда позвоночных животных не так просто подобрать подход.

Большой спрос на эту технологию есть среди специалистов, занятых работой с животными. Ключевая задача, решаемая с помощью криоконсервации, — сохранение биологического разнообразия. Многие виды диких млекопитающих сегодня находятся на грани вымирания, и далеко не для всех из них существует среда, где они могли бы самостоятельно выжить. С целью сохранения генетических ресурсов этих видов животных по всему миру создаются криобанки — комплексы похожих на бочки хранилищ, наполненные жидким азотом. В них размещаются стеллажи, в которых хранятся контейнеры с биоматериалом. Криобанки нужны для хранения половых клеток и эмбрионов животных, а также для некоторых других типов клеток.

Криоконсервацию также используют для оптимизации работы вивариев с лабораторными животными. В настоящее время уже существуют тысячи различных линий мышей и крыс, в перспективе их будет ещё больше, и уже сейчас без криоархивирования не обойтись. В крупных генетических центрах многие линии мышей сохраняют в виде сперматозоидов и эмбрионов. Лишь наиболее часто используемые экспериментаторами линии держат в виде живых коллекций.

Криоконсервация пригодилась для селекции. Замораживая генетический материал, можно законсервировать и использовать большие запасы половых клеток особей с выгодными характеристиками: большей плодовитостью, большим весом, повышенной скоростью роста шерсти и так далее.

Сегодня также популярны криобанки, предоставляющие услуги по хранению половых клеток человека. Однако цели у этих банков сугубо репродуктивные.

В криобиологии остается много нерешённых задач. К примеру, до сих пор не найдено эффективных способов замораживания эмбрионов и личинок амфибий и рыб. Именно

поэтому в 2017 году работа американских учёных, показавшая возможность витрификации эмбрионов рыбки данио-рерио, стала прорывной. Трудности могут возникнуть и при работе с млекопитающими, хотя для многих из них уже имеются надёжные способы криоконсервации гамет и эмбрионов. Например, эмбрионы и ооциты диких кошек или домашних свиней — проблемные объекты из-за высокого содержания липидных гранул. Липиды играют ключевую роль в поддержании работы системы питания клеток, понижение же температуры влияет на агрегатное состояние липидных гранул, что может нарушать обмен веществ и ведёт к гибели клеток.

Ведётся много исследований, цель которых — научиться охлаждать и в перспективе замораживать более крупные биологические объекты — органы и ткани. Уже удалось охладить почку кролика до $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$, после чего она сохранила функциональность и была успешно трансплантирована.

Результаты другого впечатляющего опыта были опубликованы в 2006 году. Авторы исследования продемонстрировали, что клетки гиппокампа мозга крысы способны сохранить жизнеспособность после витрификации. Результаты эксперимента, однако, были неоднозначны. Во-первых, охлаждению были подвергнуты очень тонкие срезы мозга, толщиной всего лишь 500 микрон. Во-вторых, в качестве критерия жизнеспособности была выбрана способность поддерживать высокий уровень внутриклеточного калия, из чего необязательно следует нормальное функционирование нервных клеток и поддержание связей между нейронами.

Эти успехи впечатляют, что в очередной раз ставит вопрос: настолько мечта Роба Эттингера о криоконсервации человека или хотя бы его мозга осуществима в обозримом будущем?

Каких открытий не хватает, чтобы это стало реальностью?

Заморозить человека не получится. На самом деле криоконсервация сегодня неприменима не только к людям, но и к подавляющему числу многоклеточных организмов. Пока успешно заморозить удалось только круглого червя *Caenorhabditis elegans* (и некоторых других мелких паразитических червей), а также свободно плавающие личинки нескольких видов кораллов, маленьких по размеру и не отличающихся сложным строением организма.

Основное препятствие для заморозки больших и сложных существ — многообразие типов клеток и тканей в организме. Межклеточные контакты очень чувствительны к любому рода воздействиям, поэтому необходимо потратить очень много времени и сил на то, чтобы научиться не повредить взаимодействие клеток в органах и тканях при криоконсервации. К каждому типу клеток нужен свой подход, и иногда оптимальные режимы криоконсервации для них различаются. Если не учесть все это, успешное замораживание отдельных органов и организмов окажется невозможным.

Сложно сказать, когда эта задача станет осуществимой, однако ключом к решению проблемы может стать разгадка феномена анабиоза. Многие живые существа — личинки насекомых, моллюски, амфибии и рептилии — переживают холодный период в замороженном состоянии и «оживают» при наступлении более благополучных условий. Конечно, никто из них самостоятельно не достигал температуры тела в $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, но их способности все равно впечатляют. Лесная лягушка, когда впадает в зимнюю спячку, способна превращать 35 % жидкости в своём теле в лёд, переставая при этом дышать, питаться и даже «выключая» сердцебиение.

Вместе с этим известно, что понижение температуры тела человека также значительно замедляет его метаболизм и даёт шанс выжить в тяжелейших ситуациях. Самая впечатляющая история произошла с 35-летним японцем Мицутакой Утикоси в 2006 году. Заблудившись во время похода в горах с друзьями, он получил перелом таза и потерял

сознание. На месте происшествия он пролежал 24 дня. Но температура среды вокруг была достаточно низкой, из-за чего собственная температура тела Уतिकоси опустилась до 22 градусов. После оказания медицинской помощи пострадавший смог полностью восстановиться. Лечившие его врачи связывают это с тем, что по каким-то причинам Уतिकоси впал в состояние, близкое к спячке, что позволило ему так долго протянуть без еды и воды.

Учитывая эти факты, есть основания надеяться, что раскрытие секретов анабиоза позволит нам приблизиться, пусть и очень нескоро, к описанной в научной фантастике криоконсервации людей.

Стоит задуматься

Однако даже полное восстановление жизнедеятельности организма не гарантирует возвращения человека к жизни после оттаивания. На данный момент у нас недостаточно сведений о том, как работа мозга формирует личность человека. Сторонники крионики настаивают на том, что с прекращением электронной активности мозга не наступает его формальная смерть.

Поэтому если после криоконсервации восстановить активность, то человек вернется к жизни как ни в чем не бывало. Все же убедительных доказательств нет, и провести подтверждающий или опровергающий это эксперимент невозможно. Помимо технологического прорыва, для реализации замысла крионики нужна работа нейробиологов и философов сознания: им предстоит выработать критерии тождества личности, чтобы можно было гарантировать его полноценное возвращение к жизни. В противном случае мы рискуем получить либо живое тело без наличия тех или иных когнитивных процессов, либо какую-то новую личность с отрывочными воспоминаниями о прошлой жизни.

Источники:

[Холодное сердце: как работают технологии криозаморозки](#) – Новые знания (novznania.ru), Москва, 6 июля 2021.