

ЖИВАЯ МАТЕРИЯ ПРИ НИЗКИХ И СВЕРХНИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ



Содержание лекции:

- **Что происходит с клетками и тканями при глубоком охлаждении?**
- **Как нетеплокровные животные переживают полярные морозы?**
- **Криоконсервация клеток и тканей человека**
- **Криоконсервация органов?**
- **Криодеструкция в медицине**
- **Человеческий организм в состоянии глубокой гипотермии**
- **Крионика с точки зрения криобиологии**

Что происходит с клетками и тканями при глубоком охлаждении?

На уровне молекул

- Денатурация белков (холодовая и химическая)

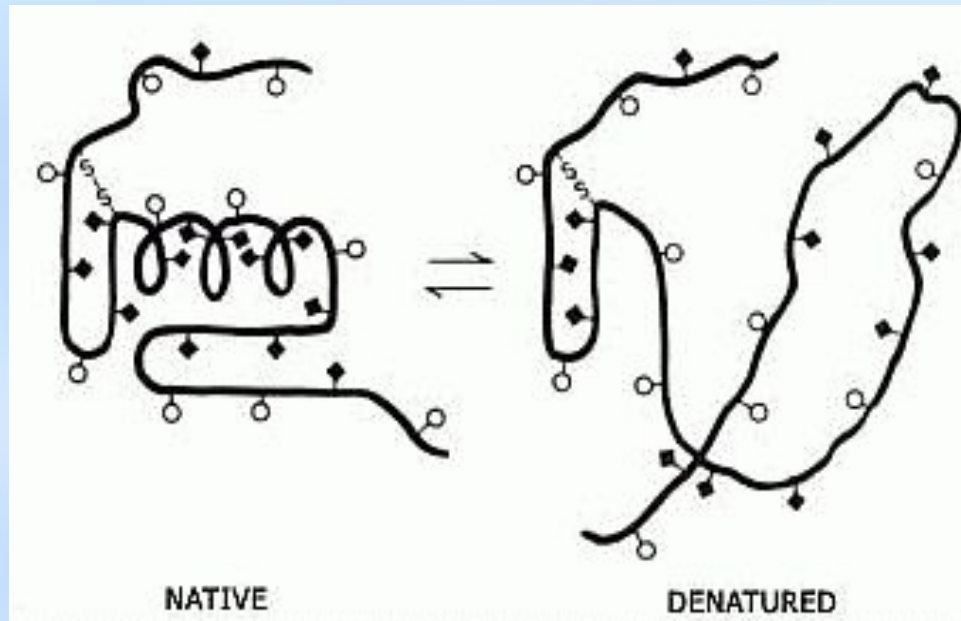
На уровне клеток

- Разрыв мембран

На уровне тканей

- Повреждение межклеточного матрикса
- Микро- и макротрещины

Денатурация белков



- Тепловая
- Барическая
- Радиационная
- ...
- Холодовая
- Химическая

У них тепловая денатурация
наступает уже при +6°C

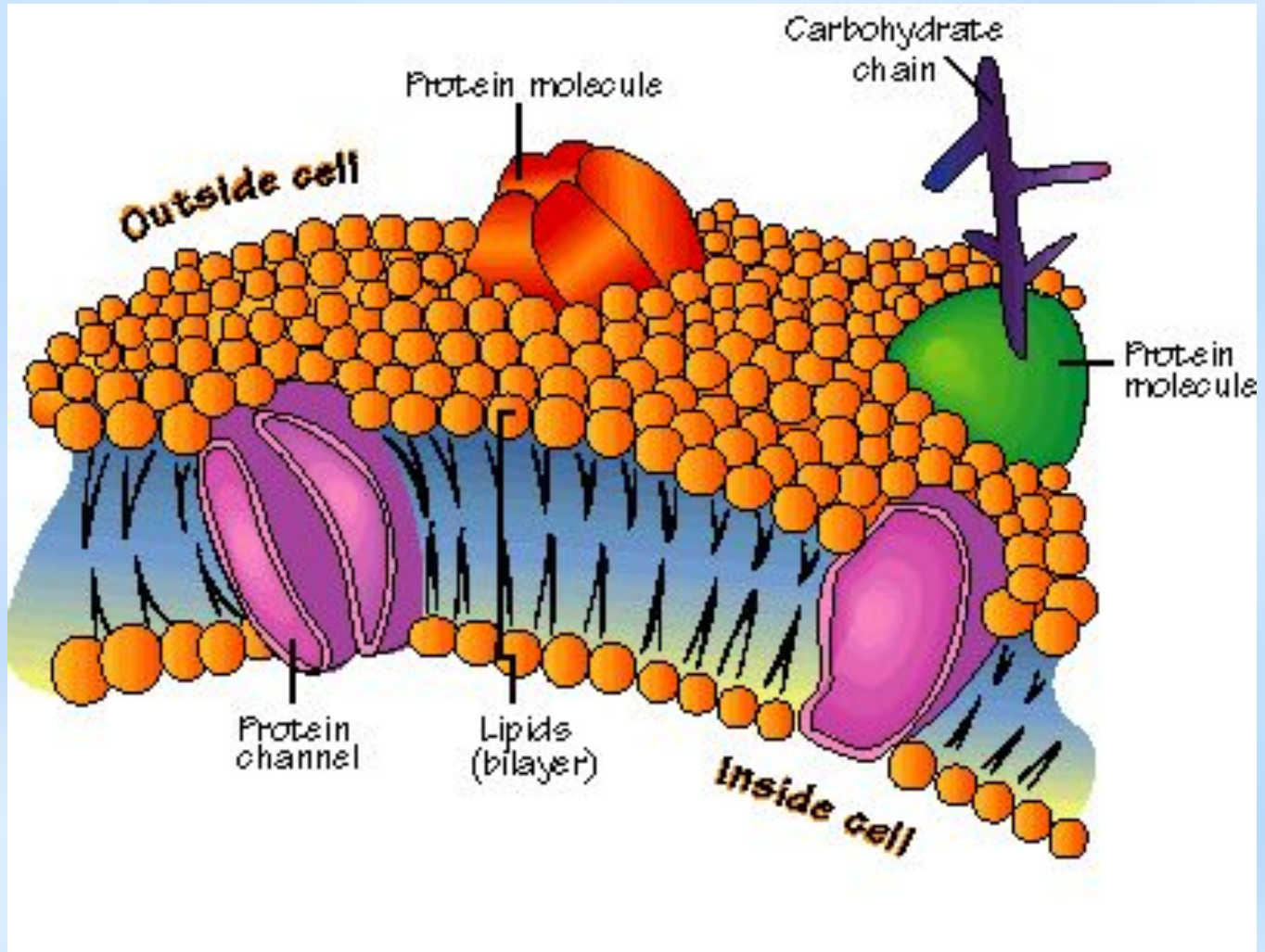


◀ «Снежная блоха» -
ногохвостка *Hypogastrura
nivicola*

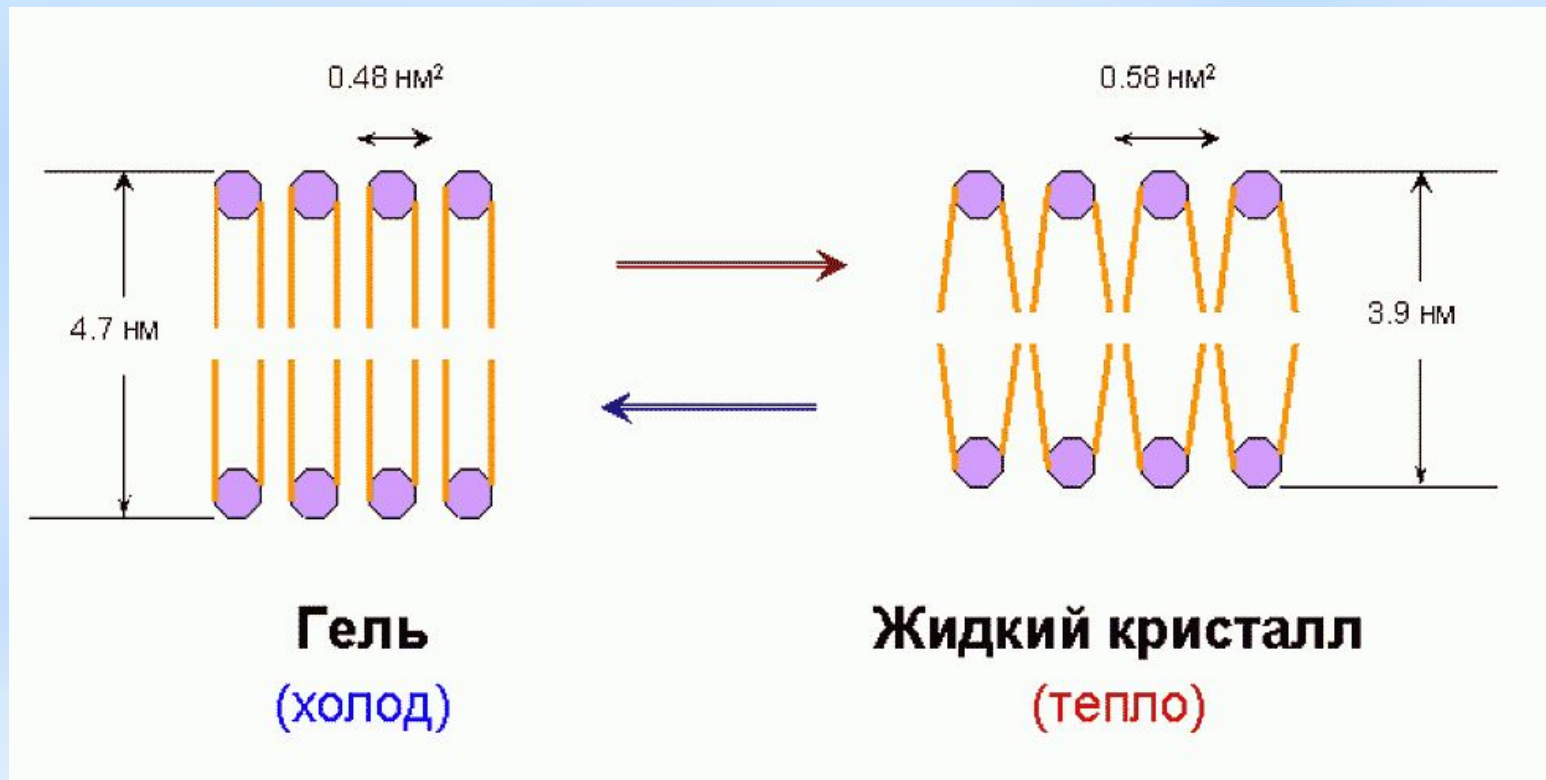
Гололобая антарктическая
нототения *Notothenia neglecta* ▶



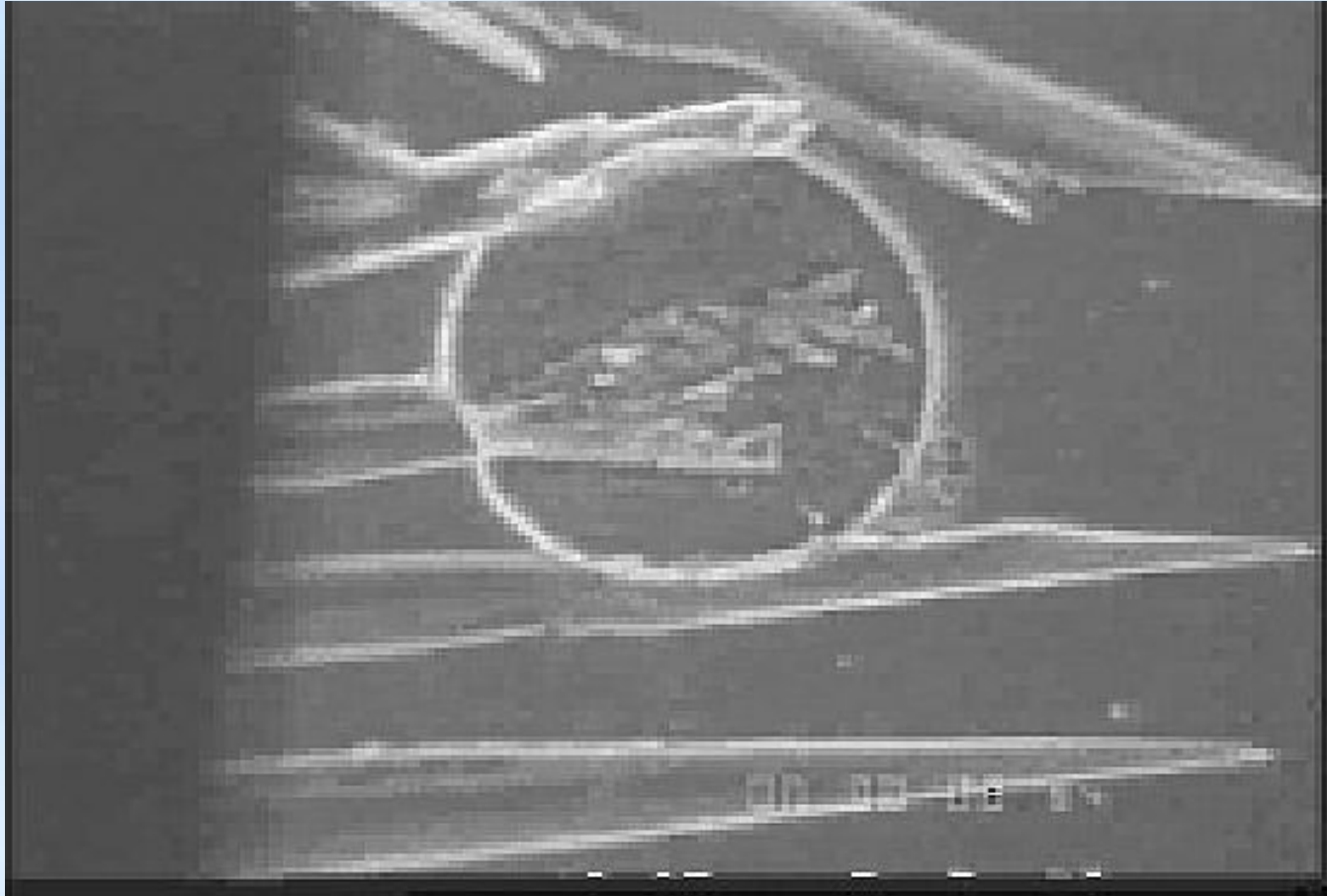
Строение клеточной мембраны



Фазовый переход в мембране



Разрыв клеточных мембран кристаллами льда

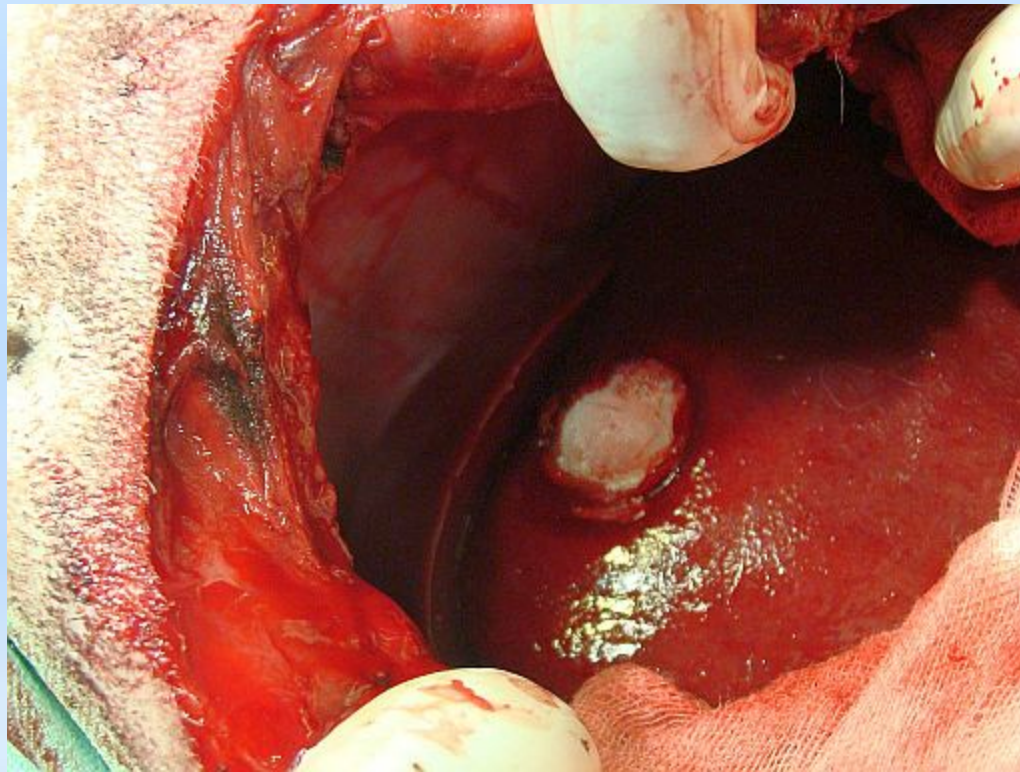


Криодеструкция в медицине



**Результат криодеструкции гемангиомы у ребёнка
(фото с сайта Медицинского Центра
онкологии и детской онкологии, СПб)**

Криодеструкция очага опухоли в печени собаки



ВКМ-каркасы органов крысы



◀ Печень (в одну из долей введён краситель; видна сеть кровеносных сосудов)

Лёгкие ▶



Как нетеплокровные животные переживают полярные морозы?



Сибирский углозуб *Salamandrella keyserlingii*

Замерзающая лягушка

Rana sylvatica



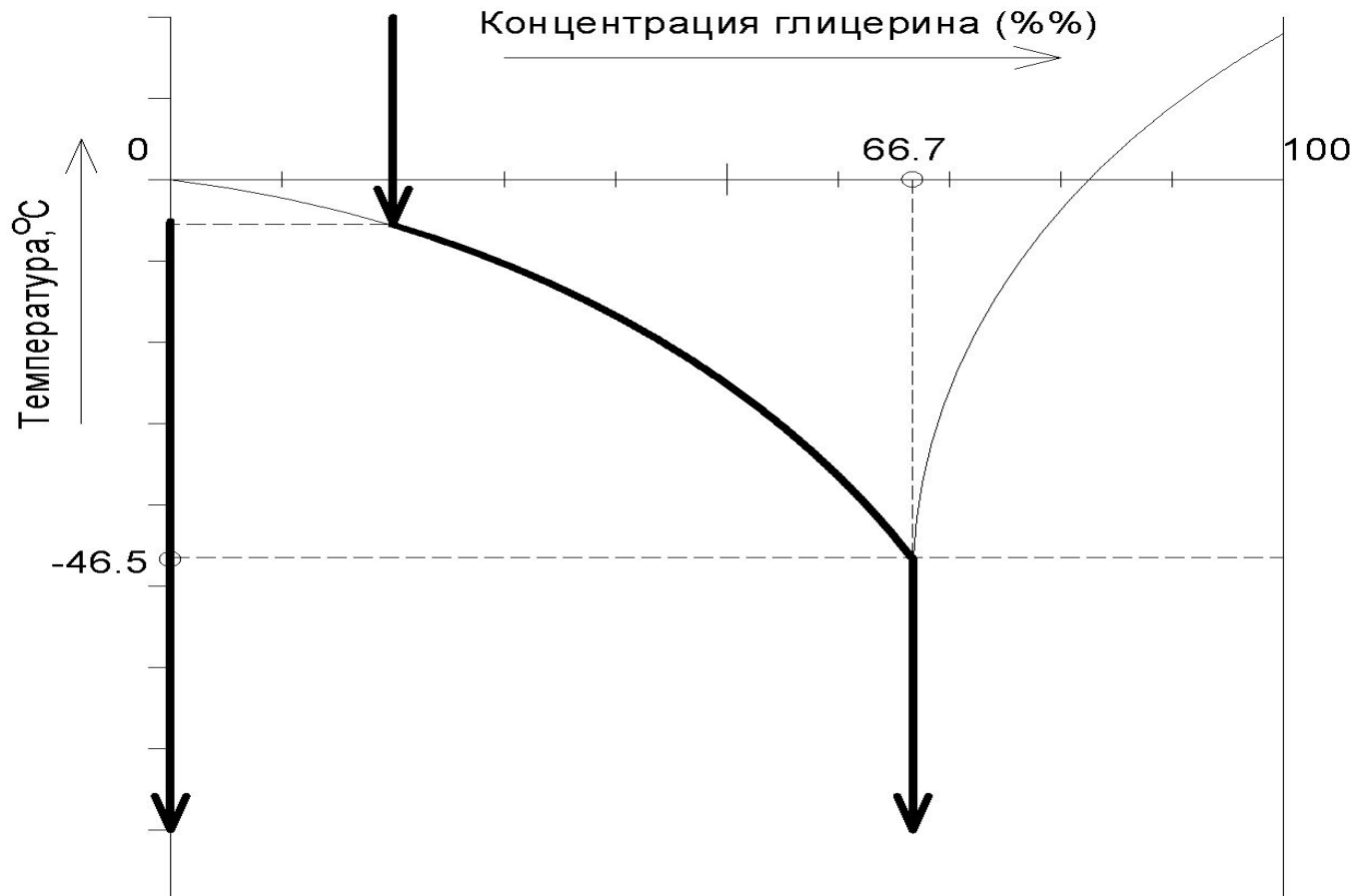
Животные - рекордсмены

Сибирский углозуб - ~90 лет ►



◀ *Коловратка - ~30 тыс. лет*

Механизм действия криопротекторов



Криоконсервация клеток и тканей человека и др. млекопитающих



В настоящее время успешно сохраняются:



- сперма
- кровь
- стволовые клетки
- Эмбрионы
- Ткани яичника,
тестикул
- роговица
- кожа
и др.

Дети, рождённые от матерей с ретрансплантированными яичниками



Мама – Квадра Туро



Её дочь Тамара

Некоторые криопротекторы

- Глицерин, этиленгликоль, пропиленгликоль
- ДМСО, ДЭСО
- этанол, метанол
- формамид, метилформамид
- пропандиол
- ...
- трегалоза, сахароза
- полиэтиленгликоль
- фиколл
- ...

Витрификация



**2 литра раствора M22 в состоянии витрификации
при $T = -124.4^{\circ}\text{C}$**

Криоконсервация эмбрионов человека и др. млекопитающих



Влияние криоконсервации

IVF babies born from frozen embryos are healthier than those from fresh ones

By LAUREN PAXMAN

UPDATED: 20:27 GMT, 6 January 2012



 **21** View comments

IVF babies born from frozen embryos are heavier and result in longer pregnancies than those born from fresh embryos, research suggests.

Freezing embryos enables couples to have several cycles of IVF with eggs collected during one round of treatment. By putting some on ice, couples can use up their fresh embryos before moving on to frozen ones at a later date.

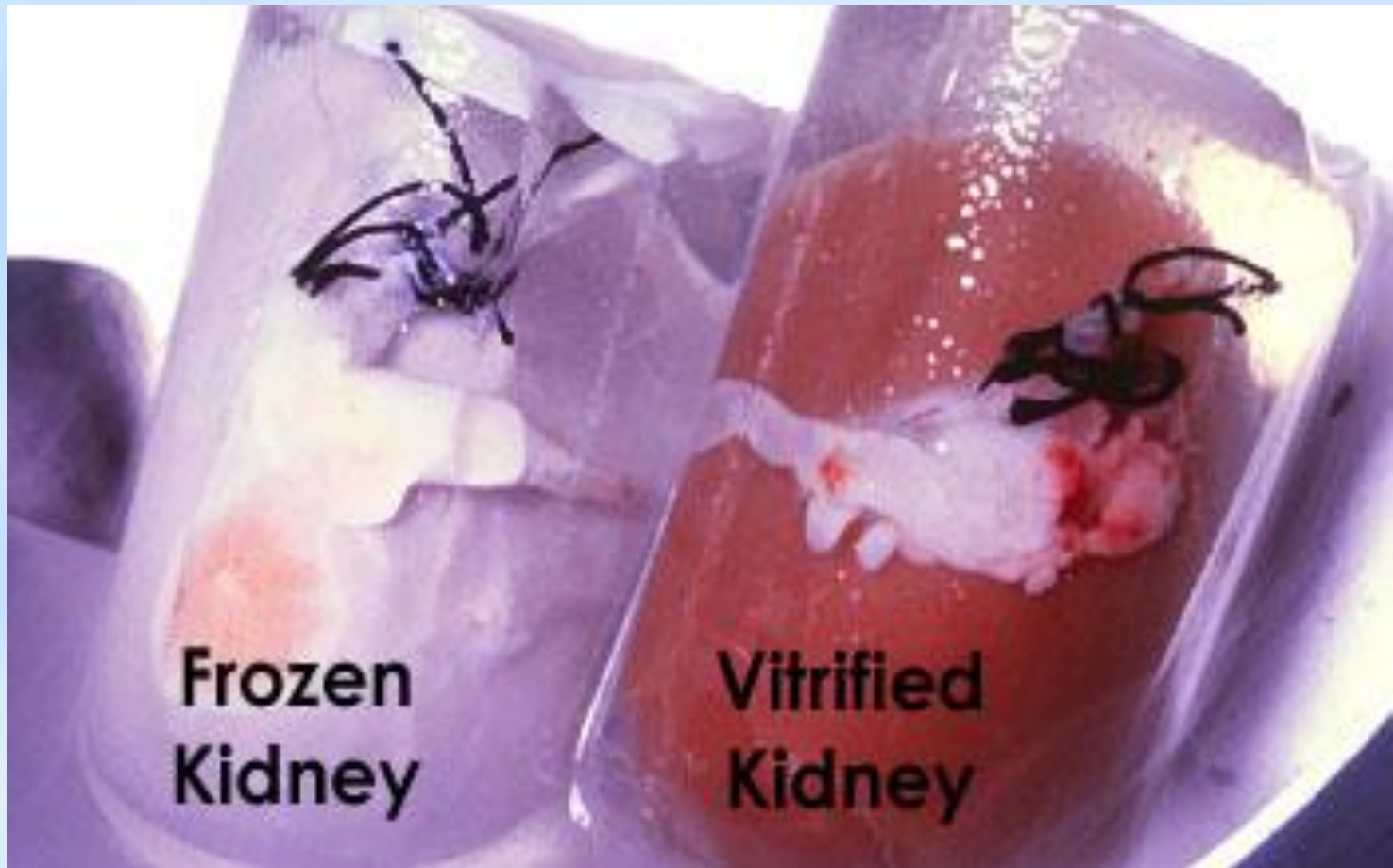
Today's research suggests frozen embryo transfer in IVF may lead to healthier babies, owing to a good birth weight and ability for the foetus to last the course of pregnancy without being premature.

Криоконсервация органов?

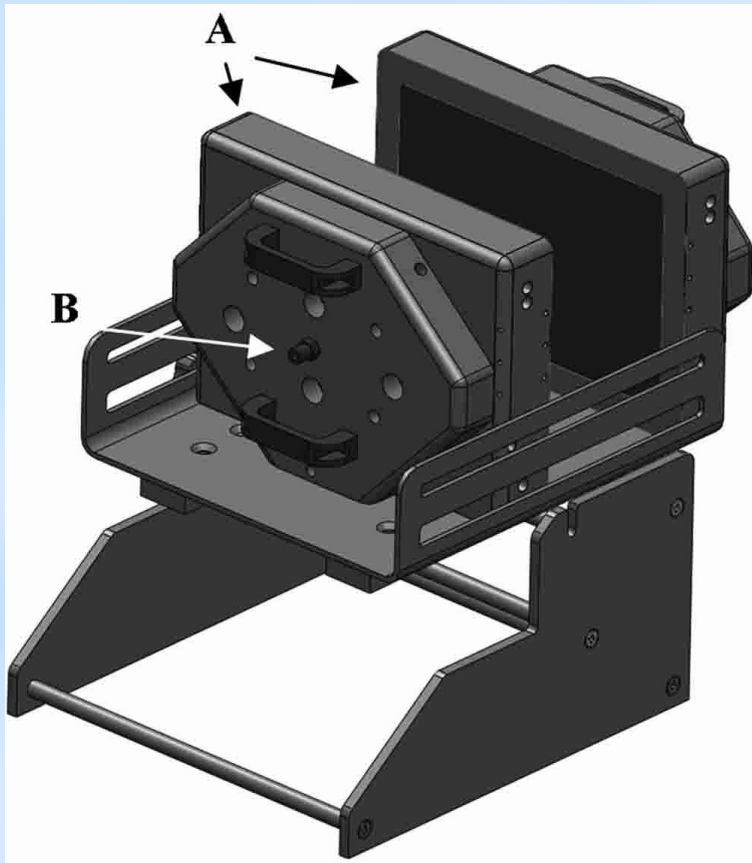
Создание банков органов для трансплантации позволило бы:

- Подбирать органы с высокой степенью гистосовместимости,
- Исключить возможность переноса при трансплантации возбудителей заболеваний,
- Обеспечить достаточное время для подготовки больного к операции

Обратимая витрификация почки кролика



Продемонстрировано обратимое замораживание целой печени



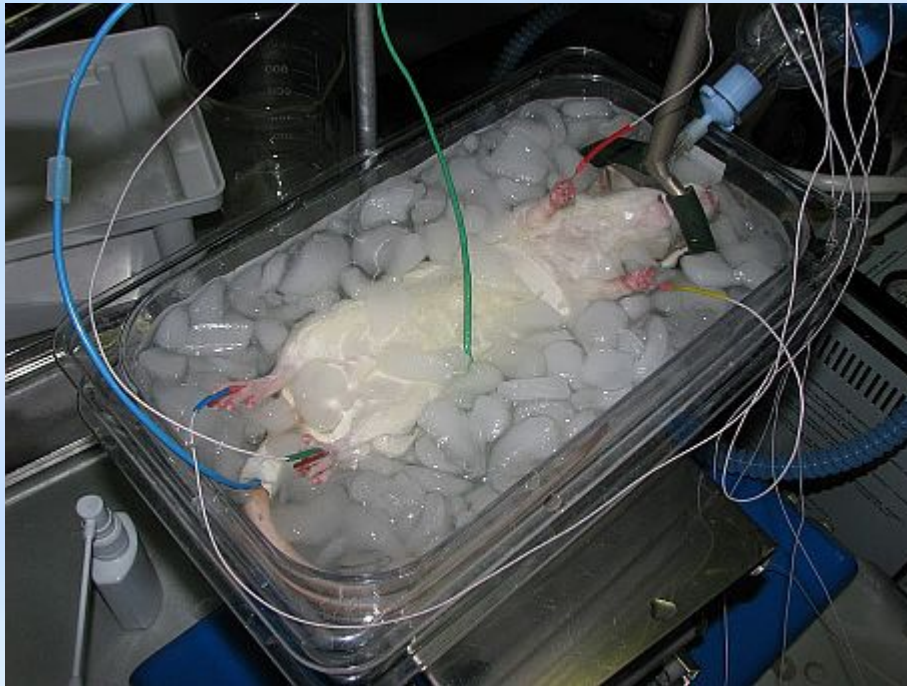
Израильские учёные разработали методику, позволяющую целиком обратимо замораживать крупные органы со сложной внутренней структурой. Технология была проверена на крысиной и свиной печени. После разморозки органы сохраняли более 80% жизнеспособности.

Ранее эта же группа продемонстрировала обратимое сохранение овечьего яичника, крысиных сердца и печени.

Перспективные, но неапробированные методы

- Использование высоких давлений в комбинации с адиабатическим охлаждением
- Использование ультразвука
- Использование СВЧ – полей
- Использование сверхсильных магнитных полей
- Использование инертных газов в качестве криопротекторов

Организм человека и др. млекопитающих в глубокой гипотермии



Стадии индуцированной гипотермии человека

1. Начальная гипотермия* (34-32°C)
2. Средняя гипотермия* (31-28°C; необходима при выключении сердца сроком до 10 минут)
3. Промежуточная степень гипотермии (27-20°C; практически не используется)
4. Глубокая гипотермия (19-8°C; применяют при необходимости выключения сердца на 60-120 минут и более)

* Эти две стадии часто объединяют термином «умеренная гипотермия»

Температура тела и старение

Температура тела и скорость старения у *пойкилотермных* животных

Зависимость скорости процессов метаболизма от температуры:

$$k = A e^{-E_a/RT}$$

- Уравнение Аррениуса

$$V_2 = V_1 \cdot \gamma^{\frac{T_2 - T_1}{10}}$$

- Правило Вант-Гоффа

У пойкилотермных животных (насекомые, рыбы и т. д.) снижение температуры ведёт к увеличению продолжительности жизни (и к замедлению развития).

Температура тела и скорость старения *у гетеротермных животных*

У гетеротермных животных снижение температуры приводит к снижению интенсивности метаболических процессов и росту ПЖ. Причем в определенных пределах рост ПЖ тем больше, чем ниже температура и продолжительнее торпор или гибернация, а животные, лишенные такой возможности, живут меньше. Так, если ПЖ обычной мыши не превышает 3-4 лет, то виды из этого же надсемейства, впадающие в спячку, могут дожить до 8 и более лет. Виды, впадающие в состояние ежедневного торпора и в зимнюю спячку, живут еще больше, например летучая мышь - до 18 лет.

В некоторых экспериментах снижение t° на

Температура тела и скорость старения у *гомойотермных* животных

Эпидемиологические и экспериментальные данные убедительно показывают, что смертность у старых *гетеротермных* животных при экстремальных температурных изменениях резко возрастает.

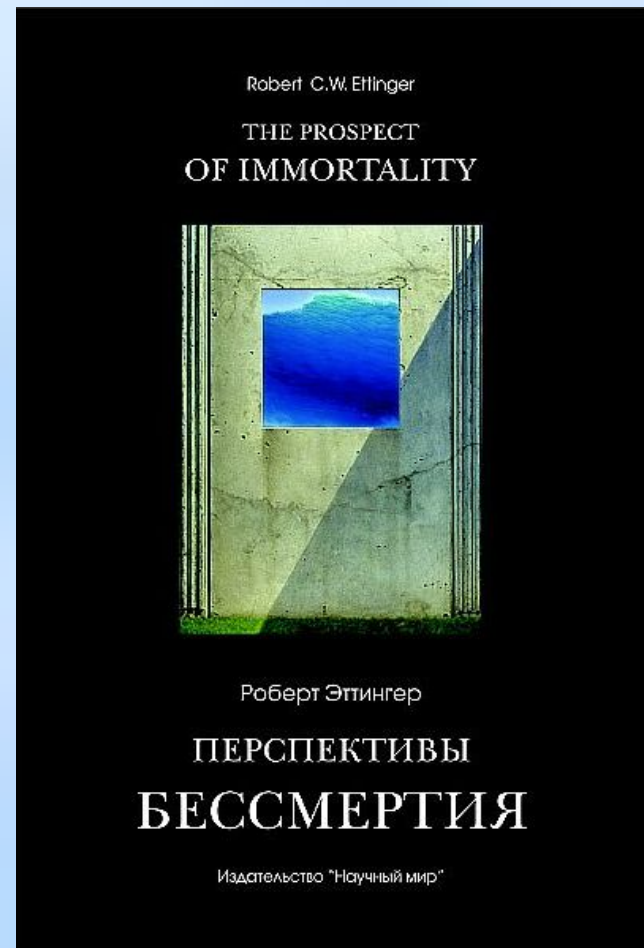
Известно, что у некоторых племен австралийских аборигенов, живущих в высокогорье, во время сна температура тела может снижаться до 33-35°C. Аналогичные сдвиги наблюдаются у корейских ныряльщиков из племени ама. Однако данные о повышенной ПЖ этих и других подобных групп людей отсутствуют.

В то же время, ряд повышающих ПЖ воздействий сопровождается некоторым

Крионика с точки зрения криобиологии



**Роберт Эттингер
1918-2011**



Джеймс Бедфорд

1893-1967



Исторические предшественники



Роберт Бойль
(1627-1691)



Порфирий Бахметьев
(1860-1913)

Аспекты крионики:

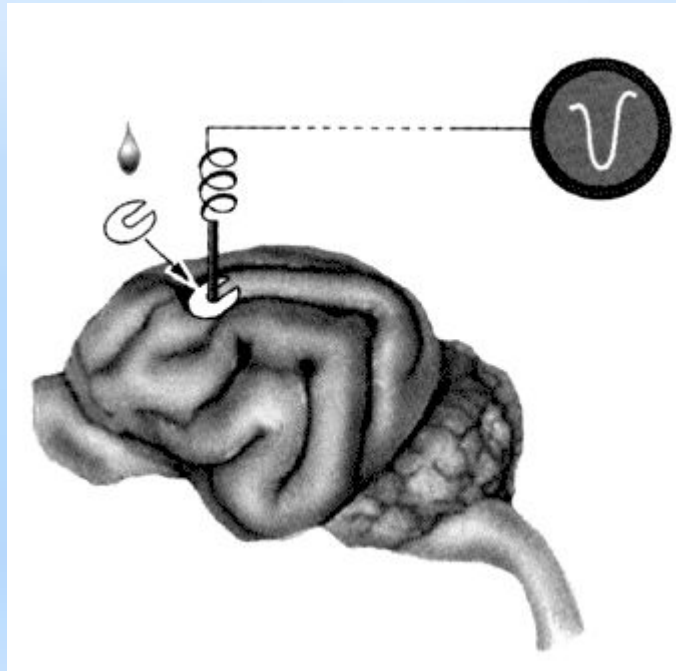
- **Философский**
- **Этический**
- **Правовой**
- **Финансовый**
- **Организационный**
- **Технический**
- **Религиозный**
- **Демографический**
- **Исторический**
- ...
- ***Естественнонаучный***

Исходное предположение:

- **Личность человека представляет из себя некоторый объём информации, материальным носителем которой является головной мозг.**

Отсюда возникает понятие «информационной смерти»: это такая степень разрушения головного мозга, при которой адекватное восстановление личности любыми, *мыслимыми на сегодня методами* представляется невозможным.

Эксперименты Суда (1966 г.)



**Головной мозг кошки
проявлял электрическую активность
после 1.5-7 мес. хранения при -18°C.**

Память у нематоды восстанавливается после глубокого замораживания



Persistence of Long-Term Memory in Vitrified and Revived C. Elegans
Dr. Natasha Vita-More and Mr. Daniel Barranco. Rejuvenation Research, ahead of print.

Основная идея:

- Впереди у человечества неограничено много времени для прогресса. Рано или поздно будет достигнуто всё, что в принципе возможно.
- На сегодняшний день мы не знаем фундаментального принципа, который запрещал бы восстановление личности по сохранённой конфигурации нейронных сетей.
- Отсюда задача: сохранить эту конфигурацию до времён, когда такое восстановление станет возможно – или будет доказано, что это невозможно.

Этапы крионического процесса:

1. Подготовительный (прижизненный)
2. Подготовительный (посмертный)
3. Замораживание
4. Хранение
5. Восстановление

Этап 2: посмертная подготовка:

2.1. Охлаждение (особенно, головного мозга)

2.2. Введение гепарина, тромболитиков, антиоксидантов, мембранопротекторов, ингибиторов апоптоза, хелаторов, антибиотиков и др.

2.3. Перфузия раствором криопротектора

Повреждения на этапах 2- 4:

1. Разрушение нейронов вследствие аутолиза, апоптоза и др.
2. Осмотический шок
3. Токсичность криопротектора
4. Холодовая денатурация белков
5. Повреждения кристаллами льда

Сохранение нейронов после остановки кровообращения

Выводы

1. Морфологические изменения нейронов, свидетельствующие о необратимом характере повреждений их ультраструктуры, появляются спустя 1,5 ч с момента аноксии резецированного участка головного мозга человека.

2. Начальные проявления аутолиза нейронов развиваются через 4 ч с момента аноксии резецированного участка головного мозга.

- М. К. Недзведь, С. В. Шелег и др., *Морфологические изменения коры головного мозга человека при длительной аноксии* – *Здравоохранение*, 7/2003 (Минск)

Modern resuscitation science will soon allow doctors to reanimate people up to 24 hours after their death according to doctor who is over twice as good at reviving cardiac arrest patients

by brian wang • July 30, 2013 • [original](#)

[Tweet](#) Death is not a fixed moment in time. Brain cells can take many hours to die. It is a misconception even among doctors that the body dies all at once. We are only a little dead when even an hour after the heart has stopped.

[Raising the dead may soon become medical reality. According to](#) critical care physician Sam Parnia, modern resuscitation science will soon allow doctors to reanimate people up to 24 hours after their death.

In the past decade we have seen tremendous progress. With today's medicine, we can bring people back to life up to one, maybe two hours, sometimes even longer, after their heart stopped beating and they have thus died by circulatory failure. In the future, we will likely get better at reversing death. We may have injectable drugs that slow the process of cell death in the brain and other organs. It is possible that in 20 years, we may be able to restore people to life 12 hours or maybe even 24 hours after they have died. You could call that resurrection, if you will. But

Последние достижения в крионике

- Восстановление сокращений сердца крысы после замораживания *in situ* (В. И. Тельпухов, П. В. Щербаков)
- Витрификация эмбриона человека (G. Fahy)
- Обратимая криоконсервация почки кролика (G. Fahy)
- Выживание более 90% клеток головного мозга крысы в экспериментах, имитирующих крионическое сохранение (Ю. Пичугин)
- Замораживание с обратной пересадкой фрагментов яичника человека
- Замораживание с обратной пересадкой яичника овцы, сердца крысы, печени свиньи (A. Arav)

Некоторые экспериментальные результаты, релевантные крионике

- Восстановление сокращений сердца крысы после замораживания *in situ* (В. И. Тельпухов, П. В. Щербаков)
- Витрификация эмбриона человека (G. Fahy)
- Обратимая криоконсервация почки кролика (G. Fahy)
- Выживание более 90% клеток головного мозга крысы в экспериментах, имитирующих крионическое сохранение (Ю. Пичугин)
- Замораживание с обратной пересадкой фрагментов яичника человека
- Замораживание с обратной пересадкой яичника овцы, сердца крысы, печени свиньи (A. Arav)

Восстановление (современные представления):

- 1. Восстановление головного мозга – наномедицинские технологии**
- 2. Восстановление остального тела при его криосохранении - наномедицинские технологии**
- 3. Восстановление остального тела при нейрокриосохранении – терапевтическое клонирование, инженерия тканей и органов, клеточная 3D-литография, протезирование, наномедицинские технологии**

Возможные наномедицинские технологии оживления:

- **«Ремонт» с помощью нанороботов**
K. E. Drexler, *Engines of Creation*, Chapter 9 «A Door to the Future» (1986)
Ralph C. Merkle, *The Molecular Repair of the Brain - Cryonics*, Vol. 15 No's 1 & 2, (1994)
- **Послойное сканирование с восстановлением**
Michael Soloviov, *Atomic Printers Or Time Estimation Of Atom-by-atom Brain Assembling - Longevity Report*, Volume 6 no 48 (1994)
- **Управляемый эмбриогенез**
Mikhail Soloviev, *Reanimation by Artificial Embryogeny - Longevity Report*, Volume 11 no 58 (1997)
- ...?

Три ключевых вопроса:

1. Возможно ли в принципе обратимо и надолго заморозить человека (или другое крупное млекопитающее)?
- Вероятно ...
2. Возможно ли сделать это *сейчас* так, чтобы реанимировать его с помощью технологий *обозримого будущего*?
- Не исключено ...
3. Возможно ли будет реанимировать человека, замороженного с применением *реальных* сегодняшних процедур?
- Есть надежда!

Что следует из неопределённости:

- *Гарантий, конечно, нет –
но попробовать стоит*

Спасибо за внимание!

