

" , wollt Ihr ewig leben ?" ... von der Kryonik zum ewigen Leben ?

Klaus H. Sames

Was ist Kryonik?

Kryonik will den Körper des Menschen lagern bis die Medizin in der Lage ist die Veränderungen rückgängig zu machen, die durch Altern, Krankheit und Sterben entstehen. Der Erfolg der Kryonik ist nicht zu garantieren. Sie ist aber das einzige Konzept, das die Lebensdauer des Menschen für heute Lebende verlängern könnte. Man wählt sie als einzige Chance, weil man dabei nichts verlieren kann, nicht weil man unbedingt an den Erfolg glaubt.

In Verträgen ist es juristisch sogar unerlässlich, dass der Patient zur Kenntnis nimmt, dass weder die zukünftige Wiederbelebung noch die Finanzierung in eine weiter entfernte Zukunft hinein garantiert werden können. Die Vertragspartner versprechen lediglich diese Leistungen mit allen geeigneten Mitteln anzustreben.

Da die Reanimation noch nicht möglich ist, verbietet sich heute die Kryonik am Lebenden. Der Tod muss abgewartet werden und damit meist die Folgen von Altern, Todesursachen und Sterben. Auch die Leichenschau muss beendet sein, so dass in Deutschland oft erst nach zwei Stunden gekühlt werden kann.

Wären da nicht andere Mittel der Lebensverlängerung wesentlich vorteilhafter? Wo steht die Gerontologie?

Sterblichkeit und Altern

Altern und Krankheiten sind sehr komplexe Vorgänge, deren völlige, medizinische Bewältigung die heute lebenden Generationen kaum erleben werden.

Man muss allerdings feststellen, dass das Leben auf niedrigem Entwicklungsniveau einzelner Zellen und kleiner Zellverbände das Altern (nicht jedoch den Tod) überwunden hat. Die bisher unendliche Keimbahn der Lebewesen gehört auch hierher und diese Systeme altern nur infolge von Schäden oder aus opportunistischen Gründen, z.B. zur Reduktion der Bevölkerung bei Mangelzuständen. Die Mechanismen zum Schutz der Lebewesen gegen endgültige Veränderungen sind bekannt nämlich: Replikation von Molekülen, Abbau und Neusynthese von Molekülen, Reparatur von nicht austauschbaren Makromolekülen sowie optimierter Schutz gegen die Umgebung durch eine Zellmembran. Die Lebensvorgänge dienen vor allem diesen Mechanismen.

Bei Zellteilungen findet eine Gesamterneuerung statt. Ohne Zellteilung müssen Lebewesen altern.

Über die längste Zeit (vielleicht 2 Milliarden Jahre), die das Leben nun existiert, war Altern kein zwangsläufiger Vorgang.

Das zwangsläufige Altern und der zwangsläufige Tod jedes Individuums werden offensichtlich erst durch die Entwicklung komplizierter Organe bei den höheren Vielzellern erworben. Das ist eigentlich paradox, da komplex gebaute, hochleistungsfähige Organe einen verbesserten Schutz darstellen. Primäre Ursachen der Sterblichkeit lassen sich aber gerade aus Bau und Funktion von Organen ableiten. Viele sind sogar gut bekannt.

Z.B. können Nieren die komplex aufgebauten Glomeruli nur während der Entwicklung in einem komplizierten Vorgang aus drei unterschiedlichen Geweben bilden. Sie sind unersetzbar. Der Mensch ist somit sterblich.

Offenbar kann auch eine erweiterte und verlängerte Aorta nicht von unseren Reparaturzellen wieder gerichtet oder ersetzt werden, der

dreidimensionale Zusammenhang wird nicht erkannt. Sie altert weiter. Auch das macht den Menschen sterblich.

Die Lunge kann nicht alle eingeatmeten Partikel wieder nach außen transportieren. In Lymphbahnen abgelagert schädigen sie zunehmend die Lunge, eine Ursache für Sterblichkeit.

Bei Verletzungen und Krankheiten wird meist Organgewebe durch fibrotisches Gewebe ersetzt, das daher ständig zunimmt, was uns langfristig sterblich macht.

Für große Strukturmoleküle außerhalb der Zellen wie Kollagen kann der Abbau aus Stabilitätsgründen durch Hemmung der Proteasen gedrosselt sein sie werden nicht ausreichend erneuert und verändern sich mit der Zeit.

Die Schäden durch die Blutdruckbelastung der Arterien können offensichtlich nicht völlig repariert werden. Arterien verändern sich mit der Zeit stärker als Venen. Altersabhängige Kollagenveränderungen weisen zwischen rechtem und im linkem Herzen Unterschiede auf.

Das größte Problem ist die festgelegte Größe der höher entwickelten Lebewesen und die Einkapselung von Organen. Dadurch kann der Körper nicht unbegrenzt wachsen. Die Zellteilungen gehen nach der Entwicklung weitgehend zurück. Es wird geschätzt dass sich 90% unserer Zellen nicht teilen. Viele sind endgültig teilungsunfähig. Ihr Ersatz ist nur möglich indem sie zur Apoptose, dem programmierten Selbstmord gezwungen werden, dann werden Zellen aktiviert, die ihre Reste aufnehmen und schließlich muss eine Stammzelle aktiviert werden um Ersatz zu schaffen. Gerade postmitotische Zellen werden hohen Leistungen mit hohem Umsatz von Sauerstoff und Belastung durch freie Radikale unterworfen.

Zellen können auch weit von Blutgefäßen entfernt sein und dadurch beschleunigt sterben, wobei der Ersatz scheinbar nachhinkt, denn mit dem Alter finden wir in solchen Lokalisationen zunehmend tote Zellen.

Die Steuermechanismen regeln globale Werte z.B. ohne Rücksicht auf Einzelzellen. Regelungen, die dem Gesamtkörper dienen, können für einzelne Zellen schädlich sein.

Es gibt funktionelle und genetische Gründe für eine Unterdrückung von Mitosen. z.B. die Durchsichtigkeit der Hornhaut. Hier werden Mitosen durch Wachstumsfaktoren und deren Antagonisten unterdrückt. Die ständige Bewegung von Herzmuskelzellen und das komplexe Synapsenwerk von Neuronen mögen ebenfalls Mitosehindernisse sein.

Ein Stammzellersatz ist unmöglich, wenn eine Grundsubstanz als Barriere für die Zellwanderung dient, wie im Knorpel oder Knochen. Hier kann nur der totale Abbau und die Neubildung des Gewebes Erneuerung bringen. Aber nur einzelne Gewebe wie Knochenmark und Knochen beherrschen diese Methode. In andern Organen kann Gewebeverlust zur Neubildung oder Metaplasie führen, aber bei weitem nicht in allen.

Daraus resultiert die Hypothese, dass es in jedem Organ spezifische Ursachen für dessen Mortalität geben könnte, die langsam zu Veränderungen führen und dadurch sekundären Einwirkungen wie Radikalen, Körpertemperatur, Strahlen, Stoffwechselfehlern oder häufigen kleinen Infektionen den Angriff erst erlauben und zusammen mit Abwehrmechanismen und Gegenregulationen zu den bekannten Alternsvorgängen führen können (Sames 2000, 2001, 2004; Sames et al.2005).

Diese Situation ist ungünstig was einen wesentlichen Einfluss auf das Altern oder gar eine Verjüngung für die jetzt lebenden Generationen betrifft. Die Probleme sind nur über einen langen Zeitraum lösbar. Eine Erneuerung aller Bestandteile des Organismus in ihrer spezifischen Struktur und Funktion ist beim heutigen Stand der Entwicklung noch nicht vorstellbar.

Jedoch besteht kein grundsätzliches Hindernis für eine Lebensverlängerung oder Verjüngung. Wirksame Techniken vor allem reparative Maßnahmen mithilfe der Gentherapie Stammzellmanipulation und Nanotechnologie.

Um also in den Genuss einer zukünftig möglichen Lebensverlängerung zu kommen, müsste der Organismus vor allem in unveränderter Form eine lange Zeit überdauern können. Hierfür bietet sich die Kryonik an, die daher für heute Lebende die einzige Chance auf ein verlängertes vitales Leben darstellt. Daher sind Kryonikvertreter in der Regel der Meinung, dass sie dabei nichts zu verlieren haben, zumal der Verlust von materiellen Gütern mit dem Sterben irrelevant wird und so lassen sich Menschen auch noch bei vorliegenden Schäden konservieren. Form könnten eine umfangreiche Organerneuerung möglich machen. Dies wird aber ebenfalls noch viel Zeit erfordern, denn die Techniken stecken noch in den Kinderschuhen.

Wie funktioniert Kryonik?

Das Prinzip ist aus der Hypothermie bekannt. Senkung des Stoffwechsels durch Kühlung reduziert den Bedarf der Zelle, womit sie weniger auf die Durchblutung angewiesen ist.

Tiefe Hypothermie erlaubt eine Kühlung auf 18°C und einen Durchblutungsstopp von etwa einer Stunde.

Die neuste Hypothermiemethode mit Sauerstoffentzug und gleichzeitiger Kühlung erlaubt im Tierversuch einen Herzstillstand von bis zu 6 Stunden bei 10°C also weit unterhalb der Unterkühlungsgrenze. Sie hat die klinische Anwendbarkeit erreicht und soll demnächst eingesetzt werden. (Behringer et al. 2003; Morrison et al. 2008; Roth et al. 2005).

Die Medizin bewegt sich sozusagen in Richtung Kryonik bzw. zum Gefrierpunkt hin, denn eine Kühlung unter 0°C würde logischerweise den Medizinern noch mehr Zeit zum Eingreifen bieten.

Die Gleichung von Arrhenius $k = A \exp(-E_a/RT)$ formuliert einen Zusammenhang zwischen der Geschwindigkeit chemischer Vorgänge

und der Temperatur. Hier ist E_a die Aktivierungsenergie, R die Gaskonstante und A ein Frequenzfaktor für molekulare Kollisionen. Daraus ergibt sich, dass ein chemischer Vorgang, der bei 37°C Sekunden oder Minuten benötigt, in flüssigem Stickstoff, also bei -196°C Millionen von Jahren dauern würde. Dazu ist die Erstarrung des Wassers ein Hindernis für die Molekularbewegung (Mazur 1984; Karlsson, Toner 1996).

Das ist die eigentliche Grundlage des Projekts Kryonik.

Am Gefrierpunkt aber lauert die größte Gefahr, mit der die Kryonik konfrontiert ist. Die Kristallisierung des Wassers ist in der Lage, Zellen mechanisch, chemisch und osmotisch zu schädigen. Der erste Durchbruch erfolgte hier einst durch die Anwendung von Frostschutzsubstanzen oder Kryoprotektiva. Sie erniedrigen den Gefrierpunkt und reduzieren die Bildung von Eiskristallen, können sie allerdings nicht völlig verhindern.

Die neuste Methode ist die Verglasung oder Vitrifizierung. Durch Unterlaufen der Eisbildung bei schneller Kühlung können Flüssigkeiten oder Lösungen in den Glaszustand übergehen. Mit abnehmender Temperatur werden sie zunehmend visköser. Die sogenannte Glasübergangstemperatur bei der ein quasi fester Zustand erreicht wird, liegt für die üblichen Kryoprotektiva um -130°C . Die Glasbildung ändert den Aggregatzustand nicht. Ein Glas hat die Molekularstruktur von Wasser und ... es fließt, wie man am Glas sehr alter Kirchenfenster sehen kann. Eine hohe Startviskosität wird durch hohe Konzentrationen von Kryoprotektiva erreicht. Sie fördert die Vitrifizierung.

Vor allem aber ist Glas kristallfrei. Mit Vitrifizierungsverfahren war es erstmals möglich, elektronenoptisch unveränderte Gewebebilder zu erhalten und was mehr ist, die Gewebe lebten. Die Ovarien verschiedener kleiner Tiere – also ganze Organe – konnten nach Vitrifizierung Nachkommen erzeugen (Hasegawa et al. 2006). Das größte vitrifizierte Organ war eine Kaninchenniere. Die Niere ermöglichte nach Erwärmung einem Kaninchen, dem die andere Niere

fehlte, ein normales Leben (Fahy et al. 2009). Auch Gewebeschnitte von Rattenhirnen zeigten nach Vitrifikation und Wiedererwärmung signifikante Lebenszeichen in Form der Verteilung von Kalium Ionen und Natrium Ionen innerhalb und außerhalb der Zellmembran. Dies stellt keine Organkonservierung dar, zeigt aber die Möglichkeit, Neurone durch Kryokonservierung zu erhalten (Pichugin et al. 2006).

Eine Reihe von Organen konnten auch ohne Vitrifizierung und z.T. bei Temperaturen über -130°C tiefgekühlt werden. Die Versuche verwendeten unterschiedliche Methoden und Temperaturen. Sie wurden nur zum Teil reproduziert und die Organe zeigten Schäden durch Eisbildung. Alle hier aufgezählten Organe überlebten aber. Uteri von Schweinen kontrahierten sich nach Kühlung auf -130°C und anschließender Erwärmung mehrfach (Dittrich et al. 2006).

Hundedarm wurde auf die Temperatur von flüssigem Stickstoff gekühlt. Er war schwer geschädigt, aber zu einer Selbstreparatur (mit Ausnahme der geschädigten aber noch durchgängigen Blutgefäße) fähig (Hamilton et al. 1973). Hundemilz und Ureter überlebten Tiefkühlung und Transplantation (Barner et al. 1963; Barner, Scheck 1966). Hundelungen überlebten ebenfalls Temperaturen unter 0°C (Okinawa et al. 1973). Die Leber erlangte eine teilweise Funktion nach Kühlung auf -60°C zurück (Zimmermann et al. 1971).

Katzenhirne ertrugen eine längere Kühlung auf -20°C (Suda et al. 1966). Die Versuche wurden z.T. nicht reproduziert, sprechen aber gerade durch die Bestätigung an verschiedenen Organen für die Durchführbarkeit einer Organ-Kryokonservierung.

Hier kann man sich fragen, was eigentlich noch zur Tiefkühlung und erfolgreichen Wiederbelebung eines ganzen Tieres fehlt. Es ist eine für alle Organe verträgliche Methode, also eine mit breitem Anwendungsspektrum. Von der besten heute möglichen Organ-Kryokonservierung ausgehend, die eine gute Überlebenschance bietet, kann man aber auch direkt in den Tierversuch an kleinen Tieren starten und dabei analysieren, welche Organe sich kritisch verhalten und warum.

Da die Kryokonservierung in der Natur bereits vorkommt, ist zu fordern, dass es solche Bedingungen gibt.

So können Pflanzen schon bei -30 bis -40 °C vitrifizieren (Hirsh 1987).

Wechselwarme Wirbeltiere (Costanzo et al. 1995; Storey und Storey 1993) und wirbellose Tiere (Storey und Storey 1992, 1996) haben vielfältige Mechanismen der Frosttoleranz einschließlich der Bildung von unterschiedlichen Frostschutzsubstanzen entwickelt und ihre Körperflüssigkeiten können bei Minustemperaturen teilweise oder ganz erstarren. Die Larve des Käfers *Cucujus clavipes puniceus* macht bei einer Temperatur von -58 °C eine Umwandlung in einen glasartigen Zustand durch und kann ein Gefrieren bis zu mindestens -150 °C vermeiden. Beim Käfer selbst sind es -100 °C (Sformo et al. 2010). Die Mechanismen werden bei dieser Art zur Zeit erforscht. Man kann möglicherweise darauf setzen, dass intakte Organismen robuster sind als ihre Teile und damit Schäden besser verkraften. Mit anderen Worten, man muss nicht vom Ende mit der geringsten Komplexität an die Kryobiologie herangehen, wie es die meisten Kryobiologen noch tun z.B. indem überwiegend Zellkulturen oder kleine Gewebeproben benutzt werden, die sich heute bereits routinemäßig kryokonservieren lassen, aber labile Artefakte darstellen. Man darf dabei unterstellen, dass die Kryokonservierung ganzer menschlicher Organismen ein Ziel ist, das allen Kryobiologen als erstrebenswert erscheint auch denen, die an der Durchführbarkeit zweifeln. Schnell zu Ergebnissen zu kommen ist aber eine andere Sache.

Sollte die Methode an einem kleinen Tier funktionieren, zeichnet sich der weitere Projektverlauf ab. Es folgt die Lösung der Probleme bei größeren Organen z.B. durch beschleunigte Kühlung und verbesserte Zusammensetzung der kryoprotektiven Lösungen. Ein Ziel sind Organbanken für die Transplantation. Danach rücken große Säugetiere und schließlich der Mensch ins Blickfeld.

Probleme der Durchführbarkeit bei Vitrifikation und Wiedererwärmung

Das Hauptproblem ist dass man, wie oben erwähnt, den Tod abwarten muss.

Die hohen Konzentrationen von Kryoprotektiva, die man für die Vitrifikation benötigt sind toxisch. Die ältere Methode, Kulturen mittels Glycerin zu schützen zeigt dies, da Glycerin in den Zellen vorkommt und in physiologischer Konzentration nicht toxisch ist. Durch Kühlung wird die Toxizität reduziert (Fahy et al. 1990, 2004; Wowk et al. 2000). Die hohe Viskosität ist ein für die Vitrifizierung notwendiger, für die Perfusion aber hinderlicher Effekt. Auch Verdünnung oder die Kombination verschiedener Kryoprotektiva kann die Toxizität reduzieren. Unterhalb der Glasübergangstemperatur kann nicht mehr über den Kreislauf gekühlt werden, sondern nur von außen. Im Inneren hinkt die Kühlrate nach. Das führt zu Spannungen und Rissen, besonders in großen Objekten. Die während der Kühlung ängstlich vermiedene Kristallbildung kann noch bei der Wiedererwärmung stattfinden, besonders wenn die Kühlrate das Entstehen einzelner Kristalle beim Runterkühlen zulässt. Die Toxizität wird in der Wärme wieder gefährlicher. Eine schnelle Aufwärmung könnte gegen die zuletzt erwähnten Gefahren schützen. Die optimalen Erwärmungsraten werden aber bisher nicht erreicht. Da die kryoprotektiven Lösungen unter 0°C flüssig bleiben, dürfte es möglich sein, sie zu verdünnen und zu entfernen, ehe der Organismus im Ganzen zu hoch erwärmt wird. Insgesamt werden die erforderlichen Wärmeraten bisher nur in kleinen Organen erreicht und hier durch externe Erwärmung (Fahy et al. 2009).

Wenn die laufenden Tierversuche auch an Transplantatorganen und schließlich an großen Tieren erfolgreich verlaufen sollten und auf den Menschen anwendbar werden, könnten auch Gesunde kryonisch behandelt werden, die weniger von Altern und Krankheit betroffen sind. Der Tod müsste nicht mehr abgewartet werden. Wir hoffen, dass die Belastung durch die Kryonisierung eines Tages nicht größer

sein wird als die einer Narkose oder Kardioplegie. Damit würde die Rettungsmethode einsetzbar.

Das Hirn lässt sich nach 5-9 Minuten Ischämie bei Raumtemperatur nicht wiederbeleben.

Macht es dann überhaupt Sinn, einen Menschen noch 2 Stunden nach dem Tod (nach der Leichenschau) zu konservieren?

Da wir weder sagen können, was Gedächtnis und Bewusstsein sind und was intakt bleiben muss, um die Individualität zu erhalten, weil wir weiter nicht wissen welche Möglichkeiten der Rekonstruktion sich noch entwickeln könnten, ist es sinnvoll großzügig zu verfahren.

Es gibt keinen Beweis, dass alle Nervenzellen des Hirns nach 5-9 Minuten Sauerstoffmangel tot sind.

Das Versagen der Reanimation des Gehirns hängt aber nicht nur vom Tod der Zellen ab. Die Reperfusion schädigt bekanntlich die Zellen stärker als die Ischämie selbst dies tut. Für das Versagen des Gehirns spielt eine Steigerung des Widerstandes in den Blutgefäßen eine große Rolle, die einer Wiederbelebung im Wege steht. Dabei werden die Endothelzellen, stärker geschädigt als die Nervenzellen selbst. Endothelschwellung vor allem bedingt durch die Umwandlung von Oxynitrit in Peroxynitrit während der Reperfusion sowie die Leukozytenadhäsion engen das Lumen ein; andererseits sind die Widerstandsgefäße weitgestellt. Medikamentöse Vasokonstriktion (Epinephrin), erhöhter Perfusionsdruck sowie Heparin-, Insulin- und Antacida Gaben führten auch jenseits der 9 Min. Grenze zur Wiederbelebung (Brown, Boruteite 2002; Hossmann 1988; Safar et al. 1976; Ratych et al. 1987; Schaffner et al. 1999; Wu et al. 1998). All dies bedeutet, dass ein Versagen der Wiederbelebung nach längerer Zeit nicht durch den völligen Tod der Hirnzellen bedingt ist, sondern auch durch Veränderungen, die man beeinflussen kann.

Es wurde festgestellt, dass Hirnzellen noch Stunden nach globalem Organversagen basale Lebenskriterien zeigen.

Nach Verschluss der a. cerebialis med. bei Ratten wurden im ischämischen Gebiet erst nach 5-6 Stunden wesentliche Mengen an toten Neuronen gefunden (15% der Population) nur einzelne waren TUNEL positive, apoptotische Zellen. Ob der Verschluss der Arterie durch ein eingeschobenes Filament bei dieser Methode sicher ist und wie weit eine Diffusion von der Penumbra aus erfolgt, kann schwer beurteilt werden. Auch nach 72 bis 96 Stunden wurden im nekrotischen Cortex Areal einzelne intakte Neuronen gefunden (Garcia et al. 1995; Rupalla et al. 1998).

Aus Hirnschnitten, die im Mittel 2,6 Stunden post mortem entnommen wurden, wurden Neuronen isoliert. Über 82% Prozent der isolierten Zellen lebten. Allerdings wurde nur die neuronienreichste Fraktion untersucht und es gab eine Menge Zerfallsprodukte, die Zellmaterial enthalten mochten (Konishi et al. 2002). In corticalen Hirnschnitten, die 2-8 Stunden (MW 4,2 Stdn) post mortem einschließlich Perioden bei Raumtemperatur (1-2 Stdn Transport) entnommen wurden, ließen sich Neurone in Kultur am Leben halten. 30-50% der Zellen lebten (keine Trennung der Zellarten), 20-30 % waren geschädigt, aber nicht tot. Die toten Zellen bleiben scheinbar über lange Zeit erhalten, was für eine Rekonstruktion des Gewebes günstig sein könnte (Verwer et al. 2002). In Kultur lebten die o.a. Zellen wochenlang und konnten zu Versuchen verwendet werden.

Nur ein kleiner Teil der Zellen stirbt durch Nekrose, der weitaus größte tritt anscheinend in die Apoptose ein, so dass sie erst nach Stunden endgültig tot sind (Radovsky et al. 1995).

An menschlichen Hirninfarkten wurde nachgewiesen, dass die Apoptose zwar startete (Erhöhung von Caspase-3 Erhöhung an den ersten beiden Tagen nach der Infarzierung) aber nicht voll ausgeprägt auftrat. Die Morphologie toter Zellen ähnelte eher einer Nekrose und eine DNA-Spaltung trat spät auf (Love et al. 2000).

An anderen Organen und Zellen wurde ein langsamer Eintritt der Apoptose oder eine unvollständige Apoptose bei unterschiedlichen Ischämieformen nachgewiesen. In der exzidierten menschlichen Niere stiegen während 85 Minuten Ischämie bei 37°C die Substanzen Bax und Caspase-9 an, die über die Mitochondrien die Apoptose fördern, Proteine die dabei hemmend wirken wie Bcl2 und cFLIP nahmen ab, aber der Weg zu der destruktiven Caspase-3 wurde (auch über den sogenannten Todesrezeptor nicht aktiviert. Die Apoptose blieb unvollständig (Wolfs et al. 2005).

In Photorezeptoren der Ratte fanden sich lichtbedingte Apoptosen nach 90 Minuten Ischämie, wobei DNA-Brüche nach den morphologischen Veränderungen auftraten. Im benachbarten Pigment Epithel des Auges traten Apoptosen viele Stunden später auf (Hafezi et al. 1997).

Die Apoptose tritt also bei Ischämie in unterschiedlicher Weise auf und kann inkomplett verlaufen.

Die Befunde sind noch sehr unvollständig vor allem was die Quantifizierung betrifft. Wenn sie sich bestätigen sollten, macht dies allerdings Hoffnung, dass eine Rekonstruktion prinzipiell möglich ist.

Auch Einflussmöglichkeiten auf die Apoptose existieren bereits, aber eine gezielte Wiederherstellung apoptotischer Zellen ist erst in Ansätzen erkennbar.

Zum Beispiel reduziert der Caspase-3 Hemmer Z-DEVD-FMK das Überleben von Neuronen im ischämischen Ratten-Hippocampus. Eine weitere Möglichkeit, das Überleben von Neuronen in bis zu 9,5 Stunden post mortem (mit 1-2 Stdn warmer Ischämie beim Transport) entnommenem menschlichem kortikalem Hirngewebe zu fördern, ist die Kokultivierung mit embryonalen Stammzellen der Ratte. Die Patienten waren bis zu 94 Jahre alt. Die Zahl toter Zellen betrug im Mittel rund 17 von 26/cmm, etwas mehr als 3 waren vital, die anderen geschädigt. Bei den kokultivierten waren rund 6 von 16 Neuronen vital.

Die große Kapazität des Hirns zur Wiederherstellung der Hirnfunktion auch nach massenhaften Zellverlusten, wobei möglicherweise redundante Gedächtnisinhalte, auf jeden Fall aber die Plastizität von Hirnzellen eine Rolle spielen macht Hoffnung auf eine mögliche Wiederherstellung (Chen et al. 1998; Dancause et al. 2005; Carmichael 2006; Nudo 2007; Wu et al. 2008).

Zellen, die Apoptose vollenden werden phagozytiert. Es sieht aber nicht so aus als ob alle Hirnzellen gleichzeitig durch die Apoptose gehen und phagozytiert werden.

Für heute konservierte Verstorbene ist zunächst eine möglichst perfekte aufs Gehirn zentrierte Kühlung wichtig, da die Entwicklung der Bedingungen für eine erfolgreiche Revitalisierung noch Jahrhunderte Zeit haben könnte.

Kryonik gehört in den Bereich der Methodenentwicklung für die Notfallmedizin.

Wissenschaftlich möchte ich sie als ganzheitliche Kryobiologie bezeichnen. Dies meint, dass das Leben auf allen Organisationsebenen (einschließlich des menschlichen Organismus kein Tabu für sie ist und dass sie alle geeigneten Methoden anwendet und weiterentwickelt (z.B. die intravaskuläre Kühlung und andere Perfusionsmethoden, die intravitale Vorbereitung von Patienten usw.).

Heute praktiziertes Prozedere

Besonders wichtig ist der Schutz der Zellen zum Zeitpunkt des Organversagens oder zeitlich so nahe wie möglich an diesem Ereignis. Dies geschieht auf zwei Wegen. 1. durch Medikamente, besonders Antikoagulantien, antioxidative Substanzen oder membranstabilisierende sowie neuroprotektive Substanzen. 2. am effektivsten ist eine möglichst frühe Kühlung. Es kann von außen gekühlt werden in der Regel mit Wasser-Eis, das rechtzeitig

vorgehalten werden muss. Eiswasser rieselt durch eine Pumpe über den Körper, um die Konvektion zu nutzen. Besser kühlt man über den Kreislauf mit einer vorgekühlten Zellschutzlösung, was effektiver ist. Oft dürfte keine Kraft, welche die Perfusion beherrscht rechtzeitig vor Ort sein. Dann transportiert man den Patienten in Eis zu einem Institut, wo man die Perfusion durchführen kann. In jedem Fall wird das Blut gegen eine Zellschutzlösung ausgetauscht, um die Koagulation zu vermeiden, Metabolite zu entfernen und die Zusammensetzung des Perfusats zu kontrollieren. Es wird mit offenem oder geschlossenem extrakorporalem Kreislauf perfundiert und ab 10°C bei mitlaufender äußerer Kühlung schrittweise eine vorgekühlte Frostschutzlösung zugesetzt, wobei eine etwa 75%tige Lösung eines kryoprotektiven Gemischs angestrebt wird (z.B. Äthylenglycol, DMSO und Zellschutzlösung). Die Durchströmung von Kopf und Gehirn wird bevorzugt d.h. man geht möglichst über die Halsarterien bzw. den Aortenbogen retrograd oder auch über andere Gefäße (z.B. retrograd über die a. femoralis). Etwa bei 4°C wird die Lösung zu viskös für die weitere Perfusion.

Ist eine hohe Konzentration der Kryoprotektiva in der auslaufenden Lösung erreicht, kann die Kühlung von außen auf unter 0°C beginnen. Zunächst verwendet man dazu Trockeneis, was auch während eines Transportes möglich ist. Bei Erreichen der Trockeneistemperatur wird der Patient in eine Computer gesteuerte Kühlkammer gebracht und dort langsam mit Stickstoffdampf gekühlt. Kurz oberhalb der Glasübergangstemperatur bei der das Gewebe fest wird, erlaubt man eine Erwärmung um 1°C und eine längere Pause zum Temperatenausgleich. Dann wird sehr langsam auf die Temperatur von flüssigem Stickstoff gekühlt, was etwa eine Woche dauert. Dadurch sollen Risse vermieden werden, was aber noch nicht vollständig möglich ist. In Plastik gehüllt wird der Patient dann in einen Tank mit flüssigem Stickstoff gelagert (Best 2008).

Zukünftige Anwendungsmöglichkeiten

Kryonik strebt nicht mehr und nicht weniger an, als das Leben jederzeit und für eine beliebige Dauer aussetzen und wieder in Gang setzen zu können.

Sollte die reversible Kryokonservierung großer Organe verwirklicht werden, könnte man ein Sortiment Spenderorgane in Organbanken vorrätig halten und ohne Schaden und Zeitdruck transportieren. Einen Schritt weiter würde die voll entwickelte Kryonik dem Arzt dann auch erlauben, einen Patienten, den er nicht mehr am Leben halten kann, im Status quo zu erhalten, um nach neuen Mitteln zu suchen. Versorgung starker Verletzungen, die nur mit hohem Zeitaufwand in Spezialkliniken versorgt werden können, notwendige lange Transporte, wie auch das Warten auf ein Spenderorgan oder gar die Entwicklung eines neuen Medikamentes, würden zu Verfügung stehen. Ob und wie man in tiefgekühltem Zustand operieren könnte, ist hier nicht Thema. Schon heute taucht die ethische Frage auf ob jemand z.B. sein Kind nach „Tod“ an Krebs angesichts der bestehenden Alternative, es unverändert (wenn auch nicht unbeschadet) zu erhalten, beerdigen sollte, wodurch es vielleicht eine Zukunftsoption verlieren würde, da in diesem Falle zum mindesten keine Altersveränderungen vorliegen.

Durch die Kryonik hätte man eine globale Schutz- und Rettungsmethode für Unfallopfer, Raumfahrer oder für den sicheren Transport gefährdeter Patienten oder gar den Transport durch Zonen mit Extrembedingungen (Feuer Wasser Sauerstoffarmut) etwa in einer mechanisch stabilen Schutzkapsel. Auch schonende Tiertransporte wären möglich. Tiere könnten in Tierbanken tiefgekühlt lebensfähig erhalten werden.

Schlußfolgerung

Zusammenfassend lässt sich Kryonik als Planung einer schrittweisen Projektentwicklung für eine globale Konservierungs- und Rettungsmethode über Tierversuche, die Konservierung von Transplantatorganen hin zur Anwendung am ganzen menschlichen Organismus darstellen. Es spricht nichts absolut gegen die Möglichkeit diese zur Zeit fortschreitende Entwicklung von Methoden erfolgreich abzuschließen.

Die Medizin sollte keine Schwierigkeiten damit haben, die Ziele der Kryonik anzuerkennen und die jeweils aktuellen Projekte zu unterstützen. Schon beim laufenden Versuch der Vitrifizierung und Reanimation eines kleinen Säugetiers wäre das sinnvoll. Die Kryonik hat zu wenige Anhänger und zu wenige Ressourcen für die Forschung. Es geht aber zur Zeit weniger um die Ressourcen als um die Akzeptanz der Projektplanung.

Die Anwendung der Tiefkühlung bereits heute in ihrer unausgereiften Form auf verstorbene Menschen ist eine vorübergehende Notmaßnahme die erklärlicherweise umstritten ist. Sie erfolgt auf Wunsch des Patienten für den sie die einzige heute noch geringe Überlebenschance darstellt, die allerdings langsam zunimmt.

Summary

Do you want to live forever?

Large organisms like the human, cannot be reanimated following cryopreservation by currently available methods, which need rapid cooling. Therefore the procedure can only be applied postmortem. Furthermore there are still other problems e.g.: toxicity of cryoprotective solutions, cracks by tension during rapid cooling and formation of crystals during reheating. However brain cells die more slowly after general organ failure as is commonly suggested. It is possible to interrupt the cell death procedure by means of cooling, whereby the organism may be preserved over millions of years without changes. As of now, there is not any alternative method of life span extension available yet. The cryopreservation of organs makes some progress, and the same process with total organisms could also become practicable as soon as it is possible to cool different organs using the same method for all of them. A very potent emergency method thus, may be developed step by step, which also would allow to preserve healthy human beings by cooling. The repair of damage due to disease and aging must be left to the future development of medicine. Eternal life however, is no realistic idea.

Literatur:

Barner HB, Rivers RJ, Cady B, Watkins E: Survival of Canine Ureter after Freezing. *Surgery* 53 (1963) 344–7

Barner HB, Scheck EA: Autotransplantation of the Frozen-Thawed Spleen. *Arch Pathol Lab Med* 82 (1966) 267–71

Behringer W, Safar P, Wu X, Kentner R, Radovsky A, Kochanek, PM, Dixon CE, Tisherman SA: Survival Without Brain Damage after Clinical Death of 60-120 Minutes in Dogs Using Suspended Animation by Profound Hypothermia. *Critical Care Medicine* 31 (2003) 1523–31

Best BP: Scientific Justification of Cryonics Practice. *Rejuvenation Research* 11 (2008) 493–503

Brown GC, Borutaite V: Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death. *Free Radical Biology and Medicine* 33 (2002) 1440-50

Carmichael ST: Cellular and Molecular Mechanisms of Neural Repair after Stroke: Making Waves. *Annals of Neurology* 59 (2006) 735–42

Chen J, Nagayama T, Jin K, Stetler RA, Zhu RL, Graham SH, Simon RP: Induction of Caspase-3-Like Protease May Mediate Delayed Neuronal Death in the Hippocampus after Transient Cerebral Ischemia. *J Neurosci* 18 (1998) 4914–28

Costanzo JP, Lee RE Jr., De Vries AL, Wang T, Layne JR Jr.: Survival Mechanisms of Vertebrate Ectotherms at Subfreezing Temperatures: Applications in Cryomedicine. *FASEB J* 9 (1995) 351–8

Dancause N, Barbay S, Frost SB, Plautz EJ, Chen D, Zoubina EV, Stowe AM, Nudo RJ: Extensive Cortical Rewiring after Brain Injury. *J Neurosci* 25 (2005) 10167–79

Dittrich R, Maltaris T, Mueller A, Dimmler A, Hoffmann I, Kieseewetter F, Beckmann MW: Successful Uterus Cryopreservation in an Animal Model. *J Hormone Metab Res* 38 (2006) 141–5

Fahy GM, Lilley TH, Linsdell H, Douglas MS, Meryman HT: Cryoprotectant Toxicity and Cryoprotectant Toxicity Reduction: In Search of Molecular Mechanisms. *Cryobiology* 27 (1990) 247–68

Fahy GM, Wowk B, Pagotan R, Chang A, Phan J, Thomson B, Phan L: Physical and Biological Aspects of Renal Vitrification. *Organogenesis* 3 (2009) 167–75.

Fahy GM, Wowk B, Wu J, Phan J, Rasch C, Chang A, Zendejas E: Cryopreservation of Organs by Vitrification: Perspectives and Recent Advances. *Cryobiology* 48 (2004) 157–78

Garcia JH, Liu KF, Ho KL: Neuronal Necrosis after Middle Cerebral Artery Occlusion in Wistar Rats Progresses at Different Time Intervals in the Caudoputamen and the Cortex, *Stroke* 26 (1995) 636–42

Hafezi F, Marti A, Munz K, Remé CE: Light-induced apoptosis: differential timing in the retina and pigment epithelium. **Exp Eye Res** 64 (1997) 963-70

Hamilton R, Holst HI, Lehr HB: Successful Preservation of Canine Small Intestine by Freezing. *Journal of Surgical Research* 14 (1973) 313–18

Hasegawa A, Mochida N, Ogasawara T, Koyama K: Pup Birth from Mouse Oocytes in Prenatal Follicles Derived from Vitrified and

Warmed Ovaries Followed by in Vitro Growth, in Vitro Maturation, and in Vitro Fertilization. *Fertil. Steril* 86 (2006) Suppl. 4, 1182–92

Hirsh ALG: Vitrification in Plants as a Natural form of Cryoprotection. *Cryobiology* 24 (1987) 214–28

Hossmann KA: Resuscitation potentials after prolonged global cerebral ischemia in cats. *Critical Care Med* 16 (1988) 964-71

Karlsson JOM, Toner M: Long-Term Storage of Tissues by Cryopreservation: Critical Issues. *Biomaterials* 17 (1996) 243–56

Konishi Y, Lindholm K, Yang L-B, Li R, Shen Y: Isolation of Living Neurons from Human Elderly Brains Using the Immunomagnetic Sorting DNA-Linker System. *Amer J Path* 161 (2002) 1567-76

Love S, Barber R, Wilcock GK: Neuronal death in brain infarcts in man. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 26 (2000) 55–66

Mazur P: Freezing of Living Cells: Mechanisms and Implications. *Amer J Physiol* 247 (1984) (3 Pt 1) C 125–42

Morrison ML, Blackwood JE, Lockett SL, Iwata A, Winn R, Roth MB: Surviving Blood Loss Using Hydrogen Sulfide. *J Trauma* 65 (2008) 183–8

Nudo RJ: Postinfarct Cortical Plasticity and Behavioral Recovery *Stroke* 38 (2007) 840–5

Okaniwa G, Nakada T, Kawakami M, Fujimura S, Arakaki Y, Chiba S, Yonechi M, Kagami Y, Suzuki C: Studies on The Preservation of Canine Lung at Subzero Temperatures. *The Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 65 (1973) 180–6

Pichugin Y, Fahy GM, Morin R: Cryopreservation of Rat Hippocampal Slices by Vitrification. *Cryobiology* 52 (2006) 228–40

Radovski A, Safar P, Sterz F, Leonov Y, Reich H, Kuboyama K: Regional Prevalence and Distribution of Ischemic Neurons in Dog Brains 96 Hours after Cardiac Arrest of 0 to 20 Minutes. *Stroke* 26 (1995) 2127–33

Ratych RE, Chuknyiska RS, Bulkley GB: The Primary Localization of Free Radical Generation after Anoxia/Reoxygenation in Isolated Endothelial Cells. *Surgery* 102 (1987) 122–31

Roth MB, Nystul TG: Überleben im Kälteschlaf. *Spektrum der Wissenschaft*, Sept (2005), S. 42–8

Rupalla K, Allegrini PR, Sauer D, Wiessner C: Time course of microglia activation and apoptosis in various brain regions after permanent focal cerebral ischemia in mice. *Acta Neuropatholol* 96 (1998) 172-8

Safar P, Stezoski W, Nemoto E M: Amelioration of brain damage after 12 minutes cardiac arrest in dogs. *Archive of Neurology* 33 (1976) 91-5

Sames KH: Sterblich durch ein Gesetz der Natur? Die Durchsetzung des Lebens und die Möglichkeiten der Forschung, Frieling, Berlin 2000

Sames KH: Naturwissenschaftliche Kausalgerontologie. in: Olbrich, Erhard et al. (Hg.): *Kompendium der Gerontologie. Interdisziplinäres Handbuch für Forschung, Klinik und Praxis*, Kapitel III-5.1, Landsberg am Lech 2001, S. 1–48

Sames KH: Altern, Fibrose und Reaktionsmechanismen des Bindegewebes. In: Detlev Ganten, Karl Ruckpaul, Antonio Ruiz-Torres

(Hg.): Molekularmedizinische Grundlagen von altersspezifischen Erkrankungen, Berlin, Heidelberg 2004, S. 402–28

Sames KH: Aging as consequence of organ differentiation, in Sames, Klaus H., Sethe, Sebastian, Stolzing, Alexandra (Hg.): Extending the Life Span. Biotechnical, Gerontological, and Social Problems, Münster 2005, S. 63-80

Schaffner DH, Eleff SM, Brambrink AM, Sugimoto H, Izuta M, Koehler RC, Traystman RJ: Effect of Arrest Time and Cerebral Perfusion Pressure During Cardiopulmonary Resuscitation on Cerebral Blood Flow, Metabolism, Adenosine Triphosphate Recovery, and pH in Dogs. Crit Care Med 27 (1999) 1335–42

Sformo T, Walters K, Jeannet, K, Wowk B, Fahy GM, Barnes BM, Duman JG: Deep Supercooling, Vitrification and Limited Survival to -100°C in the Alaskan Beetle *Cucujus Clavipes Puniceus* (Coleoptera: Cucujidae) Larvae. J Exper Biol 13 (2010) 502–9

Storey B, Storey JM: Biochemical Adaptations for Winter Survival in Insect. In: Peter L. Steponkus (Hg.): Advances in Low Temperature Biology. London 1992, S. 101–40

Storey B, Storey JM: Cellular Adaptations for Freezing Survival by Amphibians and Reptiles. In: Peter L. Steponkus (Hg.): Advances in Low Temperature Biology, Band 2, London 1993, S. 101–29

Storey B, Storey JM: Natural Freezing Survival in Animals. Ann Rev Ecol Syst 27 (1996) 365–86

Suda I, Kito K, Adachi C: Viability of Long Term Frozen Cat Brain in Vitro. Nature 212 (1966) 268–70

Takai T, Kuge Y, Zaho S, Sato M, Strauss HW, Blankenberg FG, Tait JF, Tamaki N: Time Course of Apoptotic Tumor Response After a Single Dose of Chemotherapy: Comparison with ^{99m}Tc -Annexin V Uptake and Histologic Findings in an Experimental Model. *J Nucl Med* 45 (2004) 2083-7

Verwer RWH, Hermens WTJMC, Dijkhuizen PA, Brake OT, Baker RE, Saleh A, Sluiter AA, Kok MJM, Müller LJ, Verhaagen J, Swaab DF: Cells in human postmortem brain tissue slices remain alive for several weeks in culture. *FASEB J* 18 (2002) 54-60

Wolfs TG, de Vries B, Walter SJ, Peutz-Kootstra CJ, van Heurn LW, Oosterhof GO, Buurman WA: Apoptotic cell death is initiated during normothermic ischemia in human kidneys. *Am J Transplant.* 5 (2005) 68-75

Wowk B, Leitl E, Rasch CM, Mesbah-Karimi N, Harris SB, Fahy GM: Vitrification Enhancement by Synthetic Ice Blocking Agents. *Cryobiology* 40 (2000) 228-36

Wu L, Sluiter AA, Guo H-f, Balesar RA, Swaab DF, Zhou J-N, Verwer RWH: Neural stem cells improve neuronal survival in cultured postmortem brain tissue from aged and Alzheimer patients. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 12 (2008) 1611-21

Zimmermann G, Tennyson C, Drapanas T: Studies of Preservation of Liver and Pancreas by Freezing Techniques. *Transplantation Proceedings* 1 (1971) 657-9