

А. Е. КАРАПЕТЯН, Р. А. ГЕВОРКЯН

ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛУРАЦИЛА НА ИЗОЛИРОВАННЫЕ ЭКСПЛАНТАТЫ И КЛЕТКИ МИОКАРДА

Благодаря работам Н. В. Лазарева и сотр. [5, 6, 9—13, 18] пиримидиновые и пуриновые производные вошли в клиническую практику, а в последнее время начали испытываться и в экспериментальной кардиологии.

В ряде работ [22—24] показано, что некоторые пуриновые и пиримидиновые нуклеозиды и соответствующие им основания оказывают положительное инотропное действие как на изолированные желудочки собаки и кролика, находящихся в состоянии острой недостаточности, так и на нормальное сердце кролика. Некоторые авторы [3, 16] считают, что оротовая кислота и метилурацил ускоряют процессы регенерации и клеточного размножения в сердечной мышце при ее повреждении. Однако немалый интерес представляет изучение возможных механизмов действия этих препаратов непосредственно на клетках миокарда.

В настоящем сообщении излагаются результаты испытания метилурацила на эксплантатах миокарда куриных эмбрионов в условиях тканевой культуры.

Материал и методика. Желудочки сердца куриного эмбриона 6—10-дневной инкубации разрезались на кусочки размером 0,5—1,0 мм. Эксплантаты культивировались при 37°C в перфузионных камерах собственной конструкции между двумя специально обработанными [2], покровными стеклами в полусинтетической среде (85% среды Игла и 15% лошадиной сыворотки). Для подавления роста микроорганизмов к среде добавляли антибиотики. Опыты ставились на суточных культурах, которые обычно ритмично сокращались с частотой 30—90 ударов в мин. При использовании небольших увеличений микроскопа (объектив×8, окуляр×10) легко обнаружить сокращающиеся кусочки. Для регистрации изменения частоты и амплитуды сокращения использовалась сконструированная в нашей лаборатории фотоэлектрическая установка. Постоянная температура (37°C) в камерах поддерживалась с помощью термостатика. После получения записи на ленте электрокардиографа кривых нормально сокращающихся эксплантатов через верхнее отверстие камеры отсасывали 0,1 мм питательной среды и добавляли такой же объем новой среды с растворенным в ней препаратом. Наблюдения велись в течение часа с графической записью параметров сокращения каждые 5—10 мин.

Строфантин «К» вызывали аритмию сокращающихся кусочков. Для этого в камеру вносили питательная среда с растворенным в ней строфантином (в концентрации от $1,10 \cdot 10^{-5}$ до $1,10 \cdot 10^{-3}$). Спустя 5—20 мин. появлялась аритмия, не исчезающая в течение 45—60 мин. Для изучения антиаритмических свойств метилурацила после графической записи сокращения на ЭКГ отсасывали питательную среду со строфантином и заменяли ее средой с растворенным в ней метилурацилом. В другой серии опытов метилурацил добавляли непосредственно в среду, где находился строфантин. Повторные записи производили каждые 5—10 мин., что позволяло регистрировать время исчезновения аритмии. В контрольные флаконы добавляли свежую питательную среду без препарата.

В отдельной серии опытов испытывалось предупреждающее аритмию влияние метилурацила. Для этого питательная среда с растворенным в ней метилурацилом добавлялась в камеры до внесения туда строфантина. В дальнейшем после 15-минутной экспозиции добавляли строфантин, разведенный в питательной среде. Анализируя графические записи сокращения в контрольных (без внесения метилурацила) и опытных камерах до и после добавления строфантина, легко обнаруживали предохраняющее влияние метилурацила на аритмию.

Стимулирующее влияние метилурацила на рост и размножение клеток и эксплантатов миокарда изучалось следующими способами.

В тех же перфузионных камерах через сутки после посева, при помощи объекти-микрометра, производилось измерение зоны роста. После отсасывания старой и добавления новой среды с растворенным в ней метилурацилом (в контрольные флаконы вносилась свежая питательная среда) через сутки снова измерялись размеры зоны роста у тех же кусочков. Сравнивая цифры, полученные в опытных и контрольных флаконах, мы получали данные о стимулирующем влиянии метилурацила на рост эксплантатов.

В другой серии опытов изучалось влияние метилурацила на изолированные клетки миокарда. Эти клетки были получены трипсинизацией миокарда 8—10-дневных куриных эмбрионов с помощью 0,2% раствора трипсина по общепринятой методике [27]. Полученные клетки после промывания засевались во флаконы из-под инсулина. В каждый флакон засевалось точно определенное количество клеток в мл среды. Спустя сутки, после проверки наличия роста, из опытных флаконов отсасывалась питательная жидкость и заменялась средой с растворенным в ней метилурацилом.

Результаты. Оказалось, что метилурацил (см. рис. 1, табл. 1) вызывает значительное ускорение частоты пульсации во всех испытанных концентрациях (1.10^{-3} , 1.10^{-4} , 1.10^{-5}).

Таблица 1
Влияние метилурацила на частоту сокращения изолированных эксплантатов куриного эмбрионального сердца

Число эксплантатов	Концентрация метилурацила	Пульсация в минуту		Р
		без метилурацила	с применением метилурацила	
17	1.10^{-3}	42 ± 8	67 ± 8	$<0,01$
18	1.10^{-4}	67 ± 6	116 ± 12	$<0,01$
17	1.10^{-5}	66 ± 9	97 ± 6	$<0,01$

Как видно из представленных данных (см. рис. 2 в, г), метилурацил в концентрациях 1.10^{-5} , 1.10^{-3} резко увеличивает амплитуду сокращения эксплантатов. Появившийся через 5—10 мин. после добавления препарата этот эффект не исчезает в течение часа. Хорошо видно, что положительное инотропное влияние метилурацила в идентичных условиях эксперимента мало отличается от подобного действия строфантина (рис. 2 а, б). Однако в разведении 1.10^{-8} — 1.10^{-5} строфантин, в отличие от метилурацила, вызывает аритмию.

Опыты показали, что после внесения в культуру метилурацила аритмия, вызванная строфантином, довольно быстро исчезает и восстанавливается нормальный ритм сокращения эксплантатов (см. табл. 2 и рис. 3). В малых разведениях препарата требуется соответственно больше времени для снятия аритмии. В среднем в концентрациях 1.10^{-4} — 1.10^{-5} метилурацил за 6—12 мин. снимал строфантиную аритмию. В

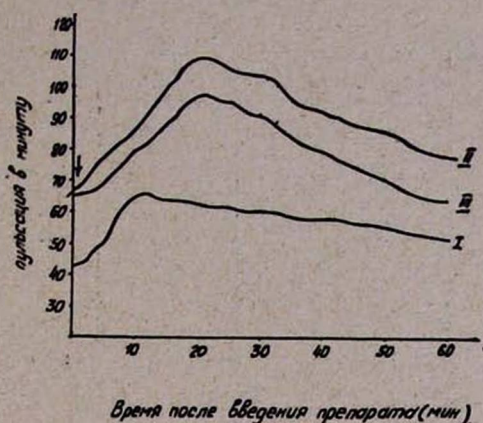


Рис. 1. Влияние метилурацила на частоту сокращения изолированных эксплантатов миокарда в культуре ткани. I—концентрация метилурацила $1 \cdot 10^{-3}$. II—концентрация метилурацила $1 \cdot 10^{-4}$. III—концентрация метилурацила $1 \cdot 10^{-5}$.

Таблица 2

Влияние метилурацила на аритмию эксплантатов миокарда, вызванную строфантином

Название препарата	Количество опытов	Концентрация	Время, необходимое для снятия аритмии (в мин.)
Метилурацил	3	$1 \cdot 10^{-4}$	7 ± 3
"	8	$1 \cdot 10^{-5}$	12 ± 2
"	7	$1 \cdot 10^{-5}$	$6 \pm 2^*$
"	5	$1 \cdot 10^{-6}$	15 ± 1
Контроль (свежая среда)	8		В течение 25—30 мин. аритмия не исчезает

* В этой серии опытов метилурацил добавлялся после предварительной промывки эксплантатов свежей питательной средой.

отличие от этого, в контрольных камерах в течение срока наблюдения (25—30 мин.) аритмия не исчезала.

Как и надо было ожидать, после предварительной промывки эксплантатов от строфантина свежей питательной средой метилурацил значительно быстрее снимал аритмию.

Чрезвычайно интересно, что метилурацил предупреждает и строфантиновую аритмию. Так, например, если строфантин вносили в камеры с эксплантатами, в которые заранее был добавлен метилурацил, то аритмия не появлялась в течение 30—40 мин., тогда как положительный инотропный и хронотропный эффект сохранялся (см. табл. 3, рис. 4). В контрольных же флаконах после добавления строфантина появлялись аритмические сокращения, начиная уже с 2—6 мин. (в тех же концентрациях).

В наших опытах были получены интересные данные при сравнении зоны роста в опытных и контрольных флаконах. Оказалось, что при до-

Таблица 3

Предупреждающее действие метилурацила на появление строфантиновой аритмии изолированных эксплантатов сердца

Название препарата	К-во опытов	Концентрация	Время контакта эксплантатов с метилурацилом (в мин.)	Концентрация строфантина, вызывающая аритмию	Время появления аритмии после добавления строфантина (в мин.)
Метилурацил	10	$1 \cdot 10^{-5}$	15	$1 \cdot 10^{-5}$	В течение 30—40 мин. аритмии не наступают
Контроль (свежая питательная среда)	10	—	—	$1 \cdot 10^{-5}$	4±2

Таблица 4

Действие метилурацила на рост клеток эксплантатов сердца куриного эмбриона

Концентрация метилурацила	Число эксплантатов	Зона роста в мм		Прирост в мм	p
		до воздействия препарата	после воздействия препарата		
$1 \cdot 10^{-5}$	14	$0,36 \pm 0,12$	$0,67 \pm 0,09$	$0,31 \pm 0,07$	<0,01
Контроль	14	$0,39 \pm 0,11$	$0,51 \pm 0,12$	$0,12 \pm 0,04$	

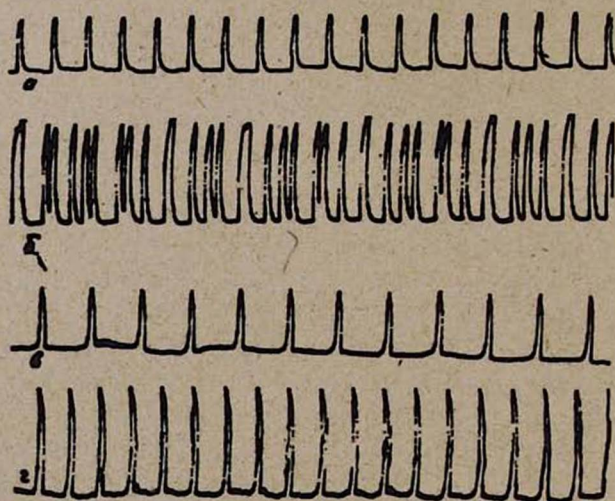


Рис. 2. Влияние метилурацила и строфантина „К“ на амплитуду и частоту сокращающихся эксплантатов миокарда. а—фотоэлектрограмма сокращающегося эксплантата миокарда до введения препарата; б—после контакта со строфантином „К“ в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$; в—фотоэлектрограмма сокращающегося эксплантата до введения метилурацила; г—после контакта с метилурацилом в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$.

бавлении к питательной среде метилурацила в разведении 1.10^{-5} резко ускорился рост клеток вокруг эксплантата (табл. 4).

Примерно такие же данные были получены и при испытании влияния метилурацила на рост диспергированных клеток. Как видно из данных табл. 5, метилурацил резко стимулирует рост и размножение трипсинированных клеток миокарда куриных эмбрионов в культуре ткани.

Обсуждение. Несмотря на то, что метилурацил сейчас уже испытывается в экспериментальной кардиологии [14, 15], а некоторые исследователи [20] изучают его влияние и на сократительную деятельность сердца в клинике, мы предполагали, что в условиях новых опытов (в культуре ткани, на клеточном уровне), возможно, выявятся еще неизвестные свойства этого препарата. Как видно из представленных данных, наши предположения подтвердились.

Таблица 5

Влияние метилурацила на рост и размножение изолированных клеток миокарда

Название препарата	Количество флаконов	Концентрация препарата	Количество клеток в мл среды		Р
			при посеве	после однодневного культивирования с препаратом	
Метилурацил	30	1.10^{-5}	175000 ± 15000	370000 ± 21000	<0,001
Контроль	30	—	175000 ± 15000	260000 ± 17300	

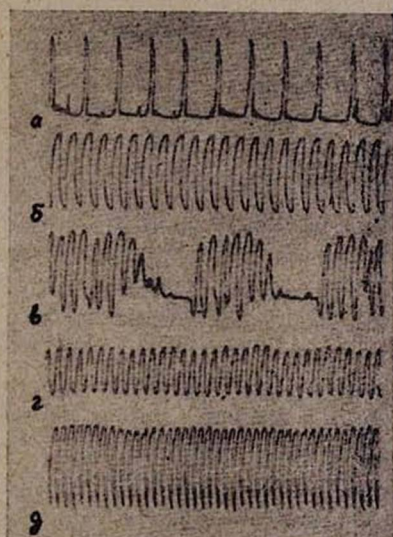


Рис. 3. Влияние метилурацила на ритмы эксплантата миокарда, вызванные строфантином. а—фотоэлектрограмма сокращающегося эксплантата до введения препарата; б—сразу после добавления строфантина, K^+ в концентрации 1.10^{-5} ; в—спустя 6 мин. после добавления строфантина; г—спустя 8 мин. после добавления метилурацила в концентрации 1.10^{-5} ; д—спустя 35 мин.

Результаты наших экспериментов показывают, что метилурацил на модели сокращающихся эксплантатов миокарда куриных эмбрионов оказывает положительное хронотропное и положительное инотропное действие. Этот эффект мало отличается от аналогичного действия строфантина. Более того, метилурацил обладает выраженным антиаритмическим действием при аритмиях у эксплантатов миокарда, вызванных строфантином. Кроме того, он при предварительном контакте с эксплантатами защищает их от последующих аритмий, вызванных строфантином. В этом аспекте окажутся перспективными исследования по комбинирован-

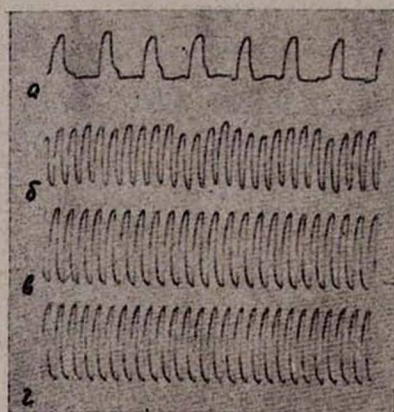


Рис. 4. Предохраняющее действие метилурацила на появление строфантиновой аритмии изолированных эксплантатов миокарда. а—фотоэлектрограмма сокращающихся эксплантатов до воздействия препарата; б—спустя 8 мин. после добавления метилурацила в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$; в—сразу же после добавления строфантина „К“ в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$; г—спустя 35 мин. после добавления строфантина.

ному применению строфантина и метилурацила в субтерапевтических дозах. Усиливая лечебный эффект строфантина, метилурацил, возможно, будет в состоянии устранить его побочные действия, в частности строфантиную аритмию (такие исследования в настоящее время у нас проводятся).

В наших опытах строфантин в концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-5}$ проявлял токсический эффект на сокращающихся эксплантатах, вызывая аритмию, а в концентрации $1 \cdot 10^{-8}$ и ниже стимулировал частоту и амплитуду сокращающихся кусочков миокарда.

Ряд авторов [25, 26] показали, что малые дозы строфантина ($1 \cdot 10^{-8}$ — $1 \cdot 10^{-10}$) стимулируют транспортную активность АТФ-азы, а более высокие ($1 \cdot 10^{-7}$ М и выше) вызывают ее торможение. Таким образом, вполне

возможно, что путем восстановления активности транспортной АТФ-азы в миокарде удастся снять или уменьшить токсический эффект сердечных глюкозидов (указанные концентрации в молях соответствуют применяемым нами разведениям).

По всей вероятности, метилурацил в наших опытах снимал токсический эффект строфантина путем восстановления активности транспортной АТФ-азы, однако для окончательного выяснения указанного механизма действия метилурацила требуются дальнейшие исследования. Положительное инотропное действие метилурацила, по всей вероятности, определяется включением его в процесс образования макроэргических соединений, и следовательно, активацией процессов энергообразования в миокарде. Так, например, исследованиями некоторых авторов [19] было показано, что при введении животным меченого уридина C^{14} и инозина C^{14} положительный инотропный эффект сопровождался включением метки, соответственно, в уридинтрифосфат (УТФ) и аденозинтрифосфат (АТФ). Эти данные приводят к предположению, что инотропное действие метилурацила может быть опосредованно установлено синтезом макроэргических соединений.

В настоящее время имеется ряд сообщений о стимулирующем влиянии метилурацила на репаративную регенерацию [21]. Наши данные в этом направлении оказались также положительными. Впервые в экспериментальных условиях в культуре клеток миокарда было показано, что метилурацил заметно стимулировал рост как эксплантатов, так и изолированных клеток сердца. Этот результат оказался для нас не неожиданным, так как хорошо известно, что вводимые в организм извне пиримидиновые основания частично используются в качестве источников при синтезе нуклеиновых кислот [3, 6, 9].

В этой связи необходимо остановиться на работах по успешному применению кофакторов синтеза и предшественников нуклеиновых кислот при лечении инфарктов миокарда [17]. По данным указанных авторов, у больных, подвергнутых такому лечению, наблюдалось улучшение гемодинамических показателей, а также показателей фазовой структуры сердечно-сосудистой системы, кроме того, у этой группы больных отмечалась низкая летальность.

Каково бы ни было окончательное решение поставленных нами вопросов, уже сейчас полученные результаты позволяют рекомендовать метилурацил для широкого экспериментального испытания. Учитывая большую терапевтическую широту его (разовая доза у людей до одного грамма и выше), безвредность и отсутствие токсического эффекта, нам кажется возможным также, не дожидаясь окончания экспериментальных исследований, начать осторожные клинические испытания метилурацила для предупреждения и лечения строфантинных аритмий и стимуляции регенерационных процессов в миокарде.

Выводы

1. На explantаты миокарда куриных эмбрионов в культуре ткани метилурацил оказывает положительное хронотропное и положительное инотропное действие.

2. В аналогичных условиях эксперимента метилурацил обладает как антиаритмическими, так и предохраняющими от возникновения стропантиновых аритмий свойствами.

3. Метилурацил в культуре ткани стимулирует рост explantатов и отдельных клеток миокарда куриных эмбрионов.

Институт кардиологии
и сердечной хирургии
МЗ Арм. ССР

Поступило 10/X 1968 г.

Ա. Ե. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ռ. Ա. ԳԵՎՈՐԿՅԱՆ

ՄԵԹԻԼՈՒՐԱՑԻԼԻ ՆԵՐԳՈՐԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ
ԲՋՋԻ ԵՎ ԷՔՍՊԼԱՆՏՍԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Սրտամկանի հյուսվածքի կուլտուրայում $1,10^{-3}$ — $1,10^{-5}$ խտությամբ մեթիլուրացիլը ունի դրական խրոնոտրոպ ազդեցություն: $1,10^{-5}$ խտությամբ մեթիլուրացիլը վերացնում է ստրոֆանտինի առաջացրած առիթմիան: $1,10^{-5}$ խտությամբ մեթիլուրացիլը ունի խթանող ներգործություն հավի սաղմի սրտամկանի էքսպլանտատի և նրա առանձին բջիջների աճի վրա:

A. E. KARAPETIAN and R. A. GEVORKIAN

THE EFFECT OF METHYLURACIL ON ISOLATED EXPLANTS AND CELLS OF THE MYOCARD

Summary

Methyluracile in concentrations of $1 \cdot 10^{-3}$ — $1 \cdot 10^{-5}$ manifests a positive chronotropic effect on myocardial explants in a tissue culture. In concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ it removes the arrhythmia caused by strophantidin. In concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ methyluracile has a stimulating effect on the growth of myocardial individual cells and explants of chicken embryos.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимов А. А. Материалы конференции. Стимуляторы функций ретикулоэндотелиальной системы. Уфа, 1967, 85.
2. Анджапаридзе О. Г. Культура ткани в вирусологических исследованиях. М., 1962.
3. Бельский Е. Е., Погосова А. В., Тулицкая Т. А. Материалы конференции по проблеме применения пиримидиновых и пуриновых производных в онкологии и других областях медицины, Л., 1966.
11. 4. Беркинзон Л. В. Мате-

- риалы конференции по проблеме применения пиримидиновых и пуриновых производных в онкологии и других областях медицины, Л., 1966, 14. 5. Гершанович М. Л. Материалы конференции по проблеме применения пиримидиновых и пуриновых производных в онкологии и других областях медицины. Л., 1966, 26. 6. Грех И. Ф. Материалы к проблеме применения некоторых пиримидиновых производных в онкологии. Докт. дисс., Л., 1965. 7. Гудасева Г. М. Материалы конференции. Стимуляторы ретикуло-эндотелиальной системы. Уфа, 1967, 43. 8. Лазарева Д. Н. Материалы конференции. Стимуляторы ретикуло-эндотелиальной системы, Уфа, 1967, 17. 9. Лазарев Н. В. и Мещерская-Штайнберг К. А. Новости медицины. 1949, 12, 11. 10. Лазарев Н. В. Вестник хирургии, 1956, 77, 2. 11. Лазарев Н. В., Вишняков С. М. Вестник хирургии, 1957, 79, 11, 19. 12. Лазарев Н. В. ЖМЭИ, 1957, 10, 41. 13. Лазарев Н. В., Флистович П. И. Вопросы онкологии. 1967, 7, 8, 65. 14. Завражнов В. Н. Труды Воронежского госмедицинского института, 1957, 29, 189. 15. Завражнов В. Н. Материалы конференции по проблеме медицинского применения пиримидиновых производных. Ростов-на-Дону, 1961, 81. 16. Завражнов В. Н., Цурикова З. Н. Материалы конференции по проблеме медицинского применения пиримидиновых производных в онкологии и других областях медицины. Л., 1966, 46. 17. Лукомский П. Е., Меерсон Ф. З., Соловьев В. В. Кардиология, 1967, 7, 3. 18. Неймарк И. О., Семенова М. П. Материалы конференции по проблеме применения пиримидиновых и пуриновых производных в онкологии и других областях медицины. Л., 1966, 78. 19. Погосян Л. А. Влияние некоторых изменений обмена веществ на кардиотонический эффект сердечных глюкозидов М., 1965. 20. Сеницын П. О., Лифшиц Р. И. Материалы конференции по проблеме применения пиримидиновых и пуриновых производных в онкологии и других областях медицины, Л., 1966, 92. 21. Шейнберг С. Я. Материалы конференции по проблеме применения пиримидиновых и пуриновых производных в онкологии и других областях медицины Л., 1966, 111. 22. Buckley N. M., Tsuboi K. K., Leig N. Y. Circular Res. 1959, 7, 6, 847—857. 23. Buckley N. M., Tsuboi K. K., Zeig N. Y. Circular Res. 1961, 9, 2, 242—249. 24. Buckley N. M., Tsuboi K. K. Circular Res. 1961, 9, 3, 618—625. 25. Repke K., Portius H. J. Monatsber Deutsch. Akad. Wiss. Berlin, 1963, 5, 3, 90—92. 26. Repke K., Portius H. J. Experientia, 1963, 19, 9, 452—458. 27. Rinaldini L. M. Exp. Cell. Res., 1958, 16, 477.