

Ispitivanje Tibetanskog leka u lečenju ateroskleroze

Ispitivano je dejstvo Tibetanskog leka u lečenju ateroskleroze. Kao biološki model u eksperimentu, korišćen je pacov. U toku 6 nedelja, u zavisnosti od diferencijacije po grupama, pacovi su dobijali hranu bogatu lipidnom komponentom i Tibetanski lek. Nakon 6 nedelja napravljeni su histološki preparati srčanog mišića, jetre i aorte, i određen je lipidni status pacova. Svi rezultati ukazuju na pozitivno dejstvo Tibetanskog leka kao inhibitora ugradnje holesterola u zidove krvnih sudova i neefrikasan uticaj na smanjenje koncentracije lipida u krvi.

Uvod

Od davnina je poznato lekovito dejstvo belog luka. Različiti časopisi često donose članke o blagotvornom dejstvu belog luka na zdravlje.

Beli luk (*Allium sativum*) sadrži inulin i skrob, pa je etarsko ulje optički neaktivno, žitko, specifičnog jakog mirisa. Najaktivnija supstanca belog luka je alicin (2-propen-tiosulfinat), koji nastaje dejstvom enzima alinaze na derivat cisteina aliin (s-alol-l-cistein-sulfoksid). Pored alicina, beli luk sadrži i antibiotik gericin, koji ne sadrži sumpor. Alicin se pod dejstvom kiseonika iz vazduha razlaže na uljaste sekundarne proizvode (dialildisulfid i dr.).

Utvrđeno je da vodeni rastvor alicina ima veliku baktericidnu moć (Tucakov 1990). Čak i u razblaženju 1:85000 do 1:125000 pokazuje antibakterijsko dejstvo u odnosu na neke Gram pozitivne i Gram negativne mikroorganizme (stafilokoke, streptokoke, bacili tifusa, dizenterije i koleru). Primena belog luka u medicini i farmaciji je velika. On ulazi u sastav preparata za poboljšanje apetita, stimulaciju nervnog sistema, protiv povišenog krvnog pritiska i ateroskleroze, koristi se kao antiseptik itd.

Ateroskleroza

Ateroskleroza je jedna od najrasprostranjenijih bolesti sadašnjice. Njen značaj se ogleda u tome što stvara uslove za lakši nastanak infarkta

*Vasko Roganović
(1979), Bečej, Rada
Stanišića 21, učenik 2.
razreda Gimnazije u
Bečeju*

u raznim organima, što rezultira izumiranjem njihovog tkiva, a to može imati i smrtne posledice. Stoga, svaka rana dijagnoza ove bolesti ima veliki značaj, kao i ispitivanje lekova koji bi doveli do njenog sprečavanja i lečenja.

Ateroskleroza je naziv za grupu bolesti arterija, čija je zajednička osobina zadebljanje zida aretrija uz gubitak elastičnosti. Tu postoje tri jasno odvojena oblika: monkebergova skleroza, ateroskleroza i arterioloskleroza.

Ateroskleroza je bolest velikih i srednjih arterija, koja se odlikuje pojavom vezivnih ploča u unutrašnjem sloju (intimi) zida arterija, koje se ispuče u zjap arterije i dovode do njegovog suženja. Ove ploče se sastoje iz jednog centralnog dela u kome se nalaze masna jedinjenja, uglavnom estri holesterola u ćelijama glatkih mišića i van njih, kao i raspadnute ćelije. Centralni deo je okružen omotačem sastavljenim od ćelija glatkih mišića, kolagenih vlakana i makrofaga. U daljem toku u ove ploče se talože soli kalcijuma. Endotel koji pokriva ove ploče nema više sposobnost da sintetiše prostaglandin 2 (koji sprečava adheziju trombocita i širi zjap arterija), te počinju da se stvaraju krvni ugrušci, koji još više sužavaju zjap arterija, ali mogu i da se otkinu i uzrokuju tromboembolije.

Postoje brojne teorije o uzrocima nastajanja aterosklerotskih ploča, ali danas je jednodušno prihvaćeno mišljenje da su ove promene uzrokovane reakcijom krvnog suda na lokalno oštećenje endotela. Štetni uticaji koji do ovakvog ošteđenja dovode mogu biti mehanički i hemijski.

Endotelne ćelije su izložene neprekidnim oštećenjima i to od strane vrtloga toka krvne struje. Ova pojava je naročito izražena kod osoba sa povišenim krvnim pritiskom (arterijska hipertenzija). Posledica ovog mehanizma je odlublivanje endotelne ćelije unutrašnjeg omotača (intime) krvnih sudova, što dovodi do athezije i agregacije trombocita, odnosno aktiviranje kaskadnog sistema faktora koagulacije i povećanja propustljivosti intime krvnih sudova za neke sastojke krvi koji učestvuju u stvaranju ateromske ploče.

Značajna uloga trombocita u genezi ateromskih ploča je oslobađanje materije poznate pod nazivom mitogeni činilac iz trombocita, što u mediji (srednjem sloju arterijskog zida) dovodi do bujanja ćelija glatkih mišića, koje prelaze u intimu na mestu oštećenja endotela. Za osnovu ovih ćelija vezuju se dalje kolagena i vezivna vlakna, te se na ovu osnovu dalje talože lipidi iz krvi. Stoga su ove glatke mišićne ćelije glavni sastojci ateromskih ploča. Uloga trombocita u nastanku ateromskih ploča važna je i zbog toga što iz svoje citoplazme oslobađaju serotonin, amin koji ubrzava odlublivanje endotela i izaziva spazam arterija, što dodatno dovodi do smanjivanja lumena arterije na mestu ateromskih promena i otežava cirkulaciju krvi.

Među hemijskim štetnim činiocima jedno od najvažnijih je hronično povećanje koncentracije holesterola u krvi. Kako masti dolaze u zid krvnog suda iz krvi, razumljivo je da će više masti, tj. holesterola dolaziti u zid krvnog suda, ukoliko je njegova koncentracija u krvi veća i ukoliko je krvni pritisak viši. Prema tome, razumljivo je da su hiperlipidemije, pored pušenja duvana, povišenog krvnog pritiska i šećerne bolesti, najvažniji faktori rizika za razvoj ateroskleroze i njenih posledica: koronarne bolesti srca sa infarktom miokarda, ateroskleroznih suženja moždanih krvnih sudova sa apoplektičnim inzultom i obliteracija perifernih arterija sa klaudikacijom i gangrenom (Plavšić 1992).

Holesterol

Od svih sterola u ljudskom organizmu, holesterol je najzastupljeniji. Kao i ostali steroli, on je alkohol, velike molekulske mase i ima tetracikličnu perhidroenantrensku strukturu sa 27 C-atoma.

Spada u grupu lipida zajedno sa estrima holesterola, fosfolipidima, trigliceridima i masnim kiselinama. Lipidi su nerastvorljivi u vodi, pa je njihovo prenošenje putem krvi moguće samo kada stvore komplekse sa belančevinama apoproteinima, čineći lipoproteine.

Lipoproteini plazme mogu da se podele na dva načina: u odnosu na specifičnu težinu i u odnosu na karakteristike mobiliteta pri elektroforezi. Po prvoj podeli, lipoproteini se dele na HDL (High Density Lipoproteins – lipoproteini velike gustine), LDL (Low Density Lipoproteins – lipoproteini male gustine), VLDL (Very Low Density Lipoproteins – lipoproteini veoma male gustine). Na osnovu druge podele, lipoproteini se dele na β -lipoproteine, pre β -lipoproteine, α -lipoproteine i hilomikrone. Pre β -lipoprotein odgovara VLDL, β -lipoprotein odgovara LDL, a α -lipoprotein odgovara HDL.

Hilomikroni su najvećih dimenzija i nastaju iz triglicerida unetih hranom. Oni odlaze u kapilare masnog i mišićnog tkiva, gde se skladište, odnosno služe kao izvor energije. Preostali hilomikroni odlaze u jetru gde se stvaraju VLDL. LDL čestice prenose oko 60% ukupnog holesterola u krvi, iz kojih se preko LDL receptora omogućava ulazak holesterola u ćelije. HDL čestice, koje prenose oko 20% ukupnog holesterola u krvi, zadržavaju ga na sebi i štite organizam od ateroskleroze, te je njegova snižena koncentracija takođe rizik za aterosklerozu. Nutritivne hiperlipoproteinemije nastaju pri ishrani velikog kalorijskog unosa. VLDL su povišeni pri hiperkaloričnoj ishrani i povišenom unosu zasićenih masnih kiselina, jednostavnih ugljenih hidrata i etil alkohola. LDL su povišene pri velikom unosu holesterola i zasićenih masnih kiselina (Karlson 1989).

Jetra predstavlja primarno mesto biosinteze holesterola. Nastali holesterol se opet otpušta u krv, delimično kao lipoprotein. Tako jetra snabdeva ostale organe u kojima je biosinteza holesterola smanjena zbog

prisutnog holesterola vezanog za lipoproteine. Jetra prima holesterol iz krvotoka, a prerađenog ga izlučuje ne samo u krv, već i u žuč. Žuč sadrži i žučne kiseline, glavne produkte razgradnje holesterola. Žučne kiseline imaju važnu funkciju emulgatora. One su nezamenljive prilikom resorpcije msti u crevima. Holesterol se takođe sintetiše u nadbubrežnim i polnim žlezdama.

Na osnovu iznetih činjenica opredelili smo se za ispitivanje dejstva tibetanskog leka na biološkom modelu pacova podvrgnutih dijeti bogatoj holesterolom.

Materijal i metode

Kao biološki model u eksperimentima su korišćeni odrasli pacovi soja Wistar (stari 2 meseca), muškog pola. Ukupan broj od 24 eksperimentalne životinje podeljen je u 4 grupe od po 6 životinja:

1. grupa – kontrolna (uobičajena ishrana)
2. grupa – ishrana bogata holesterolom (po šemi)
3. grupa – ishrana bogata holesterolom (po šemi) i Tibetanski lek
4. grupa – uobičajena ishrana uz primenjen Tibetanski lek

Šema režima ishrane obogaćene holesterolom:

Uobičajena ishrana laboratorijskih životinja podrazumeva brikete hrane u ukupnoj masi od 150 g dnevno, bez ograničenja unosa vode. Na ovaj način hranjene su laboratorijske životinje iz 1. i 4. grupe. Laboratorijske životinje iz 2. i 3. grupe dobijale su istu količinu briketa, natopljenih sa 4 ml 20% uljanog rastvora holesterola (proizvođač: ICN Galenika).

Tibetanski lek predstavljen je tinkturom belog luka, spravljenom u laboratoriji po receptu. Životinje iz 3. i 4. grupe dobijale su tibetanski lek kao dodatak vodi za piće. Životinje su bile smeštene u specijalno konstruisanom kavezu, koji se sastojao iz posebnih komora za po 2 pacova, pregrađenih pleksiglasom, tako da pacovi nisu bili izloženi eventualnom stresu usled izolacije.

Recept za tibetanski lek (za ljudsku upotrebu)

350 g dobro očišćenog i opranog belog luka usitni se tučkom od drveta ili pečene gline, i potopi u 300 g 96% etil-alkohola. Drži se 10 dana na hladnom mestu, sve se procedi kroz gustu tkaninu, i nakon 2-3 dana je spreman za korišćenje (u 50 g mleka sobne temperature).

Šema za upotrebu leka za čoveka i pacova data je u tabeli 1. Uzimajući za parametre prosečnu masu čoveka, masu pacova i dozu leka za ljudsku upotrebu, proporcijom je izračunata doza leka za pacove. Zatim je doza uvećana 7 puta, kao prosečna vrednost odnosa povećane brzine me-

tabolizma pacova u odnosu na čoveka (Fekete 1993). Kako u eksperimentu nije postojala mogućnost da se lek dozira podeljen u tri obroka, niti da se koristi mleko (iz fizioloških razloga), izračunata dnevna doza leka primenjena je u vodi koju su pacovi iz odgovarajućih grupa koristili u toku celog dana.

Tabela 1. Doziranje leka [ml] po danima

Dani	Čovek			Pacov
	doručak	ručak	večera	
1	0.1	0.2	0.3	0.14
2	0.4	0.5	0.6	0.35
3	0.7	0.8	0.9	0.56
4	1.0	1.1	1.2	0.77
5	1.3	1.4	1.5	0.98
6	1.5	1.4	1.3	0.98
7	1.2	1.1	1.0	0.77
8	0.9	0.8	0.7	0.56
9	0.6	0.5	0.4	0.35
10	0.3	0.2	0.1	0.14
11-42	2.5	2.5	2.5	1.75

Literaturni podaci ukazuju da je kod pacova 42 dana (6 nedelja) minimalno vreme za nastanak aterosklerotskih plakova (Fekete 1993; Gross 1991).

Nakon perioda od 6 nedelja utvrđen je lipidni status krvi (uzete iz srca) za po četiri laboratorijske životinje iz svake grupe. Krv je centrifugirana (7000 obrtaja/min), a zatim je iz dobijenih seruma određena koncentracija holesterola, triglicerida i HDL. Koncentracije holesterola i HDL su određene enzimskom metodom (CHOD-PAP) dok su koncentracije triglicerida određene standardnom GPO-PAP metodom (Majkić-Singh 1994). Koncentracija LDL određena je računskim putem, korišćenjem Friedwaldove formule:

$$LDL = Hol - (Tri/2.2 + HDL)$$

Pacovi su žrtvovani i u svrhu izrade patohistoloških preparata aorte, srčanog mišića i jetre. Patohistološki preparati sečeni su u kriostatu i bojeni Sudan metodom i analizirani svetlosnim mikroskopom.

Rezultati

Lipidni status krvi laboratorijskih životinja žrtvovanih nakon eksperimenat prikazan je u tabeli 2.

Tabela 2. Lipidni status laboratorijskih životinja

Grupa	Koncentracija [mmol/l]			
	trigliceridi	holesterol	HDL	LDL
1	1.38±0.16	0.83±0.05	0.14±0.03	0.06±0.04
2	1.33±0.40	1.45±0.21	0.15±0.05	0.69±0.37
3	2.07±0.46	2.42±0.12	0.17±0.04	1.31±0.32
4	0.51±0.14	0.93±0.2	0.05±0.04	0.65±0.14

Dobijeni rezultati su analizirani primenom Studentovog t-testa i pokazano je da između ove četiri eksperimentalne grupe postoji statistički značajna razlika ($p < 0.01$) na bar jednom ispitivanom parametru.

Kod 3. grupe pacova (koja je dobijala holesterol i lek) postoji povećanje koncentracije svih lipida u odnosu na ostale grupe. Kod 4. grupe pacova (dobijala uobičajenu ishranu i lek) postoji povećanje koncentracije holesterola u odnosu na kontrolnu grupu, kao i značajno povećanje koncentracije LDL. Kod 2. grupe pacova (dobijala hranu obogaćenu holesterolom) uočen je povišen nivo holesterola i LDL u odnosu na kontrolnu grupu. Nivo HDL je znatno smanjen kod 4. grupe.

Lipidni status određen kod kontrolne grupe je u pozitivnoj korelaciji sa literaturnim podacima.

Histološkim pregledom preparata aorte kod ispitivanih grupa, primećeno je da kod grupe 2 intima i bazalna membrana prikazanog dela aorte pokazuju lipidne depozite koji u potvrđeni Sudan bojenjem (slika 2).

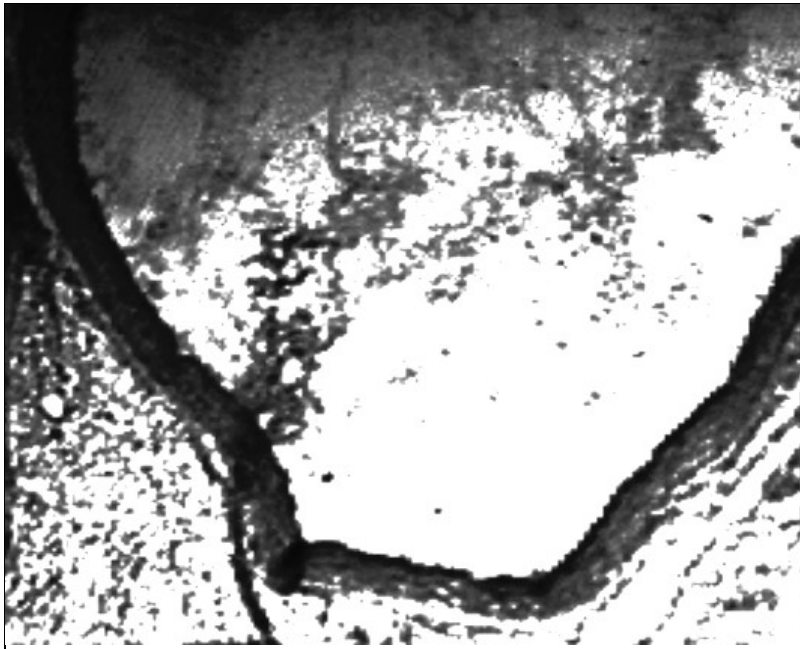
U grupi 3 na histološkom preparatu nisu pronađeni lipidni depoziti kao kod grupe 2, ali su primećene minimalne promene na intimi i bazalnoj membrani. Iz tehničkih razloga nije bilo moguće odrediti da li su histološke promene kod ove grupe posledice procesa ateromatoze, ili su neke druge prirode (slika 3).

Diskusija

Sprovedena istraživanja ukazuju na značajne izmene metabolizma pacova, kako u uslovima formiranja eksperimentalne ateroskleroze, tako i u uslovima primene tibetanskog leka kao antiaterogenog sredstva.

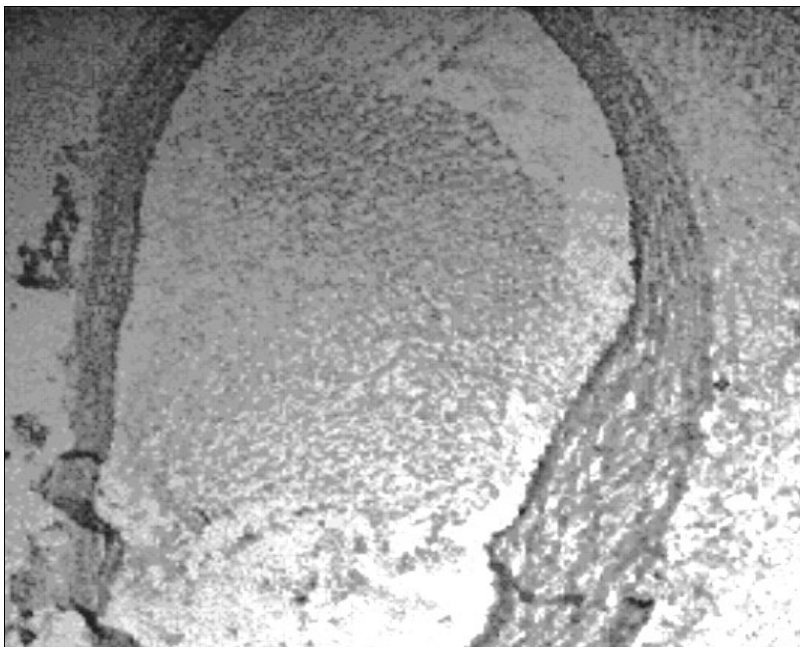
Ishrana bogata holesterolom je sledstveno uzrokovala povišen nivo holesterola u krvi kao i LDL frakcije lipoproteina koji su nosioci značajnog procenta holesterola u krvi pacova, što je u skladu sa nalazima drugih istraživača (Stefanović 1980; Gross 1991; Robins 1994).

Poremećaj lipidnog statusa uz prethodno opisane histoloske promene u grupi pacova koji su pored holesterolške dijeta dobijali i Tibetanski lek, verovatno je posledica nedovoljnog poznatog metaboličkog puta, kojim Tibetanski lek utiče na proces ateromatoze.



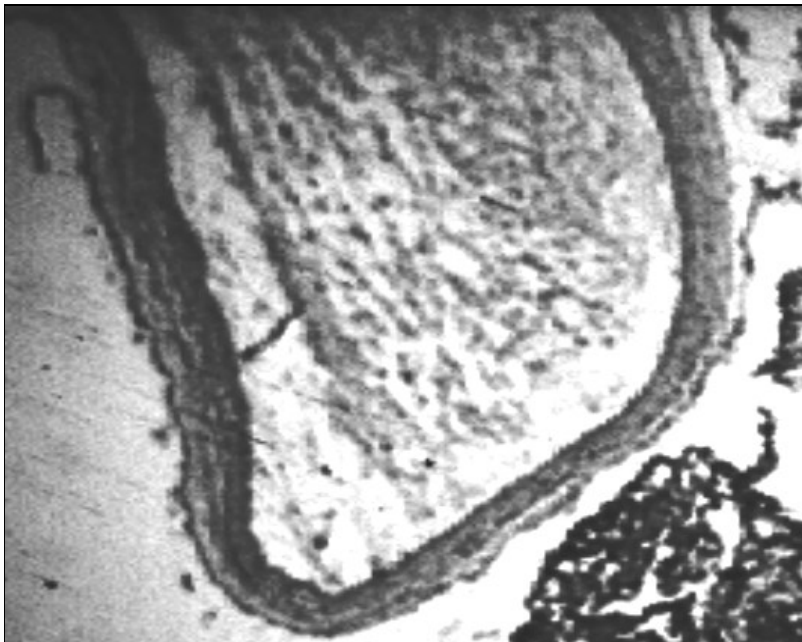
*Slika 1.
Aorta – kontrolna
grupa*

*Figure 1.
The aorta – controls*



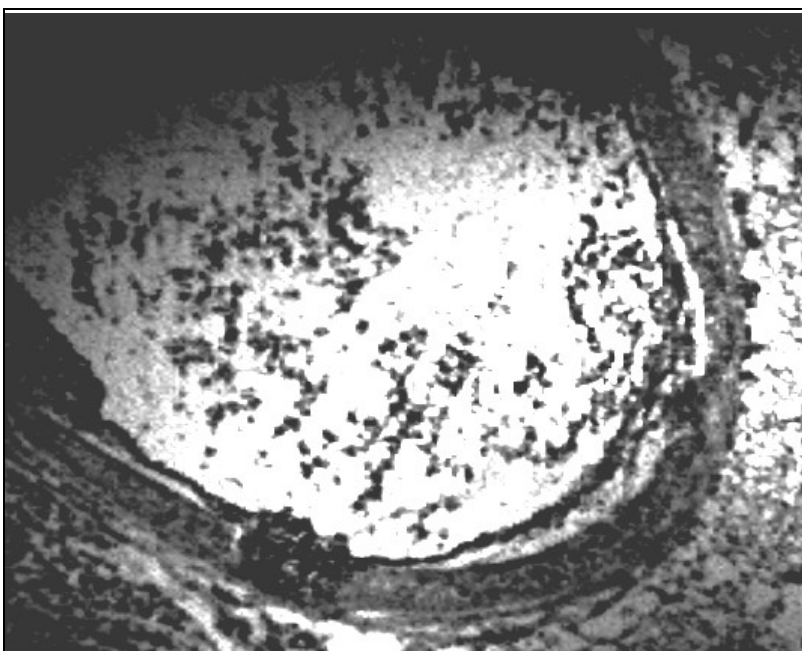
*Slika 2.
Aorta – holesterol*

*Figure 2.
The aorta –
cholesterol*



*Slika 3.
Aorta
– holesterol + lek*

*Figure 3.
The aorta –
cholesterol + drug*



*Slika 4
Aorta – lek*

*Figure 4.
– The aorta drug*

Kod svih grupa pacova zapažen je nizak nivo HDL. Ovakav nalaz ukazuje na neuključivanje prirodnih odbrambenih mehanizama protiv povišene koncentracije holesterola u krvi, čime je sledstveno povećan rizik od nastajanja ateroskleroze u krvnim sudovima. Neuključivanje opisanog zaštitnog mehanizma je verovatno uslovljeno relativno kratkim vremen-skim periodom izlaganja ishrani bogatoj holesterolom.

Zaključak

Utvrđeno je pozitivno dejstvo Tibetanskog leka u smislu sprečavanja ugradnje holesterola u zidove krvnih sudova i njegova neefikasnost u pogledu smanjenja koncentracije lipida u krvi. Naime, kod svih grupa koje su primale hranu bogatu holesterolom utvrđen je skok lipidnih komponenti, što je praćeno smanjenjem koncentracije HDL čestica koje se smatraju zaštitnim faktorom jer utiče na uklanjanje lipida iz krvi.

Rezultati ovog istraživanja upućuju na zaključak da postoji potreba da se ovo ispitivanje produbi, uz neophodnu analizu mehanizma dejstva i me-taboličkog puta tibetanskog leka, koji su ostali nepoznati.

Literatura

- [1] Majkić-Singh, N. T. 1994. *Klinička enzimologija*. Beograd: Medicinska knjiga
- [2] Petrović, V. 1992. *Biologija za 3. raz. gimnazije*. Beograd: Naučna knjiga
- [3] Tucakov, J. 1990. *Lečenje lekovitim biljem*. Beograd: Rad.
- [4] Karlson, P. 1989. *Biohemija*. Zagreb: Školska knjiga,
- [5] Stefanović, S. 1994. *Interna medicina*. Beograd: Naučna knjiga.
- [6] Plavšić, Č. 1992. *Bolesti srca i krvotoka. Infarkt srca*. Beograd: Medicinska knjiga.
- [7] Stefanović, S. 1980. *Specijalna klinička fiziologija*. Beograd: Medicinska knjiga.
- [8] Đuričić, J. 1990. *Fiziološki praktikum*. Beograd: Naučna knjiga.
- [9] Fekete, S. 1993. Animal Models in Experimental Atherosclerosis: a Critical Review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 41(1-2):3-9.
- [10] Gross, D. R. 1991. Animal models in cardiovascular research. Kluwer Academic Publisher. Second revised edition: 464-74.
- [11] Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. 1994. *Pathologic Basis of Disease, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co*

Vasko Roganović

Study of Tibetan Drug in Treatment of Atherosclerosis

We studied the action of a tibetan drug in treatment of atherosclerosis. The rat was used as a biological model in the experiment. For 6 weeks (the groups were differentiated) the rats received lipid-rich food and the tibetan drug. After six weeks histological preparations of the cardiac muscle, liver and aorta were made and the lipid state of the rats was determined. All results suggest favourable effect of the tibetan drug as the inhibitor of cholesterol uptake in the blood vessels and lack of the effect on the lipid blood levels.

