

## Efectul biochimic al extractului de *Ginkgo biloba* asupra metabolismului glucidic la șobolanii cu diabet zaharat (de tip 2 indus)

### Biochemical effect of Ginkgo biloba extract on carbohydrate metabolism in (induced type two) diabetic rats

Omayma A.R., Zaid A., Ali H.A., EL-Regaily A.F.Y.

Departamentul de Biochimie, Facultatea de Medicină Veterinară,  
Universitatea Benha Moshtohor, Qalioubeya, Egypt.

**Cuvinte cheie:** diabet zaharat tip-2, Ginkgo biloba, metabolism glucidic, șobolani.

**Key words:** type-2 diabetes, curcumin, Ginkgo biloba, glucidic metabolism, rats.

#### Rezumat

Extractul de ginkgo biloba (EGb 761) este folosit în medicina tradițională chineză de peste 5000 de ani, având diverse activități biologice și fiind util în tratamentul diabetului zaharat. Acest studiu a fost efectuat pe 120 de șobolani masculi, de 12-14 săptămâni cu o greutate cuprinsă între 150-200 g. Șobolanii au fost împărțiți pentru 2 experimente. Experimentul 1: șobolani non-diabetici. A inclus 40 de șobolani masculi sănătoși care au fost împărțiți în două grupe fiecare cuprinzând câte 20 șobolani ținuti în cuști metalice separate și clasificați după cum urmează: Grupul 1: șobolani non-diabetici cărora li s-au administrat 0,2 ml soluție salină normală (grup control). Grupul 2: șobolani non-diabetici cărora li s-au administrat extract de ginkgo biloba (GBE) (120 mg / kg), pe cale orală prin tub gastric, zilnic, timp de 6 săptămâni. Experimentul 2: Șobolanii diabetici "grupul STZ" (streptozotocină). A inclus 80 de șobolani masculi diabetici împărțiți în patru grupe, fiecare grupă cuprinzând 20 de șobolani ținuti separat în cuști metalice și clasificați după cum urmează: grupul 1: șobolani diabetici cărora li s-au administrat 0,2 ml de soluție salină normală (grup control). Grupul 2: șobolani diabetici cărora li s-au administrat extract de ginkgo biloba (GBE) (120 mg / kg), pe cale orală prin tub gastric, zilnic timp de 6 săptămâni. Grupul 3: șobolanii diabetici care au primit glibepridă (20mg / kg), administrată pe cale orală prin tub gastric, zilnic, timp de 6 săptămâni. Grupul 4: șobolani diabetici cărora li s-au administrat glibepridă în combinație cu (GBE), pe cale orală (1:1), prin tub gastric, zilnic timp de 6 săptămâni. Probele de sânge au fost colectate de la toate grupele de animale după 3 și 6 săptămâni de la debutul tratamentului. Serul a fost separat și prelucrat direct pentru determinarea concentrației în glucoză, lactat, colesterol total, triacilgliceroli, minerale (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>), L-MDA, nivelurile insulinei, glucagonului, testosteronului și activitatea AST și ALT. Rezultatele obținute au arătat o creștere semnificativă a glicemiei, colesterolului total, triacilglicerolilor, ALT, AST, L-MDA. Din contră, s-a înregistrat o scădere semnificativă a nivelurilor lactatului seric, insulinei, glucagonului, testosteronului, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> la șobolanii cu diabet induse prin streptozotocină pe toată durata experimentelor în comparație cu rezultatele grupului de control. Rezultatele acestui studiu au indicat că (GBE) are beneficii potențiale în tratamentul diabetului zaharat.

#### Abstract

Ginkgo biloba extract (EGb 761) has been used in traditional Chinese medicine for 5000 years that possesses various biological activities and has been shown to be useful in diabetes treatment. This study was carried out on 120, 12-14 weeks old male rats and weighted 150-200 gm. Rats were classified into two main large experiments. Experiment 1: Non-diabetic rats Included 40 of normal male rats were divided into two groups each one comprises 20 rats kept in separate metal cages and classified as follows: Group1: Non-diabetic rats were administered with 0.2 ml of normal saline only (control group). Group 2: Non-diabetic rats were received (GBE) (120 mg/kg bw), given orally by stomach tube and daily for 6 weeks. Experiment 2: Diabetic rats "STZ group" Included 80 male diabetic rats were divided into four groups each one comprises 20 rats kept in a separate metal cages and classified as follows: Group 1: Diabetic rats were administered with 0.2 ml of normal saline only (diabetic control group). Group 2: Diabetic rats were received (GBE) (120 mg/kg), given orally by stomach tube and daily for 6 weeks. Group 3: Diabetic rats were received glibepride (20mg/kg), given orally by stomach tube and daily for 6 weeks. Group 4: Diabetic rats received glibepride in combination with (GBE), given orally by stomach tube and daily (1:1) for 6 weeks. Blood samples were collected from all animals groups after 3 and 6 weeks from treatment. Serum were separated and processed directly for (glucose, Lactate, total cholesterol, triacylglycerol, Minerals (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>), L-MDA) concentration-(insulin, Glucagon, Testosterone) levels- (AST and ALT) activities were the parameters

of biochemical interest investigated. The obtained results revealed that, a significant increase in serum glucose, total cholesterol, triacylglycerol, ALT, AST, L-MDA concentration. On contrary, a significant decrease in serum lactate, insulin, glucagon, testosterone, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> levels were observed in streptozotocin-induced diabetic rats all over the periods of the experiments when compared with normal control group. The results of this study indicated that (GBE) has potential benefits in diabetes treatment.

## Introducere

Diabetul zaharat este un grup de boli caracterizate prin hiperglicemie cronică și alte anomalii metabolice care rezultă din acțiunea defectuoasă a insulinei James și col., (2003).

Pacientii cu diabet zaharat au un risc crescut la boli cardiovasculare, orbire, leziuni renale și nervoase ori amputari ale membrilor. Diabeticii prezintă de asemenea un risc mai mare de a dezvolta diferite tipuri de cancer din cauza perturbațiilor imunologice induse de metabolismul aberant Zimmet și col., (2003).

Wang și col., (2006) au dovedit că ginkgo biloba crește glicoliza aerobe prin sporirea activității citrat sintetazei, malat dehidrogenazei și succinat dehidrogenazei sau citocromoxidazei.

Ginkgo biloba a produs scăderea semnificativă a nivelurilor de radicali liberi, acest efect protector al ginkgo biloba fiind atribuit activității sale de curățare aradicalilor liberi, inducției enzimelor de detoxifiere, oferind protecție împotriva bolilor degenerative Glasiella și col., (2011).

Chung și col., (2001) au raportat că 50 mg / kg de ginkgo biloba administrate timp de 40 zile au scăzut cu 46 și 20% activitatea de limitare a enzimei gluconeogenice glucoză-6-fosfatază în preparatele din ficat la șoarecii diabetici.

Prin urmare, scopul acestor experimente a fost investigarea posibilului efect protector al tratamentului cu extract de Ginko biloba în diabetul indus experimental la șobolanii masculi.

## Material și Metode

Un număr total de 120 de șobolani masculi, albinoși de 12-14 săptămâni și cântărind 150-200 g au fost utilizați în cadrul anchetei experimentale a acestor studii. Șobolanii au provenit de la Institutul de Cercetari Oftalmologice, Giza, Egipt.

Animalele au fost adăpostite în cuști de metal separate, apă potabilă proaspătă și curată fiind furnizată ad-libitum prin mamelon specific. Șobolanii au fost ținuti în condiții constante de mediu și nutriționale pe întreaga perioadă a experimentului.

### Inducerea diabetului

S-a realizat prin intermediul streptozotocinei rezultă din pierderea masei de celule β, însoțită frecvent de infiltrarea insulelor cu celule activate ale sistemului imunitar. Șobolanii au fost supuși unei diete prin înfometare timp de 18 ore cu meținerea accesului liber la apă. Inducerea experimentală a diabetului la șobolanii masculi s-a realizat printr-o singură administrare intraperitoneală (ip) de streptozotocină (STZ) proaspăt dizolvată în tampon citrat, pH 4,5, în doză de 50 mg / kg greutate corporală (Sigma Chemical Co. PO Box. 14508, St. Low IS, USA). Șobolanii martor au primit o cantitate echivalentă de soluție tampon.

O săptămână mai târziu, șobolanii tratați cu streptozotocină au fost înfomețați timp de 12 ore, colectându-se apoi probe din sinusul venos orbital pentru determinarea glucozei. Numai acei șobolani din grupa diabetică (grupa II) cu glicemia mai mare de 250 mg / dl au fost considerați diabetici (Ramanathan et al, 1999).

### Designul experimental:

Studiul experimental a fost împărțit în două experimente separate după cum urmează:

#### Experimentul A: șobolani non-diabetici "grupul de control"

A inclus 40 de șobolani masculi împărțiți în două grupe fiecare cuprinzând câte 20 de șobolani ținuti în cuști metalice separate și clasificați după cum urmează:

**Grupul 1:** Șobolani non-diabetici cărora li s-au administrat 0,2 ml soluție salină normală (grupul de control).

**Grupul 2:** Șobolani non-diabetici cărora li s-au administrat extract de ginkgo biloba (120 mg / kg), pe cale orală prin tub gastric, zilnic, timp de 6 săptămâni.

#### **Experimentul B: șobolani diabetici "grupul STZ"**

Un număr total de 80 de șobolani de sex masculin cu diabet zaharat au fost împărțiți în patru grupuri fiecare cuprinzând câte 20 de șobolani ținuți în cuști de metal separate și clasificați după cum urmează:

**Grupul 1:** Șobolani diabetici cărora li s-au administrat 0,2 ml soluție salină normală (grupul de control cu diabet zaharat).

**Grupul 2:** Șobolani diabetici cărora li s-au administrat extract de ginkgo biloba (120 mg / kg), pe cale orală prin tub gastric, zilnic, timp de 6 săptămâni.

**Grupul 3:** Șobolani diabetici care au primit glimepridă (20mg / kg), administrată pe cale orală prin tub gastric, zilnic, timp de 6 săptămâni.

**Grupul 4:** Șobolani diabetici care au primit glimepridă în combinație cu extract de ginkgo biloba (1:1), administrate pe cale orală prin tub gastric, zilnic, timp de 6 săptămâni.

Probele de sânge au fost colectate dimineața, în tuburi curate și uscate, prin decapitarea șobolanilor la 3 și 6 săptămâni de la debutul tratamentului, ser fiind separat prin centrifugare la 3000 rpm timp de 15 minute.

Serul clar s-a aspirat cu o pipetă Pasteur și introdus într-o eprubetă sterilă, fiind procesat direct pentru determinarea enzimelor, apoi păstrat într-un congelator la -20°C pentru a fi folosit la determinări biochimice ulterioare.

Concentrațiile (glucoza, lactat, colesterol total, triacilgliceroli, (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>), L-malondialdehida), nivelurile (insulină, glucagon, testosteron) și activitățile enzimelor serice (AST și ALT) au fost analizate colorimetric conform metodelor descrise de (Trinder., 1969), (Burtis și col., 1999), (Richmond., 1973), (Schettler și Nussel., 1975), (Sunderman., 1958), (Gindler și Rege., 1972), (Placer și col., 1966), (Baba și col., 1979), (Dudley și col., 1985) și (Reitman și Frankel., 1957).

**Analiza statistică** a rezultatelor obținute a fost efectuată utilizând Student F-test conform lui Snedecor și Cochran., (1969).

## **Rezultate și Discuții**

### **Streptozotocina (STZ):**

Rezultatele au relevat ca administrarea i.p. de streptozotocină la șobolanii masculi albișori induce aceleași simptome fiziopatologice întâlnite la șobolanii diabetici.

Rezultatele noastre au arătat o creștere semnificativă a concentrațiilor serice (glucoză, colesterol total, triacilgliceroli, ALT, AST, L-MDA) la șobolanii cu diabet indus prin administrare de streptozotocină pe toată durata experimentelor.

Aceste rezultate sunt aproape similare cu cele raportate de (Yimaz și col., 2004) care au precizat că concentrația de glucoză în plasma sanguină a șobolanilor tratați cu streptozotocină a fost semnificativ mai mare decât în grupul de control.

Hipercolesterolemia este comună în diabetul zaharat, contribuind la prevalența înaltă a bolilor coronariene Gentile și col., (2000).

Creșterea pronunțată a nivelului de colesterol plasmatic la șobolanii diabetici este în concordanță cu rezultatele raportate anterior de (Black și col., 1993) care au observat că nivelurile glucozei, trigliceridelor și colesterolului au fost crescute semnificativ în cazul șobolanilor masculi Wistar cu diabet indus prin administrare de streptozotocină (STZ) (55 mg / kgc intravenos)

Ahmed și col., (2001), au arătat că există o creștere semnificativă a colesterolului non-esterificat plasmatic, trigliceridelor și fosfolipidelor la șobolanii cu diabet indus prin STZ, însoțită de o scădere a lipoproteinelor cu densitate mare (HDL).

Sundaram și col., (1996), au demonstrat că MDA plasmatică a manifestat o creștere de 80% în primele stadii ale diabetului, și o creștere mai progresivă ulterior explicată prin faptul că factorii care favorizează formarea de specii reactive de oxigen poate cataliza peroxidarea lipidelor din plasma și alte țesuturi iar la pacienții diabetici controlați inadecvat, oxidarea glucozei pe calea fosfat pentozei inițiază formarea

excesivă de NADPH, aceasta la rândul ei provocând peroxidarea lipidelor în prezența sistemului citocrom P-450.

Mohammad și col., (2006), au arătat că aminotransferazele hepatice (AST și ALT) au crescut semnificativ crescută la animalelor tratate cu STZ.

Creșterea nivelurilor aminotransferazelor se poate datora lezării celulare la nivelul ficatului cauzate de diabetul indus de STZ. Mai mult, (Voss et al., 1988) au relevat că STZ administrat animalelor cu hiperglicemie a cauzat o creștere temporară a nivelurilor AST, ALT, și ALP.

Rezultatele noastre au arătat o scădere semnificativă a concentrațiilor serice (lactat, insulina, glucagonul, testosteron,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ) observate la șobolanii cu diabet indus de streptozotocină pe toată durata experimentelor. Aceste rezultate sunt aproape similare cu cele raportate de (Ismail și col., 2002) care au observat că nivelurile plasmatiche de lactat la iepurii cu diabet zaharat au fost semnificativ mai mici în comparație cu grupele control.

Mai mult, (Tanaka și col., 1988) și (Margiavichene și col., 1986) nu au observat creșteri a nivelului de lactat între șobolanii diabetici și grupul de control.

Aceste rezultate sunt în concordanță cu rezultatele raportate de (Krukoff și Patel., 1990) care au constatat că, la două săptămâni după injectarea unică de STZ (65 mg / kg ip) nivelul de  $\text{Na}^+$  plasmatic a scăzut. De asemenea, (Brooks și col., 1989) au observat aceleași rezultate după injectarea STZ (50 sau 75 mg / kg iv) la șobolanii masculi Sprague-Dawley.

Mulți cercetători au explicat scăderea nivelului de  $\text{Ca}^{+2}$  seric la diabetici ca o consecință a reducerii transportului  $\text{Ca}^{+2}$  la nivel duodenal (Schneider și Schedl., 1972) sau a afectării reabsorbției renale a  $\text{Ca}^{+2}$  Cheung., (1980).

Krukoff și Patel., (1990), au arătat că o scădere semnificativă a nivelului de  $\text{K}^+$  seric a fost observată la șobolanii cu diabet indus prin administrare de streptozotocină.

Robertson., (2004), a raportat că diabetul zaharat cuprinde un grup de boli cronice caracterizate prin hiperglicemie sau secreție

diminuată de insulină ori ambele și efecte profunde asupra metabolismului lipidelor.

Contrar, (Nishida și col., 2002) au observat că, șobolanii diabetici netratați au avut concentrațiile plasmatiche crescute de trigliceride, colesterol, insulina și leptina la 35 de săptămâni, comparativ cu șobolanii din grupul de control.

Noguchi și col., (1990), au observat că concentrațiile plasmatiche de testosteron la șoarecii cu diabet indus prin STZ au fost mai mici decât cele ale șoarecilor sănătoși.

### **Extractul de Ginkgo biloba (GBE)**

Rezultatele acestui studiu au arătat că administrarea orală de extract de ginkgo biloba a redus semnificativ nivelul ridicat de glucoză din ser la șobolanii cu diabet indus de streptozotocină (STZ) pe toată durata experimentelor. Aceste rezultate sunt aproape similare cu cele înregistrate de (Lai și col., 2006), care au arătat că, (GBE) produce scădere semnificativă a nivelului de glucoză la șobolanii diabetici după administrarea orală, prin trei posibile mecanisme care ar putea fi implicate în modularea nivelului glucozei sanguine:

- (1) modularea captării glucozei;
- (2) modularea eliminării a glucozei;
- (3) modularea secreției de insulină.

Rezultatele noastre au arătat că, administrarea orală de Ginkgo biloba a crescut semnificativ concentrația lactatului seric pe toată durata experimentelor în comparație cu cele obținute la șobolanii diabetici. Aceste rezultate sunt aproape similare cu cele înregistrate de (Oliver și col., 1993) care au precizat ca extractul de Ginkgo biloba ajută la reducerea zaharurilor din sange și de asemenea ajută ficatul și rinichii în metabolizarea eficientă a zaharurilor din sange ori prin reducerea activității enzimelor implicate în eliberarea glucidelor din formele de depozit hepatice în sânge. Rezultatele noastre au arătat că, administrarea orală de extract de ginkgo biloba au scăzut semnificativ concentrațiile serice ale colesterolului total, triacilglicerolilor și L-MDA obținute pe toată durata experimentelor, comparativ cu rezultatele obținute la șobolanii diabetici.

Rezultatele sunt aproape similare cu cele înregistrate de (Anstey și col., 2008) care a constatat că acțiunea ginkgo biloba poate fi reglată la nivel de proteine prin expresia genei ABCA1 și poate crește expresia genei ACAT1, indicând faptul că celulele de ginkgo biloba pot promova eficient transformarea și transportul invers al colesterolului, ceea ce poate reduce conținutul de colesterol prin scăderea colesterolului celular și a colesterolului exogen.

Horsch și Walther (2004), au observat că administrarea orală de (GBE) a determinat o scădere semnificativă a concentrațiilor serice și hepatice a colesterolului, trigliceridelor, acizilor grași liberi, fosfolipidelor, colesterolului (VLDL) și (LDL) și creșterea nivelului de colesterol (HDL).

Park și col., (2003), au arătat că extractul de Ginkgo biloba (EGB 761) a dus la scăderea concentrațiilor serice de dialdehidă malonică și la intensificarea activităților catalazei, comparativ cu grupul placebo ( $p < 0.05$  pentru ambele grupuri).

Rezultatele noastre au arătat că, administrarea orală de extract de ginkgo biloba a crescut semnificativ concentrația serică de potasiu în timp ce o descreștere nesemnificativă a concentrațiilor serice de sodiu și calciu au fost observate pe toată durata experimentelor, comparativ cu rezultatele obținute la șobolanii diabetici.

Aceste rezultate sunt aproape similare cu cele înregistrate de (Anstey și col., 2008), care a efectuat un proiect de cercetare privind efectul extractului de Ginkgo biloba asupra nivelurilor serice de electroliți la subiecții sănătoși. Ei au descoperit că *Ginkgo biloba* nu a modificat în mod semnificativ nivelurile de  $K^+$  și  $Ca^{++}$ , scăzând ușor nivelul de  $Na^+$ , dar în limite normale.

Lai și col., (2006) au raportat că administrarea zilnică de insulină la șobolanii cu diabet indus prin STZ corectează concentrația în oligoelemente.

Acest lucru poate fi o explicație pentru îmbunătățirea care urmează tratamentului cu *Ginkgo biloba* care remediază poliuria și pierderea excesivă de electroliți prin urină. Rezultatele noastre au mai arătat că administrarea orală de extract de ginkgo biloba

au crescut semnificativ nivelurile serice de insulină, glucagon și testosteron pe toată durata experimentelor comparativ cu șobolanii STZ diabetici.

Aceste rezultate sunt în acord cu concluziile (Lai și col., 2006), care au declarat că GBE produce o creștere semnificativă a nivelului de insulină la șobolanii diabetici după administrarea orală prin activarea celulelor beta Langerhans în pancreas.

Randle (1998) a înregistrat că Ginkgo biloba conține substanțe care ajută la controlul nivelului de zahăr din sânge și crește producția de glucagon.

Prin urmare, nivelul de glucagon afectat de plante, care stimulează eliberarea de insulină, reduce nivelul de glucoză din sânge care duce la creșterea glucagonului pentru a genera glicogenoliza în vederea realizării unui echilibru al nivelului de glucoză.

Ferrandini și col., (1993) au arătat că tratarea șobolanilor masculi adulți cu extract de ginkgo biloba timp de 60 zile a crescut nivelul de testosteron din sânge și a redus greutatea prostatei la animalele tratate comparativ cu lotul martor de animale.

### **Glimepirida**

A doua generație de agenți hipoglicemianți oral, cum ar fi glipizida și glimepirida sunt considerate adesea tratamentul adecvat în diabetul zaharat non-insulino dependent.

Glimepirida reduce semnificativ nivelul glicemiei la șobolanii masculi albinoși STZ diabetici, aceasta fiind însoțită de o creștere semnificativă a nivelului de insulină serică. Acest efect hipoglicemiant și hiperinsulinemic este similar cu cel observat de Simpson și col., (1990).

Johnson și Dobmeier (1990) au raportat că glimepirida (10 mg) a produs o acțiune hipoglicemiantă la pacienții cu diabet zaharat. Rezultatele noastre, de asemenea, au arătat că administrarea orală a glimepiridei a crescut în mod semnificativ nivelul insulinei serice pe toată durata experimentelor comparativ cu șobolanii cu diabet indus prin STZ.

Jackson și Bressler (1981) au explicat că sulfonilureele stimulează eliberarea de insulină prin creșterea AMPc în celulele  $\beta$  pancreatice,

fie prin stimularea activității adenilatciclazei (Kuo și colab., 1973) fie prin inhibarea fosfodiesterazei Gohil și Packer., (2002).

Rezultatele noastre au aratat ca administrarea orală a glimepiridei a crescut în mod semnificativ nivelul de testosteron seric pe toată durata experimentelor comparativ cu șobolanii diabetici STZ.

Noguchi și col., (1990) au raportat că nivelul de testosteron scade la șoarecii diabetici STZ. Ei au descoperit că aceste animale cu diabet zaharat au aratat o deficiență semnificativă a factorul de crestere epidermica, fapt important în menținerea spermatogenezei și a numărului spermatozoizilor.

Administrarea de insulină la șoarecii diabetici a refăcut concentrația factorului de crestere epidermica și a readus numărul de spermatozoizi la un nivel normal.

Efectele de refacere ale insulinei asupra producției de sperma par a fi mediate, în parte, de factorul de creștere epidermică, pentru că efectul său a fost redus semnificativ de administrarea concomitentă a antiserului factorului de crestere epidermal.

Rezultatele noastre au arătat că administrarea orală de glimepiridă a scăzut semnificativ concentrația colesterolului seric total pe toată durata experimentelor comparativ cu șobolanii diabetici STZ.

Acțiunea hipocolesterolemica este similară cu cea relevată de (Simpson și col., 1990) care a observat o scădere a colesterolului la toți pacienții diabetici de tip 2 care au urmat un tratament cu glimepirida timp de opt săptămâni.

Annamala și Augusti (1980) au raportat că sulfonilureele, de exemplu glimepirida, au îmbunătățit în mod semnificativ starea diabetică și au dus la reducerea lipidelor serice și hepatice la iepurii cu diabet zaharat, în urma administrării constante timp de mai multe zile.

Acest lucru este similar cu rezultatele obținute la șobolanii masculi diabetici utilizați în acest studiu.

Rezultatele noastre au aratat ca administrarea orală a glimepiridei a crescut în mod semnificativ concentrația sodiului seric în timp ce concentrațiile plasmatiche ale potasiului și calciului nu s-au modificat semnificativ pe toată durata experimentelor, comparativ cu șobolani diabetici.

Aceste modificări asupra nivelurilor serice de electroliți pot fi datorate capacității glimepiridei de a stimula eliberarea insulinei din celulele beta pancreatice Simpson și col., (1990). Prin urmare, insulina eliberată inhibă excreția urinară de  $Ca^{++}$  și  $Zn^{++}$  și determină creșterea concentrațiilor plasmatiche ale acestor elemente Victory și col., (1981).

### Combinția Ginko biloba-glimepiridă:

Rezultatele acestui studiu au arătat că utilizarea combinației de extract de *Ginko biloba* și glimepiridă a dus la reducerea semnificativă a nivelului glucozei la șobolanii cu diabet indus prin STZ, pe toată durata experimentelor.

S-a constatat că combinația de extract de *Ginko biloba* și glimepiridă a condus la creșterea semnificativă a nivelului insulinei serice la șobolanii diabetici pe toată durata experimentelor.

Bodmer și col., (2008), au precizat că o combinație de (GbE), cu sulfoniluree (ca glimepirida (antidiabetice orale) produce o scădere a nivelului de glucoză, această combinație permițând pacienților diabetici să depășească efectele secundare ale sulfonilureelor.

**Tabelul 1.**

Media  $\pm$ E.S. ale serului (glucoza, insulina, testosteron, colesterol total, triacilglicerol, AST, ALT) în raport cu tratamentul și săptămâna de prelevare a probelor:

Parametru	anământpăS	Control	GBE	STZ	STZ+ GBE	STZ+ GLI	STZ+ GBE +GLI
Glucoză (mg/dl)	3	94.90 $\pm$ 3.91	81.34 $\pm$ 2.46	285.39 $\pm$ 3.05	234.46 $\pm$ 3.07	115.44 $\pm$ 2.55	103.34 $\pm$ 1.62
	6	101.29	100.77	291.79	208.10	193.14	140.40

		±1.44	±3.42	±4.14	±2.09	±1.45	±2.07
Insulină ( $\mu$ U/ml)	3	26.44 ±0.74	28.44 ±0.40	09.46 ±0.35	16.56 0.28	19.50 ±0.51	21.53 0.69
	6	29.07 ±0.76	30.14 ±0.59	11.63 ±0.20	18.54 0.21	18.27 0.40	26.03 0.59
Testostosteron (mg/ml)	3	2.79 ±0.09	2.89 ±0.08	1.76 ±0.06	2.24 ±0.08	2.59 ±0.08	1.94 ±0.06
	6	2.41 0.06+	2.51 ±0.05	1.87 ±0.06	2.51 ±0.08	2.29 ±0.11	2.17 ±0.09
Colesterol Total (mg/dl)	3	110.36 ±2.07	114.87 ±2.40	165.76 ±1.99	137.37 ±1.81	142.44 ±1.20	141.09 ±1.57
	6	120.90 ±1.95	92.71 ±1.93	176.64 ±2.03	120.19 ±1.18	121.60 ±1.66	117.71 ±1.32
Triacil-glicerol (mg/dl)	3	80.81 ±2.15	73.50 ±1.70	149.21 ±1.87	118.63 ±2.62	118.03 ±2.33	120.54 ±2.61
	6	92.26 ±2.19	63.99 ±1.80	141.94 ±2.23	106.69 ±2.84	118.31 ±2.41	119.87 ±1.69
AST (U/ml)	3	28.34 ±0.98	29.73 ±1.54	55.40 ±1.73	38.21 ±1.43	49.31 ±1.01	54.49 ±1.71
	3	26.44 ±0.74	24.37 ±1.78	58.60 ±1.54	55.21 ±1.72	54.74 ±1.72	49.00 ±1.04
ALT (U/ml)	3	29.74 ±1.54	30.20 ±0.60	48.73 ±1.07	32.00 ±1.25	49.17 ±1.01	51.31 ±1.71
	6	28.34 ±0.40	25.19 ±0.89	49.71 ±2.46	34.10 ±1.30	51.57 ±1.73	44.21 ±2.05

**Legenda:** ++: P <0,01, NS: ne semnificativ, Valori cu litere mici / mari diferite în aceeași coloană / rând, respectiv diferite semnificativ, cu P <0,05

Tabelul 2

Media  $\pm$ E.S. ale serului (sodiu, potasiu, calciu, Glucagonul, lactat, L-malondialdehida) în raport cu tratamentul și săptămâna de prelevare a probelor:

Parametru	anământpăS	Control	GBE	STZ	STZ+ GBE	STZ+ GLI	STZ+ GBE +GLI
Sodiu ( $\mu$ g/ml)	3Weeks	110.93 ±2.31	125.76 ±2.01	81.34 ±2.20	79.77 ±1.50	78.84 ±1.50	73.66 ±1.70
	Weeks6	104.61 ±1.45	101.06 ±2.45	77.54 ±2.80	72.79 ±1.57	100.94 ±2.13	65.30 ±1.69
Potasiu ( $\mu$ g/ml)	3Weeks	12.39 ±0.45	11.66 ±0.21	6.50 ±0.20	6.99 ±0.26	5.70 ±0.16	9.46 ±0.35
	Weeks6	11.62 ±0.20	9.43 ±0.34	6.54 ±0.29	9.34 ±0.32	6.87 ±0.26	9.04 ±0.32
Calciu ( $\mu$ g/ml)	3Weeks	3.57 ±0.13	3.10 0.15	1.49 ±0.08	1.50 ±0.08	1.60 ±0.11	1.11 ±0.05
	6	4.21 ±0.13	4.67 ±0.14	1.74 ±0.06	1.94 ±0.19	1.93 ±0.06	1.37 ±0.07
Glucagon ( $\mu$ U/ml)	3	120.31 ±1.17	128.56 ±2.74	75.91 ±1.83	85.47 ±1.37	99.23 ±2.02	102.31 ±2.01
	6	109.23 ±2.91	105.14 ±1.89	80.63 ±1.87	86.34 ±1.36	97.63 ±1.66	103.37 ±1.75
Lactat (mg/dl)	3	42.17 ±2.68	45.44 ±2.15	29.67 ±1.54	34.60 ±1.02	34.06 ±1.30	30.26 ±0.62
	6	42.11 ±1.01	48.80 ±1.08	31.89 ±1.61	37.19 ±1.23	34.71 ±1.05	37.51 ±1.02
L-malondialdehidă (nmol/ml)	3	9.69 ±0.23	9.80 ±0.25	12.84 ±0.54	11.87 ±0.36	11.53 ±0.30	10.34 ±0.19
	Weeks6	9.74 ±0.23	9.81 ±0.19	13.50 ±0.41	11.64 ±0.31	10.54 ±0.38	9.67 ±0.19

**Legenda:**+++ P <0,01, NS: ne semnificativ, Valori cu litere mici / mari diferite în aceeași coloană / rând, respectiv diferite semnificativ, cu P <0,05

## Concluzii

Tratamentul inițial în cazurile de diabet zaharat de tip II este reprezentat de dieta și pierderea în greutate, mai ales în cazurile de obezitate, cu menținerea nivelului de glucoză din sânge.

Utilizarea extractului de Ginkgo biloba a avut o influență pozitivă în reducerea nivelului de glucoză și grăsimi din sânge la șobolanii care au dezvoltat diabet zaharat, acest extract neavând efecte secundare după cum reiese din studiul efectuat pe șobolani sănătoși și șobolani cu diabet zaharat.

Utilizarea concomitentă a extractului de Ginkgo biloba și glimepiridă a dus la potențarea reciprocă a efectului hipoglicemiant și de reducere a lipidelor din sânge la șobolanii cu diabet zaharat, permițând pacienților reducerea dozei de glimepiridă și astfel reducerea efectele secundare ale acesteia.

## Bibliografie

- Ahmed I., Lakhani M.S., Gillett M., John A., Raza H. (2001)** - Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic Momordica charantia (karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 51(3): 155-161.
- Annamala P.T, Augusti K.T. (1980)** - Experimental (BASEL), 36(4): 283. Cited by H.E.Mohamed, Biochemical studies on the effect of selected antidiabetic drugs in normal animals and experimental diabetes mellitus, Ph.D thesis, Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Zagazig, (1987).
- Anstey K.J., Lipnicki D.M., Low L.F. (2008)** - Cholesterol as a risk factor for dementia and cognitive decline: a systematic review of prospective studies with meta analysis (J). *Am J Geriatr Psychiatry*; 16 (5): 343-54.
- Baba S. (1979)** - Metabolism of insulin and proinsulin. *Excerpta Med. I.C.S.*, 468:270.
- Black S.C., Katz S., Neill J.H. (1993)** - Influence of omega-3 fatty acid treatment on cardiac phospholipid composition and coronary flow of streptozocin-diabetic rats. *Metabolism.* 42(3): 320-326.
- Bodmer M., Meier C., Krahenbuhl S., Jick S.S, Meier C.R. (2008)** - Metformin, sulfonylureas, or other antidiabetes drugs and the risk of lactic acidosis or hypoglycemia: a nested case-control analysis. *Diabetes Care*; 31: 2086-2091.
- Brooks D.P., Nutting D.F., Crofton J.T., Leonard A. (1989)** - Vasopressin in rats with genetic and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes.* Vol. 38, P.54.
- Burtis A.; Achwoo, E.R., Youngchim C. (1999)** - Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3<sup>rd</sup> Ed.
- Cheung W.Y. (1980)** - Science, 207:19. Cited by H.E. Mohamed, Biochemical studies on the effect of selected antidiabetic drugs in normal animals and experimentally diabetes mellitus, Ph.D thesis, Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Zagazig (1987).
- Chung S.H., Choi C.G., Park S.H. (2001)** - Comparisons between white Ginseng radix and Ginkgo biloba for antidiabetic activity and mechanism in KKAY mice. *Arch Pharm Res* 24: 214-218.
- Dudley R.A; Schmitt A.B., Altschuler R.L. (1985)** - Guidelines for immunoassay data reduction. *Clin.Chem.*,31:1264-71.
- Ferrandini C, Droy-Lefaix M.T., Christen Y. Eds (1993):** Ginkgo biloba Extract (EGb 761) as a Free Radical Scavenger. Elsevier, Paris, France.
- Gentile S.; Turco S.; Guarino G. (2000)** - Comparative efficacy study of atorvastatin vs. simvastatin, pravastatin, lovastatin and placebo in type 2 diabetic patients with hypercholesterolemia. *Diabetes*, 2: 355-362.
- Gindler, E.M., King J.D. (1972)** - Rapid colorimetric determination of calcium in biologic fluids with methylthymol blue. *Am J Clin Path.*, 58: 376-382.
- Gonzalez Perez Da Silva G., Zanoni J.N., Buttow N.C. (2011):** Neuroprotective action of Ginkgo biloba on the enteric nervous system of diabetic rats. *World J Gastroenterol.*; 17(7): 898-905
- Gohil K., Packer L. (2002)** - Bioflavonoid-rich botanical extracts show antioxidant and gene regulatory activity. *Ann N Y Acad Sci.*; 957: 70-77.
- Horsch S., Walther C. (2004)** - Ginkgo biloba special extract EGb 761 in the treatment of peripheral arterial occlusive disease (PAOD) - a review based on randomized, controlled studies. *Int J Clin Pharmacol Ther.*, 42(2):63-72.
- Jackson J.E. And Bressler R. (1981)** - Clinical pharmacology of sulfonylurea hypoglycemic agents. *Drugs* 22: 211.
- James R.; Alberti M.D., Mayer B. (2003)** - Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 26(1): S5-S11.
- Johnson J.F., Dobmeier M.E. (1990)** - Symptomatic hypoglycemia secondary to glipizide-trimethoprim sulfamethoxazole drug interaction. *DICP*, 24(3): 250-251.



21. **Krukoff T.L., Patel K.P. (1990)** - Alterations in brain hexokinase activity associated with streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat. *Brain Res.*, 522(1):157.
22. **Lai D.M., Tu Y.K., Liu I.M. (2006)** - Mediation of beta-endorphin by ginsenoside Rh2 to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Planta Med* 72: 9-13.
23. **Margiavichene L.E., Gribauskas P.S., Norkus A.V., Gribauskene R.A., Masalskene V.V., (1986)** - Lipid metabolism and the activity of cardiospecific enzymes in diabetes mellitus. *Probl Endokrinol.*, 32(5): 28-32.
24. **Mohammed S., Hossen N., Ahmed M., Amran, S. (2006)** - Green tea in health care: a natural medicine, a natural drink. *J Appl Sci Res.*, 2(6): 306-309.
25. **Nishida S., Segawa T., Murai I., Nakagawa S. (2002)** - Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty acid compositions in type 2 diabetes. *J Pineal Res.*, 32(1): 26 - 33.
26. **Noguchi S., Ohba Y., Oka T. (1990)** - Involvement of epidermal growth factor deficiency in pathogenesis of oligozoospermia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Endocrinology* 127(5): 2136.
27. **Oliver, R.C., Tervonen, T., Flynn, D.G., Keenan, K.M. (1993)** - Enzyme activity in crevicular fluid in relation to metabolic control of diabetes and other periodontal risk factors. *J Periodontol.*, 91(5): 423-6.
28. **Park E.K., Choo M.K., Kim E.J., Han M.J., Kim D.H. (2003)** - Antiallergic activity of ginkgo biloba. *Biol Pharm Bull.*, 26: 1581-1584
29. **Placer B.S., Bolla K.I., Stewort W., Ford D.F., Angew J., Frumkin H. (1966):** Technican symposium 5-16 May. Paris, Conference 6: 12-15.
30. **Ramanathan M., Jaiswal A.K., Bhattacharya S.K. (1999)** - Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the brain of streptozotocin induced diabetic rats. *Indian J Exp Biol.*, 37: 182-183.
31. **Randle P.J. (1998)** - Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab Rev* 14: 263-283, 1998
32. **Reitman A., Frankel S. (1957)** - Reitman - Frankel colorimetric method of GOT/AST and GPT/ALT Transaminases. *Amer J Clin Path.*, 28 : 56-63
33. **Richmond W. (1973)** - Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Mycobacterium neoaurum* nocardia sp. And its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin. Chem.* 19, 1350-1356.
34. **Robertson R.P. (2004)** - Chronic oxidative stress: a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cell in diabetes. *J Biol Chem.*, 279: 4235-2354.
35. **Schettler G., Nussel E. (1975)** - Colorimetric method for determination of triglycerides. *Arb Med Sozial Med Prav Med.* 10, 25
36. **Schneider L.E., Schedl H.P. (1972)** - Diabetes and intestinal Co-absorption in the rats. *Am J Physiol.*, 223: 1319.
37. **Simpson H.C., Sturley R., Stirling C.A., Reckless J.P. (1990)** - Combination of insulin with glipizide increases peripheral glucose disposal in secondary failure type 2 diabetic patients. *Diabetic Med.*, 7(2): 143.
38. **Snedecor J., Cochran R. (1969):** Statistical methods 6<sup>th</sup> Ed. The Iowa State Univ., Press, Iowa, USA.
39. **Sundaram R.K., Bhaskar A., Vijayalingam S., Viswa-Nathan M., Mohan R, Shanmugasundaram K.R. (1996)** - Antioxidant status and lipid peroxidation in type I diabetes mellitus with and without complications. *Clin. Sci. (Land.)*, 90, 255-260.
40. **Tanaka T., Nanbara S., Tanaka T. Koide H., Hayashi T. (1988)** - Aminotransferase activity in liver of diabetic mice. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 19: 71-75.
41. **Trinder P. (1969)** *Ann Clin Biochem.*, 6: 24 .
42. **Victory W., Levenson R., Vander A.J. (1981)** - Effect of glucagon on zinc excretion in anesthetized dogs. *Am J Physiol.*, 240 (*Renal*) *Fluid Electrolyte Physiol.* 9: 299.
43. **Voss C., Brachmann, K., Hartmann, K. (1988)** - Effect of Streptozotocin on transaminases, creatinine and urea in serum of rats. *Exp Clin Endocrinol.*, 92(1): 37-42.
44. **Wang J.Y., Li X.G., Yang X.W. (2006)** - Ginsenine, a new alkaloid from the berry of ginkgo biloba *J Asian Nat Prod Res.*, 8: 605-608.
45. **Yimaz H.R., Uz E., Yucel N., Altuntas I., Ozcelik N. (2004)** - Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol.*, 18: 234-8.
46. **Zimmet P.Z., Mccarty D.J., DeCouten M.P. (2003)** - The global epidemiology of non insulin dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *J Diabetes Complications*, 11(2):60-68.