

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК  
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ТА БІОХІМІЇ ТВАРИН

*На правах рукопису*

СОКІЛ  
Оксана Павлівна

*О. Сокиль*

# ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН В ЕРИТРОЦИТАХ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

03.00.04 — Біохімія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук



00802381 (M)

AB 28.647

Робота виконана на кафедрі біохімії біологічного факультету Львівського державного університету ім. І. Франка.

**Науковий керівник:** — доктор біологічних наук, професор СУХОМЛИНОВ Б. Ф.

**Офіційні опоненти:** — доктор біологічних наук, професор ГОЛОВАЦЬКИЙ І. Д.  
— доктор медичних наук, професор ТОМАШЕВСЬКИЙ Я. І.

**Провідна установа** — інститут біохімії ім. О. В. Палладіна АН України.

Захист відбудеться 28 грудня 1993 р. о 10 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д. 020. 14. 01 при інституті фізіології та біохімії тварин Української Академії Аграрних Наук за адресою: 290034, м. Львів — 34, вул. В. Стуса, 38.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці інституту фізіології та біохімії тварин УААН.

Автореферат розісланий 26 листопада 1993 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
кандидат біологічних наук

В. Є. РОБАК

43-20, 677

АКТУАЛЬНІСТЬ РОБОТИ. Дослідження і розшифровка патогенетичних механізмів діабету, рання його діагностика, шляхи і способи його лікування, а також профілактика є провідними в сучасній діабетології.

Однією з актуальних проблем біохімії діабету є пізнання механізмів порушення функціонування еритроцитів, які визначають розвиток багатьох ендокринних захворювань і, зокрема, цукрового діабету, тому що еритроцити не тільки відповідають за транспорт кисню і вуглекислоти в організмі і тим самим забезпечують нормальний енергетичний обмін, а також обумовлюють транспорт цілого ряду метаболітів. При цукровому діабеті порушується метаболізм еритроцитів, відзначається зміна активностей ферментів гліколізу, пентозофосфатного циклу /Кішича *et al.*, 1971, Карабун П.М., 1974, Дрель К.А., Шелест Ю.П., 1976/, відбувається зміна процесів проникливості еритроцитарних мембран /Кендіш, 1985, Хитров, 1991/, біосинтезу АТФ, нагромадження глікозильованих форм гемоглобіну /Галенок В.А., 1989/, процесу зворотнього приєднання гемоглобіну кисню /Галенок В.А. і співавтори, 1985, Stry *et al.*, 1986/.

Тому в комплексі досліджень по даній проблемі вперше розглядається питання про вклад еритроцитів - інсулін незалежних клітин, що характеризують процеси енергетичного забезпечення та їх метаболізм при цукровому діабеті. На жаль, в літературі ще не визначена єдина точка зору не тільки на закономірності процесів синтезу і утилізації макроергічних сполук в еритроцитах при цукровому діабеті, але й на характер змін фізико-хімічних та функціональних властивостей, які відбуваються при даній патології.

Мета та завдання дослідження. Головною метою роботи було дослідження енергетичного обміну та фізико-хімічних властивостей еритроцитів при різних формах цукрового діабету у людей і експериментальному стрептозотоциновому діабеті у щурів.

Для досягнення цієї мети були поставлені завдання:

1. Дослідження вмісту глюкози в плазмі і в еритроцитах в нормі і при діабеті ;

2. Фракціонування еритроцитів в градієнті густини сахарози і дослідження стійкості до кислотного гемолітика нефракціонованих і фракціонованих еритроцитів в нормі і при діабеті ;

3. Вивчення зміни активності  $Na^+, K^+$  -залежної АТФази мембран еритроцитів і вмісту АТФ в еритроцитах при діабеті ;

4. Дослідження метаболічної активності еритроцитів і вмісту субстратів гліколізу при діабеті ;

5. Проведення аналізу ізоферментного спектру ЛДГ ;

6. Проведення досліджень кисневотransпортної функції еритроцитів в генезі гіпоксії при діабеті ;

7. Дослідження кількісних показників сорбітолу і кетонних тіл -  $\beta$  - гідроксибутирату і ацетацетату в еритроцитах в нормі і при діабеті .

НАУКОВА НОВИЗНА РОБОТИ. При виконанні роботи вперше на сучасному методичному рівні проведене комплексне і диференційоване дослідження структурно-функціонального стану показників метаболізму еритроцитів при діабеті та його судинних ускладненнях, що дозволило встановити нові і доповнити відомі факти, закономірності і механізми розвитку діабету і його ускладнень.

Дослідження зміни енергетичного обміну в еритроцитах при I /інсулінзалежному/ та II /інсуліннезалежному/ типах цукрового діабету у людей підтверджені результатами, одержаними при експериментальному стрептозотоциновому діабеті у щурів.

НАУКОВО-ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РОБОТИ. Отримані результати дали можливість комплексно оцінити характер і ступінь порушень структури і функції еритроцитів при діабеті і його судинних ускладненнях.

Розроблені біохімічні критерії оцінки функціонального стану еритроцитів в залежності від важкості і довготривалості захворювання, дозволяють проводити більш ранню діагностику.

ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ, ЯКІ ВИНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ:

1. Результати дослідження вмісту глюкози в плазмі і в еритроцитах при діабеті.
2. Результати по вивченню стійкості еритроцитів до кислотного гемолітика нефракціонованих і фракціонованих еритроцитів при діабеті.
3. Дані про зміну активності  $Na^+, K^+$ -АТФази в мембранах еритроцитів і вмісту АТФ в еритроцитах при діабеті.
4. Дані по вивченню метаболічної активності еритроцитів і концентрацій субстратів гліколізу при діабеті.
5. Аналіз ізоферментного спектру ЛДГ при діабеті.
6. Характерні особливості кисневотранспортної функції еритроцитів при діабеті.
7. Дані про вміст сорбітолу і кетонових тіл в еритроцитах при діабеті.

АПРОВАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ: Матеріали дисертації доповідалися та обговорювалися на ІУ Всесоюзному симпозіумі "Кровообращение в условиях высокогорной и экспериментальной гипоксии" /Душанбе, 1990/, Всесоюзному симпозіумі "Система микроциркуляции и гемокоагуляции в экстремальных условиях" /Фрунзе, 1990/, Всесоюзній науковій конференції молодих вчених і студентів "Молодежь - практическому здравоохранению" /Москва, 1990/, Всесоюзній конференції "Клиническая витаминология" /Москва, 1991/, УІ Українському біохімічному з'їзді /Київ, 1992/.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано чотири наукові статті та п'ять тез доповідей.

Структура та об'єм роботи: Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури /5 розділів/, матеріалів та методів досліджень /20 розділів/, результатів досліджень і їх обговорення /10 розділів/, узагальнення, висновків та списку використаної

літератури, що містить 258 джерел вітчизняних та зарубіжних авторів. Робота викладена на 142 сторінках друкованого тексту, містить 12 таблиць і ілюстрована 12 рисунками.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Для вирішення поставлених завдань хворі цукровим діабетом згідно класифікації ВООЗ /1981р./ поділені на дві групи: інсулінзалежний цукровий діабет /ІЗЦД/ та інсулін-незалежний цукровий діабет /ІНЦД/. Контрольну групу складали практично здорові люди.

Експериментальний цукровий діабет відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення щурам-самцям лінії "Wistar" розчину стрептозотоцину /"Serva", Німеччина/ з розрахунку 7 мг на 100 г маси тварин. Всіх тварин утримували на звичайному раціоні віварію і за 12 год. до досліду позбавляли корму. Для дослідження використовували кров одержану відразу ж після декапітації щурів. Інтактні тварини становили контрольну групу.

Гемолізати еритроцитів отримували згідно Артох В.П. /1978/, "тіні" мембран еритроцитів - за методом *Gomperts et al /1972/*.

Визначення концентрації глюкози проводили глюкозооксидазним методом.

Активність ферментів гліколізу і пентозофосфатного шляху визначали на спектрофотометрі СФ-26 за допомогою методів, принцип яких полягає у використанні спряжених систем окислення або відновлення нікотинамідних коферментів. Активність гексокінази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази досліджували згідно *Chapman R. L. et al /1962/*, піруваткінази визначали по методу *Gutmann R, Bernst E /1974/*, загальну активність ДДГ - згідно *Bergmeyer H. U. /1974/*. Ізоферментний спектр ДДГ досліджували методом диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі з наступною реєстрацією на денситометрі "Quick Scan" /*Bergmeyer H. U. /1974/*.

Визначення вмісту субстратів гліколізу - молочної і піровиноградної кислот проводили ферментативними методами. Концентрацію лактату визначали за методом Хорроста /1973/, пірувату - за *Lamprecht /1962/*.

Активність  $Na^+, K^+$  - АТФази в мембранах еритроцитів визначали за методом *Baron D.M., Khan F.A./1965/*, кількість неорганічного фосфату - за *Dyce B., Bessman/1973/*, концентрацію білка - за *Lowry /1957/*.

Концентрацію АТФ в еритроцитах визначали ферментативним методом *Lamprecht, Fruttschold/1962/*.

Фракціонування популяцій клітин еритроцитів в градієнті густини сахарози проводили по методиці Сизової Н.А., Каменського В.В., Феденкова В.П./1980/. Стійкість еритроцитів по відношенню до гемолітика визначали методом кислотних еритрограм по Гітельзону І.І. /1956/.

Гематокріт суспензії еритроцитів периферичної крові визначали за допомогою мікроцентрифуги МЦГ-8.

Кислотно-лужну рівновагу крові досліджували мікрометодом Аструпа за допомогою приладу ВЛ53 МК 2 "Радиометр" /Данія/ і по номограмі "Сіггарда-Андерсона.

Визначення спорідненості гемоглобіну до кисню проводили спектрофотометричним методом побудови кривих кисневої рівно ваги гемоглобіну по Іванову Ю.Г. / 1975/. Концентрацію 2,3-ДФГ в еритроцитах визначали за методом *Dyce B. /1973/*.

Визначення вмісту сорбітолу і кетонових тіл -  $\beta$  - гідро-ксибутирату і ацетоацетату проводили згідно *Відтмуйч Н.И./1974/*.

Результати досліджень опрацьовані варіаційно-статистичним методом з визначенням коефіцієнту лінійної кореляції  $r$ . /Деркач М.Ф., 1963, Урбах В.Ю., 1964/.

Відмінності між величинами вважали достовірними лише у тих випадках, коли рівень значимості  $P$  даного твердження не перевищував 0,05.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### І. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПОКАЗНИКІВ МЕТАБОЛІЗМУ ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ЛЮДЕЙ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ І ТА П ТИПІВ І СУДИННИХ УСКОПЛЕННЯХ ДІАБЕТУ.

Досліджувалась резистентність нефракціонованих і фракціонованих в градієнті густини сахарози еритроцитів до кислотного гемолітика при цукровому діабеті. На рис.І представлені еритрограми нефракціонованих еритроцитів периферичної крові людей при цукровому діабеті.

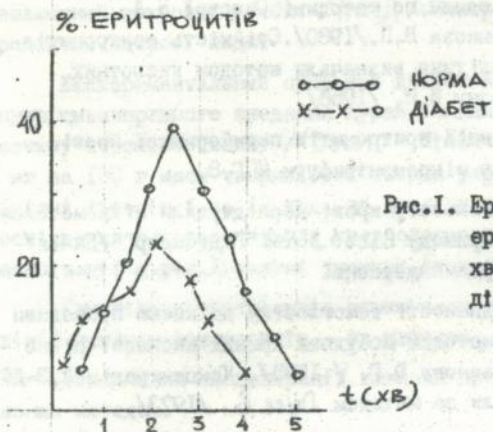
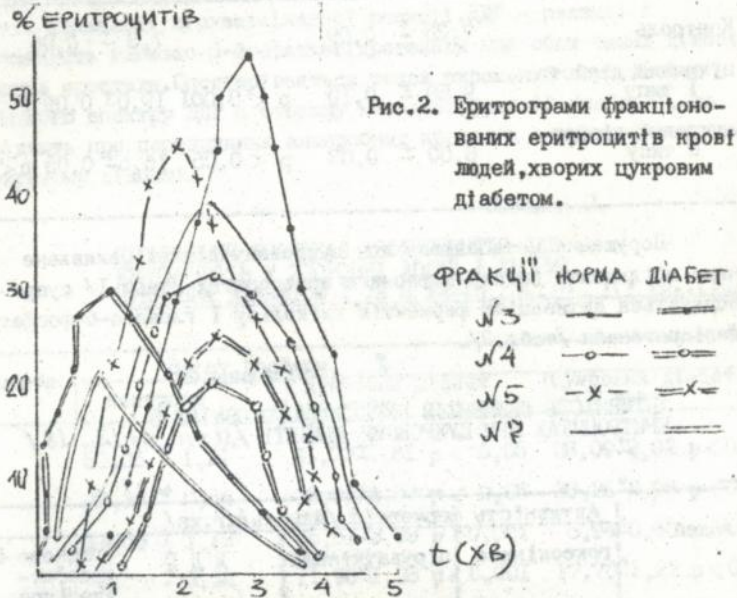


Рис.І. Еритрограма сумарних еритроцитів людей, хворих цукровим діабетом.

Зсув максимуму еритрограми вліво говорить про сильне і достовірне зниження стійкості еритроцитів до гемолітика.

Співставляючи еритрограми для різних клітинних популяцій /рис.2/ можна відзначити, що найбільш глибокі зміни в сторону пониження резистентності характерні для фракції старих клітин.



В той же час видно, що резистентність еритроцитів підвищувалася у фракціях, які представлені функціонально активними клітинами.

Отримані дані дають можливість застосувати метод еритрограм для характеристики динаміки еритрона в широкому діапазоні клінічних досліджень з метою прогнозування і тестування важкості патологічного процесу.

Таблиця I.

КОНЦЕНТРАЦІЯ ГЛЮКОЗИ В ПЛАЗМІ І В ЕРИТРОЦИТАХ КРОВІ У ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ І ХВОРИХ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ І ТА II ТИПІВ *М.т.п.с. 10*

Групи людей	Концентрація глюкози в плазмі /ммоль/л крові/	р	Концентрація глюкози в еритроцитах /ммоль/л крові/	р
Контроль	7,25 ± 0,09		7,3 ± 0,06	
цукровий діабет I типу	9,50 ± 0,10	p < 0,001	19,0 ± 0,09	p < 0,65
цукровий діабет II типу	8,00 ± 0,03	p < 0,05	16,5 ± 0,05	p < 0,01

Порушення метаболізму при цукровому діабеті, виявлене нами збільшення вмісту глюкози в еритроцитах /табл.1/ супроводжується активацією ферментів гліколізу і глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази /табл.2/.

Таблиця 2.

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ ПРИ ЦУКРОВИМУ ДІАБЕТІ /Міт, n=12...18/

Групи людей	Активність ферментів /ммоль/мг. хв/			
	гексокіназа	піруваткіназа	Л Д Г	глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа
Контроль	0,006 ± 0,001	0,008 ± 0,0007	0,015 ± 0,001	0,012 ± 0,004
цукровий діабет I типу	0,007 ± 0,0009 p < 0,05	0,010 ± 0,001 p < 0,01	0,018 ± 0,002 p < 0,01	0,019 ± 0,002 p < 0,01
цукровий діабет II типу	0,003 ± 0,0007 p < 0,01	0,013 ± 0,002 p < 0,001	0,019 ± 0,001 p < 0,001	0,018 ± 0,001 p < 0,05
цукровий діабет I типу з судинними ускладненнями	0,018 ± 0,003 p < 0,01	0,027 ± 0,004 p < 0,05	0,032 ± 0,004 p < 0,05	0,034 ± 0,002 p < 0,05
цукровий діабет II типу з судинними ускладненнями	0,012 ± 0,003 p < 0,01	0,024 ± 0,001 p < 0,01	0,047 ± 0,007 p < 0,05	0,038 ± 0,001 p < 0,01

З даних таблиці видно, що при ІЗЦД активність гексокінази залишалася майже такою ж як в контрольній групі, а при ІНЦД її активність навіть дещо знижувалася. Проте швидкості піруваткіназної реакції, ЛДГ - реакції і активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази при обох типах діабету значно зростали. Спостерігається також виражений зсув ізоферментного спектру ЛДГ в сторону катодної фракції /табл.3/, що свідчить про переважання анаеробних процесів в еритроцитах при цукровому діабеті.

Таблиця 3.

ПРОЦЕНТНИЙ РОЗПОДІЛ ІЗОФЕРМЕНТІВ ЛДГ  
ЕРИТРОЦИТІВ У ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ І ХВОРИХ  
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ І ТА ПТИПІВ /М.Т. П. n = 10...15/

Ізоферменти ЛДГ	Вміст ізоформ, %		
	контроль	цукровий діабет I типу	цукровий діабет II типу
ЛДГ <sub>1</sub>	50,06 ± 1,21	41,77 ± 1,81 p < 0,05	38,09 ± 2,02 p < 0,01
ЛДГ <sub>2</sub>	37,34 ± 0,86	30,81 ± 2,59 p < 0,05	38,26 ± 2,98 p < 0,05
ЛДГ <sub>3</sub>	11,55 ± 1,13	15,51 ± 3,28 p < 0,001	5,94 ± 0,60 p < 0,05
ЛДГ <sub>4</sub>	1,05 ± 0,32	11,90 ± 1,38 p < 0,001	17,70 ± 1,22 p < 0,001

При діабеті з судинними ускладненнями у хворих ІЗЦД та ІНЦД спостерігається збільшення в еритроцитах активності гексокінази, майже в 2 рази, значно інтенсифікується піруваткіназа, лактатдегідрогеназа і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа.

Різке збільшення активностей ферментів вуглеводного обміну при діабеті з судинними ускладненнями зумовлене, ймовірно, тривалим збільшенням рівня субстрату, зміною проникливості мембран в результаті кількісної та якісної зміни ліпопротеїдів мембран /Третьякова А.Т. і співавтори, 1979, Панин Л.Е. і співавтори, 1982/.

Тривала адаптація організму до гіпоксії, яка спостерігається при цукровому діабеті, може супроводжуватися збільшенням в еритроцитах інтенсивності гліколізу, що сприяє посиленню

пентозофосфатного шляху. Активация гліколізу при ішемії і гіпоксії виникає в результаті зняття інгібуючого впливу АТФ на ключові ферменти цього метаболічного шляху, впливу продуктів розпаду АТФ, а також внаслідок активації фосфорилази катехоламінами. Інсулін підвищує швидкість ЦАМФ - незалежного фосфорилування спектрину плазматичних мембран еритроцитів і, отже, може впливати на активність ферментів гліколізу шляхом опосередкованого вторинними механізмами фосфорилування гліколітичних ферментів з позиції концепції авторегуляції метаболічних ланцюгів продукція алостеричних регуляторів буде приводити до активації ферментів гліколізу /Панин Л.Е. і співавтори, 1982, Кендыш И.Н., 1985/.

В еритроцитах хворих цукровим діабетом I та II типів нами виявлене пригнічення гексокіназної реакції. Таке зниження активності гексокінази може бути зумовлене тим, що в еритроцитах локалізована головним чином гексокіназа I, яка не зазнає фосфорилування. Такий механізм регуляції анаеробної фази вуглеводного обміну характерний для тканин, які не чутливі до інсуліну.

У хворих цукровим діабетом значно підвищена активність піруваткінази, що може бути зумовлено збільшенням концентрації фруктозо-1,6-дифосфату і зменшенням вмісту АТФ /Ньюс-Холм Э, Старт К., 1977, Щербак А.В., 1989/.

Різке збільшення активності ЛДГ при обох типах цукрового діабету можна пояснити збільшенням проникливості мембран еритроцитів для глюкози, підвищенням потреби організму в метаболічній енергії для нормалізації процесів життєдіяльності.

Таким чином, при цукровому діабеті і прогресуванні судинних порушень активність ряду ферментів гліколізу, а також глюкозо-6-фосфатдегідрогенази збільшена, що може свідчити про адаптацію еритроцита як інсуліннезалежної клітини до збільшеного вмісту глюкози та гіпоксії.

З другої сторони, наявність інсулінових рецепторів на плазматичних мембранах еритроцитів встановлена і вважається, що мембранний ефект інсуліна і/чи інсулінових рецепторів проявляється в їх дії на інтегральні мембранні білки, зокрема

$Na^+, K^+$ -АТФази /Rahmani-Jourd'heil, 1986/.

У мембранах еритроцитів хворих ІЗЦД та ІНЦД активність  $Na^+, K^+$ -АТФази знижується. В "тінях" еритроцитів хворих цукровим діабетом з проявами судинних ускладнень активність  $Na^+, K^+$ -АТФази в декілька разів нижча контрольних показників /табл. 4/.

Таблиця 4

АКТИВНІСТЬ  $Na^+, K^+$ -АТФази в МЕМБРАНАХ ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ / $M \pm m, n=15...18$  /

Групи людей	Активність $Na^+, K^+$ - АТФази /лекмоль Рн/мг білку /год/	
Контроль	$0,08 \pm 0,004$	
цукровий діабет I типу	$0,02 \pm 0,003$	$p < 0,01$
цукровий діабет II типу	$0,05 \pm 0,006$	$p < 0,001$
цукровий діабет I типу з судинними ускладненнями	$0,03 \pm 0,005$	$p < 0,001$
цукровий діабет II типу з судинними ускладненнями	$0,04 \pm 0,008$	$p < 0,001$

Активність  $Na^+, K^+$ - АТФази складає основу функціонування  $Na^+, K^+$ - помпи і відіграє вирішальне значення в підтриманні концентраційних градієнтів  $Na^+$  і  $K^+$  між цитоплазмов і поза - клітинним середовищем. При інгібуванні  $Na^+, K^+$ -АТФази збільшується рівень  $Na^+$ , що приводить до посилення конкуренції між іонами  $Na^+$  і  $Ca^{2+}$  за центр переносу, який локалізований на внутрішній поверхні плазматичної мембрани. Тому, вихід  $Ca^{2+}$  зменшений і, відповідно збільшується концентрація іонізованого  $Ca^{2+}$  всередині клітини. Збільшення внутрішньоклітинного вмісту  $Na^+$  знижує показники  $Na^+$ -градієнту і долю енергії, яка є необхідною для виведення  $Ca^{2+}$  і  $Na^+/Ca^{2+}$  - обмінному механізмі.

$Na^+$ ,  $K^+$  - АТФаза належить до класу віскозотропних ферментів, які при підвищенні в'язкості подвійного шару ліпідів мембран інгібуються і, навпаки, зменшення в'язкості супроводжується їх активацією. Феномен переносу холестерину між мембраною і плазмою, багато в чому контролює проникливість, а співвідношення вільний холестерин/фосфоліпіди, особливості жирнокислотного складу ліпідів мембран визначають композиційну мікров'язкість /Лопухин і співавтори, 1983/.

У розвитку цукрового діабета і його судинних ускладнень важливу роль відіграє гіпоксія /Боднар П.Н., Приступок А.М., 1981/. Останнім часом все більше значення в механізмі розвитку гіпоксії при цукровому діабеті надається киснево-транспортній функції крові /Галенок В.А. і співавтори, 1982/. Проводився комплексний аналіз киснево-транспортної функції еритроцитів при діабеті. Досліджувались киснево-лужна рівновага крові, зміна гематокриту, криві дисоціації оксигемоглобіну, концентрація 2,3 - ДФГ і неорганічного фосфату у хворих цукровим діабетом I і II типів, а також при діабеті ускладненому ангіопатіями.

Найбільш виражені зміни знайдені у хворих цукровим діабетом I типу з судинними ускладненнями.

Аналіз кислотно-лужної рівноваги крові виявив зсув в сторону метаболічного ацидозу в усіх групах хворих. Такі результати свідчать про наявність тканинної гіпоксії, що зумовлює зміну кисневого балансу тканин і виражається венозною гіперексією, зниженням артеріовенозної різниці по кисню в тканинах, проценту його утилізації.

Встановлено зниження показника гематокриту при цукровому діабеті I і II типів, ще нижчі значення цієї величини спостерігаються при діабеті ускладненому ангіопатіями.

Таке зменшення величини гематокриту можна розглядати як ауторегуляторний механізм, що захищає цілісність перфузії тканини при підвищеній ригідності еритроцитів і пониженому потенціалі їх мембрани /Галенок В.А. і співавтори, 1989/.

Велике значення у розвитку тканинної гіпоксії відіграє недостатнє постачання тканин киснем. Ведучим регулятором цього

процесу є органічні фосфати еритроцитів і, в першу чергу, 2,3 - ДФГ.

Досліджувався вміст 2,3 - ДФГ і неорганічного фосфату /як його хімічного попередника/ в еритроцитах хворих цукровим діабетом I та II типів і хворих діабетом з судинними ускладненнями.

Одержані результати /табл.5/ свідчать про достовірне збільшення вмісту 2,3 - ДФГ і Рн при обох типах цукрового діабету.

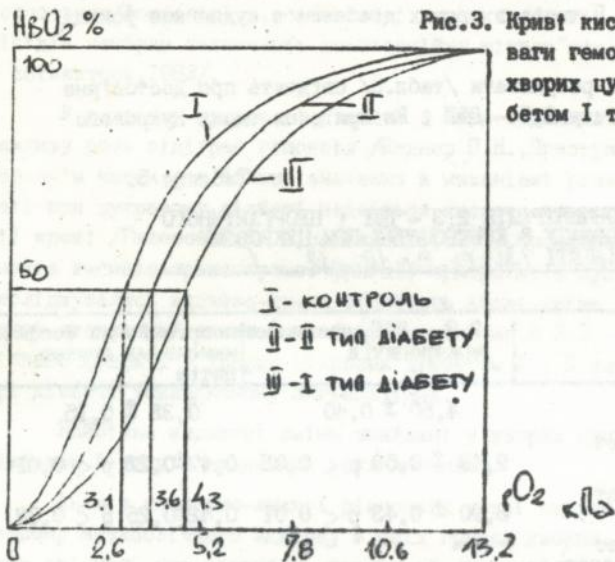
Таблиця 5.

КОНЦЕНТРАЦІЯ 2,3 - ДФГ і НЕОРГАНІЧНОГО  
ФОСФАТУ В ЕРИТРОЦИТАХ ПРИ ЦУКРОВИМУ  
ДІАБЕТУ /M ± m, n = 10, 12 /

Групи людей	2,3 - ДФГ, мкмоль/мл еритроцитів	неорганічний фосфат, мкмоль/мл еритроцитів
Контроль	4,50 ± 0,40	0,32 ± 0,15
цукровий діабет I типу	9,48 ± 0,53 p < 0,02	0,47 ± 0,22 p < 0,01
цукровий діабет II типу	8,90 ± 0,43 p < 0,01	0,42 ± 0,25 p < 0,02
цукровий діабет I типу з судинними ускладненнями	3,85 ± 0,25 p < 0,01	0,26 ± 0,17 p < 0,05
цукровий діабет II типу з судинними ускладненнями	4,05 ± 0,25 p < 0,05	0,29 ± 0,15 p < 0,01

Разом з тим нами відзначено зниження вмісту 2,3 - ДФГ і Рн при судинних ускладненнях цукрового діабету.

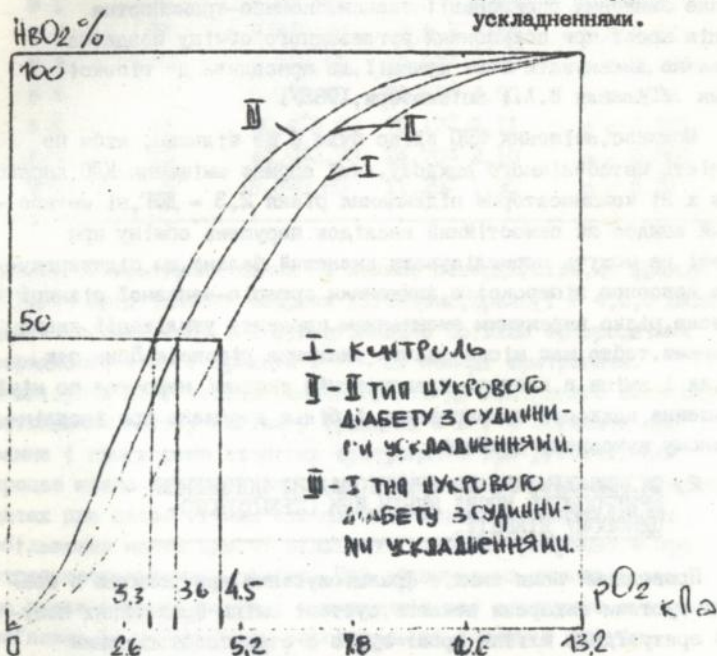
Ці дані корелюють із змінами киснево-транспортної функції гемоглобіну еритроцитів при цукровому діабеті та його судинних ускладненнях.



На рис.3 представлені криві кисневої дисоціації окси-гемоглобіну /КДО/ при цукровому діабеті I та II типів . З рисунку видно, що КДО зміщені вправо, що свідчить про зниження спорідненості гемоглобіну до кисню, тобто полегшення дисоціації оксигемоглобіну і звільнення кисню в клітинах. Таке зміщення КДО вправо при обох типах цукрового діабету проходить за рахунок наявності у хворих метаболічного ацидозу, який впливає на спорідненість гемоглобіну до кисню і спричиняє зсув КДО вправо /ефект Бора/. Ці дані корелюють також із збільшенням вмісту  $2,3 - \text{DPG}$ , який також впливає на характер кривої дисоціації  $\text{H}_2\text{O}$ .

При вивченні КДО у хворих цукровим діабетом I та II типу з судинними ускладненнями ми спостерігали протилежну картину - криві зміщувалися вліво /рис.4/.

Рис.4. Криві кисневої рівноваги гемоглобіну при діабеті з судинними ускладненнями.



Таке зміщення КДО вліво при цукровому діабеті з судинними ускладненнями можна пояснити зростанням фракції глікозильованого гемоглобіну (HbA<sub>1c</sub>) Галенок В.А., Диккер В.Е., 1985/. Глікозильований гемоглобін зв'язує глюкозу і, на перший погляд, виконує компенсаторну функцію. В той же час глікозильований гемоглобін зв'язує незворотно кисень, що приводить до зміщення КДО вліво і погіршення постачання киснем тканин. Поява HbA<sub>1c</sub> вже на ранніх стадіях цукрового діабету зумовлює виникнення гіпоксії у хворих діабетом. В даній ситуації відбувається підвищення рівня фосфату плазми, 2,3-ДФГ еритроцитів, зсув кислотно-лужної рівноваги крові в сторону метаболічного

ацидозу, що покращує транспорт кисню кров'ю. Однак прогресування пошкоджень вуглеводного обміну робить недостатніми дані реакції, крива дисоціації оксигемоглобіну зміщується вліво проходить погіршення дезоксигенації гемоглобіну на рівні капілярів тканин і різке зниження оксигенації тканин. Киснево-транспортна функція крові при порушеннях вуглеводного обміну нездатна адекватно виконувати свої функції, що приводить до гіпоксії тканин. /Галенок В.А. і співавтори, 1983/.

Можливо, зміщення КДО вліво було б ще більшим, якби не наявність метаболічного ацидозу, який сприяє зміщенню КДО вправо. І все ж ні компенсаторне підвищення рівня 2,3 - ДФГ, ні метаболічний ацидоз як самостійний наслідок порушень обміну при діабеті не можуть нормалізувати кисневий баланс, що підтверджується венозною гіпероксією, зниженням артеріо-венозної різниці по кисню, різко вираженим зменшенням проценту утилізації кисню тканинами, тобто має місце значна тканинна гіпоксія. Вона так само, як і зміни в киснево-транспортній системі, наростає по мірі збільшення важкості захворювання і більш виражена при інсулін-залежному цукровому діабеті.

## 2. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОРУШЕННЯ ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ШУРІВ ПРИ СРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ.

Проведений нами аналіз фракціонування еритроцитів в градієнті густини сахарози показав, суттєві зміни фракційних популяцій еритроїдних клітин крові шурів з стрептозотоциновим діабетом.

В результаті фракціонування клітин периферичної крові шурів на колонці в градієнті густини сахарози одержано 7 клітинних фракцій, процентний розподіл яких подано в таблиці 6.

Таблиця 6.

ПРОЦЕНТНИЙ РОЗПОДІЛ ЕРИТРОЇДНИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ШУРІВ В НОРМІ І ПРИ СРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ /М.І.М. n=8... 12 /

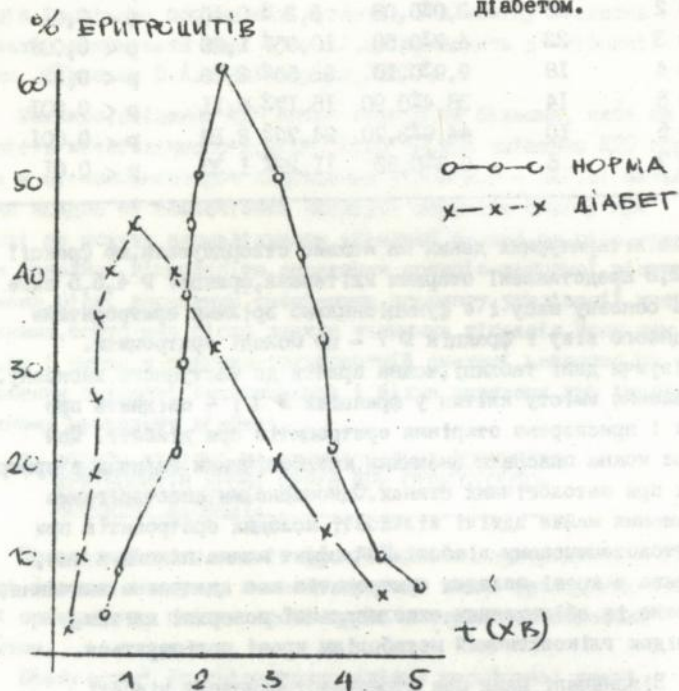
Фракції І	Концентрація сахара - рози	Досліджувані групи		
		контроль	стрептозотозинний діабет	
№ 1	30	2,2 <sup>±</sup> 0,10	1,0 ± 0,03	p < 0,01
№ 2	26	3,0 <sup>±</sup> 0,08	3,2 ± 0,10	p < 0,01
№ 3	22	4,7 <sup>±</sup> 0,50	10,96 ± 1,20	p < 0,001
№ 4	18	9,9 <sup>±</sup> 0,10	33,56 ± 3,50	p < 0,02
№ 5	14	38,4 <sup>±</sup> 0,90	15,17 ± 0,11	p < 0,001
№ 6	10	44,9 <sup>±</sup> 3,70	24,70 ± 2,10	p < 0,001
№ 7	6	6,9 <sup>±</sup> 0,80	11,29 ± 1,30	p < 0,01

Згідно літературних даних ми можемо стверджувати, що фракції № 1, 2, 3 представлені старими клітинами, фракції № 4, 5, 6 складають основну масу і є функціонально зрілими еритроцитами середнього віку і фракція № 7 - це молоді еритроцити. Аналізуючи дані таблиці, можна прийти до наступного висновку. Збільшення вмісту клітин у фракціях № 3 і 4 свідчить про раннє і прискорене старіння еритроцитів при діабеті. Цей процес можна пояснити значними метаболічними змінами в еритроцитах при патологічних станах. Одночасно, ми спостерігаємо збільшення майже вдвічі кількості молодих еритроцитів при стрептозотозинному діабеті. Цей ефект можна пояснити тим, що поява в крові молодих еритроцитів має адаптивне значення, зв'язане із збільшенням окислювальної поверхні клітин, внаслідок гліколітичний метаболізм крові поліпшується.

Відзначені нами при стрептозотозинному діабеті зміни кількісного і якісного складу циркулюючих еритроцитів крові і їх метаболічні зміни відображаються на фізико-хімічних властивостях еритроцитів, особливо на стані стійкості клітинної мембрани до гемолізуючого агенту.

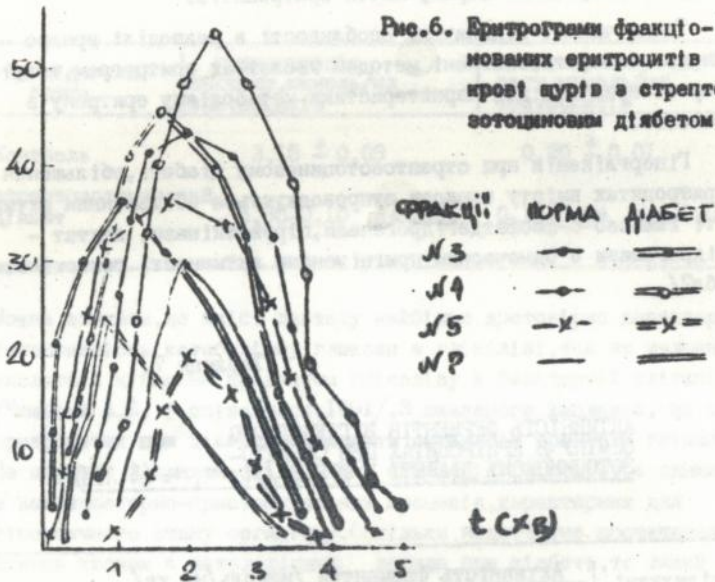
Досліджуючи резистентність нефракціонованих еритроцитів методом кислотних еритрограм, ми виявили зниження стійкості еритроцитів до гемолітика при стрептозотозинному діабеті /рис.5/.

Рис.5. Еритрограма сумарних еритроцитів щурів з стрептозотоциновим діабетом.



Співставляючи еритрограми різновікових популяцій еритроцитів можна відзначити, що глибокі зміни характерні для всіх досліджуваних популяцій /рис.6/.

% ЕРИТРОЦИТІВ



Пониження резистентності спостерігали в фракціях старих клітин і підвищення резистентності у фракції №4 і №7 /молоді еритроцити/. Аналізуючи проведені дослідження по вивченню еритрограм в експерименті, можна відзначити основні моменти, які характеризують зміни в розподілі еритроцитів по стійкості:

1. підняття правої гілки еритрограми відповідає підвищенню проценту молодих еритроцитів в крові і вказує на наявність регенераторного процесу;

2. розтягнення правої гілки еритрограми більше, ніж в нормі вказує на вихід в судинне русло високоствійких еритроцитів;

3. підняття лівого крила еритрограми відповідає відносному збільшенню кількості старих еритроцитів. Фізіологічно це може наступити по двох причинах: а/ кількісне зниження еритропоезу; б/ скорочення строку життя еритроцитів.

Таким чином, відзначені особливості в розподілі еритроцитів по стійкості, виявлені методом кислотних еритрограм, можуть використовуватися для характеристики метаболізму еритроциту в патології.

Гіперглікемія при стрептозотциновому діабеті, збільшення в еритроцитах вмісту глюкози супроводжується збільшенням активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, піруваткінази, лактатдегідрогенази з одночасним пригніченням активності гексокінази. /табл 7/.

Таблиця 7.

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ У ЩУРІВ  $\mu$ Мtm, n = 12...18/

Досліджувані групи	Активність ферментів /мікромоль/мг.хв/			
	гексо - кіназа	піруват - кіназа	Л Д Г	глюкоза-6-фосфатдегідрогеназа
Контроль	0,007 $\pm$ 0,0006	0,039 $\pm$ 0,004	0,044 $\pm$ 0,002	0,024 $\pm$ 0,002
стрептозотциновий діабет	0,003 $\pm$ 0,0009 p < 0,001	0,059 $\pm$ 0,003 p < 0,001	0,051 $\pm$ 0,003 p < 0,05	0,034 $\pm$ 0,004 p < 0,01

Разом з тим збільшувалася також концентрація лактату /табл.8/, рівень якого є показником швидкості гліколізу в еритроцитах.

Таблиця 8.

КОНЦЕНТРАЦІЯ МОЛОЧНОЇ І ПІРОВИНОГРАДНОЇ  
КИСЛОТ В ЕРИТРОЦИТАХ ШУРІВ ПРИ СТРЕПТО-  
ЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ / $M \pm m, n = 10... 15$  /

Дослідження групи	концентрація лактату, мкмоль/мл еритроцитів	концентрація пірувату, мкмоль/мл еритроцитів
Контроль	$3,15 \pm 0,08$	$0,20 \pm 0,01$
стрептозоточиновий діабет	$5,85 \pm 0,10$ $p < 0,01$	$0,15 \pm 0,04$ $p < 0,02$

Можна вважати, що вміст лактату найбільш достовірно характеризує інтенсивність катаболізму глюкози в гліколізі, так як молочна кислота є кінцевим продуктом гліколізу в безядерній клітині /Чешиков А.В. і співавтори, 1991/. З вказаного випливає, що в еритроцитах при діабеті проходить активація процесів гліколізу. Це корелює з даними, згідно яких активація гліколізу є одним з компенсаторно-приспосувальних процесів, характерних для гіпоксичного стану організму. Оскільки недостатнє постачання тканин киснем є патологічною ланкою при діабеті, то такий механізм активації гліколізу можна вважати логічним.

В результаті проведених досліджень показано, що в еритроцитах при діабеті проходить порушення катаболізму глюкози. Активність ферментів, які приймають участь в утилізації макроергічних сполук в еритроцитах при діабеті значно змінюється, активність АТФаз знижується.

Порушення процесів, які приймають участь в синтезі і утилізації макроергічних сполук в еритроцитах при діабеті приводить до зниження енергетичного потенціалу клітини, що виражається в зниженні концентрації АТФ в клітині /табл.9/.

Таблиця 9.

КОНЦЕНТРАЦІЯ АДФ В ЕРИТРОЦИТАХ ЦУРІВ  
ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ

$\bar{M} \pm m, n = 12 \dots 15 /$

Досліджувані групи	Концентрація АДФ /мкмоль/мл еритроцитів/
Контроль	$3,126 \pm 0,050$
стрептозотациновий діабет	$0,871 \pm 0,023 \quad p < 0,01$

При цьому значно зростає рівень АДФ в еритроцитах. Зміна вмісту аденілових нуклеотидів в еритроцитах при діабеті в зняній мірі може бути пов'язана з порушенням структури і функції клітинних мембран. Це підтверджується зниженням активності мембраноз'язаного фермента  $Na^+, K^+$ -АТФази, зміна активності якої відображає структурно-функціональну організацію клітини /табл. 10/.

Таблиця 10.

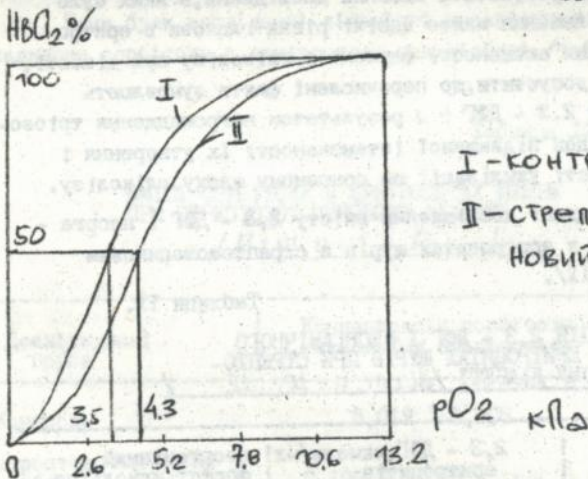
АКТИВНІСТЬ  $Na^+, K^+$ -АТФази в МЕМБРАНАХ  
ЕРИТРОЦИТІВ ЦУРІВ ПРИ СТРЕПТОЗОТО-  
ЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ  $\bar{M} \pm m, n = 15 \dots 18 /$

Досліджувані групи	Активність $Na^+, K^+$ -АТФази /мкмоль Рн/мг білку /год/
Контроль	$0,10 \pm 0,006$
стрептозотациновий діабет	$0,04 \pm 0,006 \quad p < 0,05$

Із зниженням  $Na^+, K^+$ -АТФазиної активності еритроцитарної мембрани порушується кисневий баланс, в клітинах нагромаджується  $Na^+$  і знижується вміст іонів  $K^+$ , при цьому проходять зміни осмотичної і механічної стійкості еритроцитів /Ефімов А.С. і співавтори, 1988/.

Проводились дослідження киснево-транспортної функції гемоглобіну еритроцитів щурів при стрептозоточиновому діабеті. На рис.7 представлені криві кисневої рівноваги гемоглобіну при стрептозоточиновому діабеті.

Рис.7. Криві кисневої рівноваги гемоглобіну при стрептозоточиновому діабеті у щурів.



I - контроль  
II - стрептозоточиновий діабет.

При експериментальному стрептозоточиновому діабеті нами відмічено зсув кривої дисоціації вниз і вправо відносно контролю, що свідчить про зниження спорідненості гемоглобіну до кисню. Хоч нами і була помічена гіпоксія у цих тварин

при якій крива дисоціації зміщується вліво, але значний синтез 2,3 - ДФГ впливає на характер кривої дисоціації і вона зсувається вправо.

Видно, що спорідненість гемоглобіну до кисню регулюється рН середовища еритроцитів, концентрацією різних компонентів внутрішньоеритроцитарного середовища. Основне значення при цьому має вміст 2,3 - ДФГ - алостеричного регулятора гемоглобіну / *Beithier & Kalant N., 1971, Charutis, Burnish, 1985*/. Рівень останнього в еритроцитах залежить від активності гліколітичних ферментів, які зумовлюють інтенсивність його синтезу і розпаду / *Rapport S.N., 1970*/.

Враховуючи результати власних досліджень, в яких було встановлено збільшення майже вдвічі рівня глюкози в еритроцитах і зростання активності ферментів гліколізу при діабеті, можна, імовірно, допустити, що перелічені факти зумовлюють зростання рівня 2,3 - ДФГ і з результатом нагромадження тріозофосфатів, внаслідок підвищеної інтенсивності їх утворення і зниження швидкості утилізації по основному шляху гліколізу.

Нами проведені дослідження вмісту 2,3 - ДФГ і неорганічного фосфату в еритроцитах щурів з стрептозотоциновим діабетом /табл. II/.

Таблиця II.

КОНЦЕНТРАЦІЯ 2,3 - ДФГ І НЕОРГАНІЧНОГО ФОСФАТУ В ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ ПРИ СРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ /M ± m, n = 10... 12 /

Досліджувані групи	2,3 - ДФГ, мкмоль/мл еритроцитів	неорганічний фосфат, мкмоль/мл еритроцитів
Контроль	3,97 ± 0,13	0,30 ± 0,02
стрептозотоциновий діабет	10,20 ± 0,19	0,43 ± 0,01

Одержані дані свідчать про достовірне збільшення вмісту 2,3 - ДФГ і неорганічного фосфату при стрептозотоциновому діабеті.

Отже, відмічене нами при стрептозоточиновому діабеті зменшення гематокриту, зниження рН крові, а також збільшення рівня неорганічного фосфату і 2,3 - ДФГ в еритроцитах сприяє зміщенню кривої дисоціації оксигемоглобіну вправо і зменшенню спорідненості гемоглобіну до кисню, що покращує його транспорт до тканин.

При цукровому діабеті в тканинах розвивається енергетичний голод, порушується гліколітичний шлях окислення глюкози, посилюється глікогеноліз, ліполіз, поліоловий шлях метаболізму глюкози, який завершується утворенням сорбітолу /Едимов А.С., 1989/. Цитоплазматична мембрана майже непрониклива для цієї ополуки, що й визначає його нагромадження в клітинах.

Нами були досліджені кількісні характеристики нагромадження сорбітолу в еритроцитах при діабеті /табл.12/.

Таблиця 12.

ВМІСТ СОРБІТОЛУ В ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ  
ПРИ СТРЕПТОЗОТОЧИНОВОМУ ДІАБЕТІ

$\bar{M} \pm m, n = 8 \dots 10$

Досліджувані групи	Концентрація сорбітолу /мкмоль/мл еритроцитів/
Контроль	$0,012 \pm 0,005$
стрептозоточиновий діабет	$0,108 \pm 0,008 \quad p < 0,01$

Підвищений вміст сорбітолу поряд з рядом інших факторів спричиняють посилення проникливості судинної стінки, набряк, пошкодження тканин /Кендьяш И.Н., 1985/. Вищевказані метаболічні зміни сприяють нагромадженню в організмі недоокислених продуктів обміну, розвитку тканинної гіпоксії і ацидозу.

Проведені нами дослідження вмісту кетонів  $\beta$ -гідроксибутирату і ацетоацетату показали їх нагромадження в еритроцитах при діабеті, причому  $\beta$ -гідроксибутират різко переважає над ацетоацетатом /табл.13/.

Таблиця 13.

ВМІСТ КЕТОНОВИХ ТІЛ В ЕРИТРОЦИТАХ  
ЩУРІВ ПРИ СРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ

$M \pm m, n = 8 \dots 10$

Досліджувані групи	Концентрація $\beta$ -гідроксибутирату /мкмоль/мл еритроцитів/	Концентрація ацетоацетату /мкмоль/мл еритроцитів/
Контроль	$0,095 \pm 0,002$	$0,022 \pm 0,005$
стрептозоточинний діабет	$2,015 \pm 0,008$ $p < 0,05$	$0,255 \pm 0,008$ $p < 0,01$

Метаболічний ацидоз і кетоз, який ми спостерігали, можна вважати найбільш загрозливими проявами діабету.

УЗАГАЛЬНЕННЯ.

Порівняння результатів проведених нами досліджень з наявними літературними даними, що стосуються енергетичного обміну при діабеті, дозволяє зробити ряд узагальнень.

Отримані результати свідчать про підвищення при цукровому діабеті рівня глюкози в еритроцитах. Відомо, що при цукровому діабеті проникливість плазматичних мембран, в тому числі еритроцитарних підвищується, що створює умови для вільного поступання ряду речовин в тому числі, і глюкози.

Нами виявлені значні відмінності по степені стійкості еритроцитів до кислотного гемолітика при діабеті. Показано, що зменшення постачання організму киснем автоматично приводить

до збільшення продукції еритроцитів, до посилення їх розпаду і поновлення. Висока швидкість поновлення є пристосуванням організмів до гіпоксії.

В результаті проведених досліджень показано, що в еритроцитах при діабеті проходить порушення процесів катаболізму глюкози. Активність ферментів, які приймають участь в утилізації макроергічних сполук в еритроцитах при діабеті значно змінюється, активність АТФаз знижується.

Порушення процесів, які приймають участь у синтезі і утилізації макроергічних сполук в еритроцитах при діабеті приводить до зниження енергетичного потенціалу клітини, що виражається в зниженні концентрації АТФ. Вичерпування запасів АТФ, в свою чергу приводить до зниження активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази. Отже, в еритроцитах при діабеті проходять виражені порушення процесів гліколізу і утилізації АТФ. Отримані результати вказують на існування складних механізмів порушення біоенергетичних процесів в червоній кров'яній клітині при діабеті.

Компенсаційне посилення швидкості гліколізу сприяє функціональній активації еритроцитів, направлений на збільшення постачання тканин киснем. Проведений комплексний аналіз киснево-транспортної функції еритроцитів при діабеті показав відхилення показників киснево-лужної рівноваги крові в сторону метаболічного ацидозу, зниження величини гематокриту, зменшення спорідненості гемоглобіну до кисню, що виявляється в зміщенні КДО вправо. Значне підвищення концентрації 2,3 - ДФГ і неорганічного фосфату при діабеті можна вважати компенсаційною мірою, спрямованою на забезпечення нормального постачання тканин киснем, на ліквідацію тканинної гіпоксії.

Таким чином, сумуючи все вищесказане можна зробити висновок, що в еритроцитах при діабеті проходять виражені зміни біоенергетичних процесів. При цьому порушення енергетичної забезпеченості еритроцитів відзначається як на рівні процесів синтезу макроергічних сполук, так і їх утилізації. Ми припускаємо, що відзначене нами зниження енергоутворення при діабеті пов'язано з порушенням постачання кисню.

Тому необхідно визнати, що діабет це гіпоксичний синдром, який

обумовлює різке зниження енергетичного обміну за рахунок порушення метаболізму вуглеводів в організмі.

### ВИСНОВКИ.

1. Вперше виявлено при цукровому діабеті значне збільшення концентрації глюкози в еритроцитах в порівнянні з концентрацією глюкози в плазмі.

2. Показано, що при цукровому діабеті еритроцити є менш стійкими. При дослідженні еритрограм різних популяцій еритроцитів відзначено, що найменшою резистентністю володіють старі еритроцити.

3. Встановлено, що зміна активності мембраноз'язаного фермента  $Na^+, K^+$ -АТФази в еритроцитах при цукровому діабеті знаходиться в прямій залежності від важкості і довготривалості захворювання. При діабеті активність  $Na^+, K^+$  - залежної АТФази значно знижується.

4. Встановлена зміна концентрації АТФ при експериментальному діабеті. Відзначений значний дефіцит АТФ в еритроцитах при діабеті.

5. Встановлено значне підвищення активності ферментів гліколізу, за винятком гексокінази при діабеті. Зростає активність фермента глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. При цукровому діабеті ускладненому ангіопатіями активність ферментів вуглеводного обміну різко зростає.

6. Показано, що концентрації субстратів гліколізу при діабеті змінюються: значно збільшується вміст лактату і зменшується вміст пірувату.

7. Методом диск-електрофорезу в ПААГ встановлено зниження вмісту  $LDH_1$  і різке збільшення вмісту  $LDH_4$  при цукровому діабеті.

8. Показано, що при цукровому діабеті зменшується спорідненість гемоглобіну до кисню при збільшенні концентрації 2,3 - ДФГ в еритроцитах. При цукровому діабеті ускладненому ангіопатіями показано збільшення спорідненості

гемоглобіну до кисню при зменшенні концентрації 2,3 - ДФГ.

9. Встановлена активація при експериментальному діабеті пентозового шляху окислення глюкози, що приводить до значного зростання вмісту сорбітолу в еритроцитах.

10. Показана наявність кетозу при експериментальному діабеті, що виявляється в значному збільшенні в еритроцитах концентрації  $\beta$  - гідроксибутирату і ацетоацетату.

СПИСОК НАУКОВИХ РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ  
ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ.

1. Сергиенко А.А., Сокил О.П., Сергиенко Л.М. Активність ферментів пентозофосфатного пути и гликолиза в эритроцитах при стрептозотоциновом сахарном диабете // Проблемы патологии в клинике и эксперименте. Вестник мед. ин-та - Львов-1989. - 12. - с.89-90.

2. Сокил О.П., Сергиенко А.А., Сергиенко Л.М. АТФазная активність в эритроцитах при сахарном диабете // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. Вестник мед. ин-та - Львов. - 1989. - 11. - с.56-57.

3. Сергиенко А.А., Сокил О.П., Сергиенко Л.М. Активність ферментів гликолиза, пентозофосфатного пути, АТФаз эритроцитов при тканевой гипоксии у крыс с стрептозотоциновым сахарным диабетом // IУ Всесоюзный симпозиум: Тез. докл. ч. I - Душанбе, 1990. - с.129.

4. Сергиенко А.А., Сокил О.П., Сергиенко Л.М., Ковалишин В.И. Морфофункциональные особенности микроциркулярного русла кровеносных капилляров при диабетической ангиопатии // Всесоюзный симпозиум: Тез. докл. - Фрунзе, 1990. - с.326-327.

5. Сергиенко Л.М., Сокил О.П. Активність ферментів гликолиза и пентозофосфатного пути в эритроцитах при сахарном диабете // Всесоюзная научн. конференция: Тез. докл. - Москва, 1990. - с.156-157.

6. Сергиенко А.А., Сергиенко Л.М., Сокил О.П. Активність ферментів гликолиза пентозофосфатного пути и транспортных АТФаз в эритроцитах при сахарном диабете // Казанск. мед. журнал. - 1991. № 2. - с.144-145.

7. Великий Н.Н., Обросова И.Г., Сокил О.П.  
Никотинамидные коферменты в регуляции клеточного метаболизма при различных типах экспериментального диабета // Всесоюзная конференция: Тез. докл. - Москва, 1991. - с. 28.

8. Великий Н.Н., Обросова И.Г., Ефимов А.С., Бабичева Е.И., Сокил О.П. Никотинамидные коферменты в регуляции клеточного метаболизма при разных типах диабета // Вопр. мед. химии. - 1992. - 38, № 4. - с. 45-51.

9. Сокил О.П., Сухомлинов Б.Ф. Фізико-хімічні та функціонально властивості гемоглобіну щурів при стрептозотозинному діабеті // VI Укр. біохім. з'їзд: Тези допов. ч. I. - Київ, 1992. - с. 99.

Підписано до друку 24.II.93 Формат 60x84/16 Друк офсет. Папір д/мас  
вид. Умов друк.арк. 1,86. Умов фарб.-відб. 3,0 Обл.-вид. арк.2,0  
Тираж 100 прим. Зам.3346

---

Обласна книжкова друкарня 290000, Львів, вул. Стефаника, 11



403187

AB 28.647