

**MEGANISMES WAARDEUR SOMMIGE PLASMINOGEENAKTIVEERDERS  
EN -INHIBEERDERS PLASMAFIBRINOGEEN EN DIE RISIKO VIR  
HARTVATSIEKTES BEINVLOED**

Johann Carl Jerling

Verhandeling ingehandig ter gedeeltelike voldoening aan die vereistes vir die graad  
M.Sc in Fisiologie

aan die

**POTCHEFSTROOMSE UNIVERSITEIT VIR CHRISTELIKE HOËR ONDERWYS**

Studieleier: Prof. H.H. Vorster  
Medeleier: Prof. P.J. Pretorius

Potchefstroom  
November 1992

## SUMMARY

Increased levels of plasma fibrinogen is regarded as an independent risk factor for coronary heart disease (CHD). Factors which influence fibrinogen levels are poorly understood. There is a possibility that tPA and PAI-1 may influence fibrinogen levels through effects on the catabolism of fibrinogen. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) is the principal inhibitor of the fibrinolytic enzyme system (Loskutoff *et al.*, 1989). High levels of PAI-1, and consequent low fibrinolytic activity, is a risk factor for deep vein thrombosis (Paramo *et al.*, 1985a) and recurrent myocardial infarction (Hamsten *et al.*, 1987a). In comparison with whites, higher fibrinolytic activity has been reported for South African (Franz *et al.*, 1980) and American (Dischinger *et al.*, 1980) blacks. The objective of this study was to examine the possibility that ethnic differences in PAI-1 activity could contribute to ethnic differences in fibrinogen and fibrinolytic activity. A further objective was to establish whether there are any ethnic differences in tPA and PAI-1 activity in response to venous occlusion.

Two matched groups of healthy non-smoking male volunteers between 18 and 23 years old, with a body mass index of 19 to 24 kg/m<sup>2</sup>, were selected from urban white South African Defence Force conscripts (n=15) and from rural Vendas (n=17). Fasting venous blood samples were collected between 07:00 and 10:00 before and after a standardized venous occlusion test. Serum lipoproteins (precipitation and enzymatic methods), glucose, albumin, total protein (colorimetric methods), insulin (RIA), plasma coagulation factors, antithrombin III, plasminogen (Automated Coagulation Laboratory 200 system), tissue-type plasminogen activator antigen (tPA-Ag) (ELISA) and plasminogen activator inhibitor 1 activity (indirect enzymatic method) were measured. Dietary information was obtained by administering a standardized food frequency questionnaire.

Results from the dietary survey indicated that the Vendas consumed a diet in accordance with prudent dietary guidelines, with fat contributing 29.8%, protein 15.6% and carbohydrate 52.5% of the total energy. The white group, in contrast, consumed a typical westernized diet with fat contributing 38.4%, protein 15.7% and carbohydrate 45.1% of the total energy.

The Vendas had significantly lower levels of total serum cholesterol ( $4.17 \pm 0.86$  vs  $5.89 \pm 2.45$  mmol/L) ( $p < 0.01$ ) and a higher percentage cholesterol carried by high-density lipoprotein cholesterol ( $29.1 \pm 8.56$  vs  $22.1 \pm 6.83$  %) ( $p < 0.05$ ). Calculated insulin sensitivity index was higher in the Vendas compared to the whites ( $581.6 \pm 176$  vs  $444.5 \pm 196$ ) ( $p < 0.05$ ).

Plasma fibrinogen levels were significantly higher ( $p < 0.05$ ) in the Vendas ( $2.55 \pm 0.38$ g/L) than in the whites ( $2.22 \pm 0.36$  g/L). Factor V activity levels were

significantly ( $p < 0.05$ ) lower in the Vendas ( $80.3 \pm 13$  vs  $93.9 \pm 23.6$ ). This study confirms the results of other authors (Meade *et al.*, 1986; Merskey *et al.*, 1960) regarding higher factor VII activity ( $86.6 \pm 18.4$  vs  $66.3 \pm 14.2$  %) ( $p < 0.01$ ) and lower factor VIII activity ( $78.7 \pm 25.8$  vs  $99.6 \pm 30.3$  %) ( $p < 0.05$ ) in whites when compared with blacks. No significant differences were measured with regard to factor X activity, antithrombin III or plasminogen.

Plasma levels of tPA-Ag did not differ significantly between the whites and the Vendas ( $7.77 \pm 2.5$  vs  $6.66 \pm 2.1$  ng/mL). Venous occlusion did not result in an increase in tPA-Ag in the whites ( $5.1 \pm 1.91$  ng/mL) or in the Vendas ( $5.39 \pm 2.59$  ng/mL). The results showed highly significant ( $p < 0.001$ ) differences in PAI-1 activity ( $11.48 \pm 4.62$  vs  $2.75 \pm 3.03$  U/mL for white and Vendas respectively). After venous occlusion PAI-1 activity increased significantly ( $p < 0.05$ ) in the Vendas ( $4.99 \pm 3.71$  U/mL). The decrease in PAI-1 activity in the white group was not significant ( $8.91 \pm 4.34$  U/mL). The difference between the two groups remained significant ( $p < 0.01$ ). A correction for haemoconcentration was made to all post-occlusion tPA-Ag and PAI-1 activity values.

It is concluded that the observed differences in PAI-1 activity could possibly contribute significantly to the reported ethnic differences in fibrinolytic activity but not to differences in plasma fibrinogen levels. Diet may be an important determinant of PAI-1 levels. The possibility that race (ethnicity), and not diet, was responsible for these differences, cannot however be excluded. The possible influence of ethnicity and insulin sensitivity through dietary factors as determinants of PAI-1 levels deserves further attention. The possibility that the higher fibrinogen levels in the Vendas could have been caused by undetected chronic low-grade infections, should be examined before any conclusions can be drawn regarding reasons for the ethnic differences in fibrinogen levels.

## OPSOMMING

Verhoogde plasmafibrinogeenvlakke word beskou as 'n belangrike, onafhanklike risikofaktor vir koronêre hartvatsiekte. Die faktore wat plasmafibrinogeenvlakke beïnvloed is nie duidelik nie. Daar bestaan 'n moontlikheid dat tPA en PAI-1 'n rol kan speel deur die katabolisme van fibrinogeen te beïnvloed.

Plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1 (PAI-1) is die belangrikste inhibeerder van die fibrinolitiese sisteem (Loskutoff *et al.*, 1989). Hoë PAI-vlakke en gevolglike lae fibrinolitiese aktiwiteit, is 'n risikofaktor vir trombose in die diep venes (Paramo *et al.*, 1985a) en herhaalde miokardiale infarksie (Hamsten *et al.*, 1987a). Hoër fibrinolitiese aktiwiteit word gerapporteer in Suid-Afrikaanse- (Franz *et al.*, 1980) en Amerikaanse (Dischinger *et al.*, 1980) swartes in vergelyking met blankes. Die doel van hierdie studie was om die moontlikheid dat etniese verskille in PAI-vlakke kan bydra tot die etniese verskille in plasmafibrinogeenvlakke en fibrinolitiese aktiwiteit, te ondersoek. 'n Verdere oogmerk was om vas te stel of daar enige etniese verskille in tPA en PAI-aktiwiteit in die respons op veneuse stase is.

Twee gepaarde groepe gesonde manlike vrywilligers is saamgestel uit stedelike blanke Suid-Afrikaanse Weermag-dienspligtiges (n=15) en plattelandse Vendas (n=17). Die proefpersone was tussen 18 en 23 jaar oud, en het 'n liggaamsmassa-indeks tussen 19 en 24 kg/m<sup>2</sup> gehad. Vastende veneuse bloedmonsters is tussen 07:00 en 10:00, voor en na 'n gestandaardiseerde veneuse-stasetoets getrek. Serum lipoproteïene (presipiterings en ensiematiese metodes), glukose, albumien, totale proteïene (kolorimetriese metodes), insulien (RIA), plasmastollingsfaktore, antitrombien III, plasminogeen ("Automated Coagulation Laboratory"-200 sisteem), weefselplasminogeenaktiveerder-antigeen (tPA-Ag) (ELISA) en PAI-aktiwiteit (indirekte ensiematiese metode) is gemeet. Inligting aangaande die gebruikelike dieet van die proefpersone is met behulp van 'n gestandaardiseerde voedselrekwensievraelys verkry.

Resultate wat uit die dieetopname verkry is het getoon dat die Vendadieet goed ooreenkom met riglyne wat vir die omsigtige dieet daargestel word. Vet het 29.8%, proteïene 15.5% en koolhidrate 52.5% van die totale energie van die Vendadieet bygedra. In kontras hiermee het die blankes 'n tipiese westerse dieet ingeneem met vet wat 38.4%, proteïene 15.7% en koolhidrate 45.1% van die totale energie van die dieet bygedra het.

Totale serumcholesterol in die Vendas was betekenisvol ( $p < 0.01$ ) laer as in die blankes ( $4.17 \pm 0.86$  teenoor  $5.89 \pm 2.45$  mmol/L), en die persentasie cholesterol wat deur hoëdigheidslipoproteïene-cholesterol gedra word betekenisvol ( $p < 0.05$ ) hoër ( $29.1 \pm 8.56$  teenoor  $22.1 \pm 6.83$  %). In vergelyking met die blankes was

die berekende insuliesensitiwiteitsindeks betekenisvol ( $p < 0.05$ ) hoër in die Vendas ( $581.6 \pm 176$  teenoor  $444.5 \pm 196$ ).

Plasmafibrinogeenvlakke in die Vendas ( $2.55 \pm 0.38$  g/L) was betekenisvol ( $p < 0.05$ ) hoër as in die blankes ( $2.22 \pm 0.36$  g/L). Faktor V-aktiwiteit in die Vendas ( $80.3 \pm 13$  %) was betekenisvol ( $p < 0.05$ ) laer as in die blankes ( $93.9 \pm 23.6$  %). Hierdie studie bevestig die resultate van ander outeurs (Meade *et al.*, 1986; Merskey *et al.*, 1960) met betrekking tot hoër faktor VII-aktiwiteit ( $86.6 \pm 18.4$  teenoor  $66.3 \pm 14.2$  %) ( $p < 0.01$ ) en laer faktor VIII-aktiwiteit ( $78.7 \pm 25.8$  teenoor  $99.6 \pm 30.3$  %) ( $p < 0.05$ ) in blankes in vergelyking met swartes. Geen betekenisvolle verskille is ten opsigte van faktor X-aktiwiteit, antitrombin III of plasminogeen gemeet nie.

tPA-Ag-vlakke het nie betekenisvol tussen die twee groepe verskil nie ( $7.77 \pm 2.5$  teenoor  $6.66 \pm 2.1$  ng/mL vir die blankes en Vendas onderskeidelik). Veneuse stase het nie 'n toename in tPA-Ag-vlakke in enige van die groepe veroorsaak nie ( $5.1 \pm 1.91$  ng/mL in die blankes teenoor  $5.39 \pm 2.59$  ng/mL in die Vendas). PAI-aktiwiteit in die blankes was betekenisvol ( $p < 0.0001$ ) hoër as in die Vendas ( $11.48 \pm 4.62$  teenoor  $2.75 \pm 3.03$  E/mL). Na veneuse stase het PAI-aktiwiteit in die Vendas betekenisvol ( $p < 0.05$ ) verhoog ( $4.99 \pm 3.71$  E/mL). Die verhoging in PAI-aktiwiteit in die blankes was nie betekenisvol nie ( $8.91 \pm 4.34$  E/mL). Die verskil in post-stase PAI-aktiwiteit het betekenisvol gebly ( $p < 0.01$ ). Alle post-stase tPA-Ag- en PAI-aktiwiteits-waardes is vir hemokonsentrasie gekorrigeer.

Die volgende gevolgtrekkings word gemaak: die waargenome verskille in PAI-aktiwiteit kan moontlik 'n beduidende rol in die bepaling van gerapporteerde etniese verskille in fibrinolitiese aktiwiteit speel, maar waarskynlik nie in die bepaling van plasmafibrinogeenvlakke nie. Dieet kan moontlik 'n belangrike bepaler van PAI-aktiwiteit wees. Die moontlikheid van etniese verskille in PAI-1 kan egter nie uitgesluit word nie. Die moontlike invloed van etnisiteit en insuliesensitiwiteit via dieetfaktore as determinante van PAI-aktiwiteit behoort verder, en in meer diepte nagevors te word. Die moontlikheid dat die hoër plasmafibrinogeen in die Vendas die gevolg van onbewuste chroniese, lae graad infeksies was, moet eers uitgeklaar word voor daar gevolgtrekkings oor redes vir die etniese verskille in fibrinogeenvlakke gemaak kan word.

# INHOUDSOPGAWE

## HOOFSTUK 1

INLEIDING	1
Struktuur van die verhandeling	2

## HOOFSTUK 2

LITERATUUROORSIG	3
2.1    Koronêre hartvatsiekte	3
2.2    Die bloedstollingsstelsel	3
2.2.1  Hiperkoaguleerbaarheid as risikofaktor vir KHS	5
Plasmafibrinogeen as risikofaktor vir KHS	5
Faktor VII as risikofaktor vir KHS	6
Faktor VIII as risikofaktor vir KHS	6
Antitrombin III en KHS	6
2.3    Die fibrinolitiese stelsel	7
Weefselplasminogeenaktiveerder (tPA)	8
Algemene biochemie	8
Toestande en stowwe wat tPA-vrystelling of -sintese beïnvloed	9
Plasminogeenaktiveerderinhibeerder (PAI-1)	10
Inleiding	10
Agtergrond	11
Struktuur-funksie verwantskap	12
Selle waarin PAI-1 geproduseer word	14
PAI-1 in die ekstrasellulêre matriks (ESM)	15
Regulering van PAI-1	15
Regulering van PAI-aktiwiteit	15
Regulering van PAI-biosintese	17
Regulering van PAI-vrystelling	19
Kliniese aspekte van PAI-1	21
Probleme met die meting van PAI-1	21
Verhoogde vlakke van PAI-1	21
Korrelasies tussen PAI-aktiwiteit en ander veranderlikes	22
Verlaagde vlakke van PAI-1	24
PAI-1 en vaskulêre siekte	24
Die rol van insulien en insulienweerstand op PAI-vlakke en -aktiwiteit	25
Die effek van dieet op PAI-vlakke	26
2.4    Samevatting en doel van hierdie studie	27

## HOOFSTUK 3

METODE	28
3.1 Proefpersone	28
3.2 Bloedtrekprosedure	28
3.3 Bereiding van serum en plasma	29
3.4 Biochemiese analises	29
3.4.1 Inleiding	29
3.4.2 Totale cholesterol (TC)	29
3.4.3 Hoëdigheidslipoproteïen-cholesterol (HDL-C)	29
3.4.4 Triglisieriede (TG)	30
3.4.5 Insulien (Ins)	30
3.4.6 Berekende indeks vir insuliesensitiwiteit (IS)	30
3.4.7 Glukose (Glc)	31
3.4.8 Totale proteïen (TP)	31
3.4.9 Albumien (Alb)	31
3.4.10 Hemostatiese veranderlikes	31
Plasmafibrinogeen (Fgn)	31
Plasmastollingsfaktore (FV, FVII, FVIII, FX)	32
Plasminogeen (Plg)	33
Antitrombien III (ATIII)	33
3.4.11 Fibrinolitiese veranderlikes	33
Weefselplasminogeenaktiveerder-antigeen (tPA-Ag)	33
Plasminogeenaktiveerderinhibeerder (PAI-1)	34
Korreksie vir hemokonsentrering	34
3.5 Nutriëntinname	35
3.6 Statistiese verwerking	35

## HOOFSTUK 4

RESULTATE	36
4.1 Inleiding	36
4.2 Dieetverskille tussen blanke- en Venda proefpersone	37
4.3 Serumlipiede	39
4.4 Veranderlikes van koolhidraatmetabolisme	41
4.5 Serumproteïene	42
4.6 Plasmastollingsfaktore	43
4.7 Fibrinolitiese ensieme	45
4.8 Korrelasies tussen gemete parameters	47

<b>HOOFSTUK 5</b>	
<b>BESPREKING</b>	<b>49</b>
5.1 Inleiding	49
5.2 Serumlipiede	49
5.3 Koolhidraatmetabolisme	50
5.4 Bloedstolling veranderlikes	50
5.5 Fibrinolitiese veranderlikes	51
5.6 Die effek van veneuse stase op fibrinolitiese veranderlikes	53
<b>HOOFSTUK 6</b>	
<b>GEVOLGTREKKINGS EN AANBEVELINGS</b>	<b>55</b>
Voorstelle vir verdere studie	55
<b>LYS VAN FIGURE</b>	<b>57</b>
<b>LYS VAN TABELLE</b>	<b>58</b>
<b>LYS VAN AFKORTINGS</b>	<b>59</b>
<b>BEDANKINGS</b>	<b>62</b>
<b>KONGRESVOORDRAGTE</b>	<b>63</b>
<b>BIBLIOGRAFIE</b>	<b>64</b>

# HOOFSTUK 1

## INLEIDING

Koronêre hartvatsiekte (KHS) is die belangrikste oorsaak van dood onder ekonomies-aktiewe mans in Suid-Afrika (Wyndham, 1978). Verhoogde plasmafibrinogeenvlakke is deur verskeie prospektiewe en epidemiologiese studies (opgesom deur Cook & Ubben, 1990) as 'n onafhanklike risikofaktor vir KHS geïdentifiseer. Fibrinogeen kan deur twee hoofmeganismes bydra tot mortaliteit as gevolg van KHS, naamlik deur die ontwikkeling van aterosklerose (aterogenese) en deur trombusvorming (trombogenese) te versnel (Ernst, 1990; Smith, 1986). Dit is dus belangrik dat verhoogde plasmafibrinogeenkonsentrasies in individue met 'n hoë risiko vir KHS behandel moet word. Om verhoogde plasmafibrinogeenvlakke te behandel is daar egter meer inligting nodig oor faktore wat plasmafibrinogeen beïnvloed.

Die fibrinolitiese sisteem is verantwoordelik vir die afbreek van fibrinogeen en fibrien-trombusse wat onder fisiologiese en patologiese toestande gevorm word. Dié sisteem is dus die antitrombotiese verdedigingsisteem in die liggaam (Verstraete & Verhaeghe, 1991). Omdat die fibrinolitiese sisteem verantwoordelik is vir die katabolisme van fibrien en fibrinogeen, bestaan daar 'n moontlikheid dat dié sisteem 'n rol kan speel in die beheer van plasmavlakke van fibrinogeen.

Die belangrikste inhibeerder van fibrinolise is plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1 (PAI-1) (Loskutoff *et al.*, 1989). PAI-1 inhibeer weefselplasminogeenaktiveerder (tPA), wat onaktiewe plasminogeen omskakel na aktiewe plasmien. Die aktiewe plasmien is hoofsaaklik verantwoordelik vir die afbraak van fibrinogeen en die fibrientrombus (Collen & Lijnen, 1990). PAI-1 korreleer besonder goed met euglobien-fibrinolitiese aktiwiteit (Vague *et al.*, 1986). Verhoogde vlakke van PAI-1 word beskou as 'n risikofaktor vir trombose van die diep venes (Paramo *et al.*, 1985) en herhaalde miokardiale infarsie (Hamsten *et al.*, 1985). Verhoogde PAI-vlakke word ook geassosiëer met ander risikofaktore vir KHS, soos obesiteit (Mussoni *et al.*, 1990) en diabetes mellitus (Juhan-Vague *et al.*, 1989).

Rasverskille in die voorkoms van KHS in Suid-Afrika is 'n bekende feit (Steinberg *et al.*, 1988). Blankes en Indiërs het 'n hoë voorkoms terwyl swartes 'n lae voorkoms het. Verskeie outeurs het ook rasverskille in fibrinolitiese aktiwiteit gerapporteer (Dischinger *et al.*, 1980; Franz *et al.*, 1980; Merskey *et al.*, 1960). Dit is dus moontlik dat verskille in tPA en PAI-aktiwiteit en/of konsentrasies tot die verskille in fibrinolitiese aktiwiteit van blankes en swartes mag bydra.

Die doel van hierdie studie was om vas te stel of daar rasverskille in tPA- en PAI-vlakke is, en of tPA- en PAI-vlakke plasmafibrinogeenkonsentrasies beïnvloed.

Sommige ander determinante van PAI-aktiwiteit is ook ondersoek, sowel as die effek van veneuse stase op tPA- en PAI-aktiwiteit.

### **Struktuur van die verhandeling**

In hoofstuk 2 word die nuutste relevante literatuur bespreek. Daar word aandag aan verskeie ensieme in die stollings- en fibrinolitiese sisteme gegee. Daar word verder op fibrinogeen, faktor VII, faktor VIII en antitrombin III as risikofaktore vir KHS gekonsentreer, terwyl PAI-1 in besonderhede bespreek word. In hoofstuk 3 word die studie-ontwerp en die metodes waarvan gebruik gemaak is beskryf. In hoofstuk 4 word die resultate wat verkry is tydens hierdie studie gerapporteer en ook vergelyk met gerapporteerde resultate van ander outeurs. Hoofstuk 5 is gebruik om moontlike verklarings te bied vir gemete verskille en in hoofstuk 6 word gevolgtrekkings gemaak oor die resultate wat in hierdie studie verkry is. Daar word ook aanbevelings gedoen oor moontlike verdere navorsing.

## HOOFSTUK 2

### LITERATUUROORSIG

#### 2.1 Koronêre hartvatsiekte

Hartvatsiektes is 'n versameling siektes wat veral die bloedvate, senuwees en ligamente om die hart affekteer. Die bekendste voorbeeld hiervan is aterosklerose. Aterosklerose is die mees algemene oorsaak van iskemiese of koronêre hartvatsiekte (KHS) en die trombotiese komplikasies daarvan (Guyton, 1986).

KHS is die hooforsaak van dood onder ekonomies aktiewe (20- tot 65-jarige) blankes in Suid-Afrika (Wyndham, 1978). Sedert 1970 was daar 'n afname in mortaliteit as gevolg van iskemiese hartsiekte onder blankes, kleurlinge en Indiërs (Steinberg *et al.*, 1988). Statistieke oor mortaliteitsyfers onder swartes is onakkuraat, maar dit wil voorkom asof daar sedert 1978 ook 'n afname in mortaliteit as gevolg van iskemiese hartsiekte onder swartes was (Steinberg *et al.*, 1988).

Mortaliteitsyfers in Suid-Afrika as gevolg van iskemiese hartsiekte was in 1980 25/100 000 onder swart mans, en 453/100 000 onder blanke mans (Steinberg *et al.*, 1988).

Die bekendste risikofaktore vir KHS is verhoogde serumcholesterol (La Rosa *et al.*, 1990), hipertensie (Kannel *et al.*, 1980), rook (Gotto, 1986), diabetes mellitus (Kannel *et al.*, 1990), seruminsulien (Fontbonne & Eschwege, 1987), plasmafibrinogeen (Meade *et al.*, 1980) faktor VIIa (Meade *et al.*, 1980) en 'n verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit (Chakrabarti *et al.*, 1968). Laasgenoemde is risikofaktore vir beide die ontwikkeling van aterosklerose en trombose.

Die hemostatiese sisteem bestaan uit twee komplekse ensiemsisteme waarvan die stollingsstelsel verantwoordelik is vir die vorming van 'n bloedklont, en die fibrinolitiese sisteem vir die afbraak of lise van gevormde klonte. Beide die sisteme word bespreek, maar aangesien die fokus van hierdie verhandeling op die fibrinolitiese sisteem val, sal die ensieme in hierdie sisteem in meer besonderhede bespreek word.

#### 2.2 Die bloedstollingsstelsel

Die stollingskaskade word tradisioneel beskryf as bestaande uit twee weë. Die eerste weg is die intrinsieke weg (intrinsiek omdat alles wat nodig is om dit te begin reeds in die bloed teenwoordig is), en begin met die aktivering van faktor XI deur negatief-gelaaide oppervlakke soos op kollageen en basaalmembrane aangetref



### 2.2.1 Hiperkoaguleerbaarheid as risikofaktor vir KHS

Hiperkoaguleerbaarheid word gekenmerk deur 'n verhoogde konsentrasie en/of aktiwiteit van een of meer van die stollingsfaktore, en/of 'n verlaagde konsentrasie en/of aktiwiteit van een of meer van die natuurlike inhibeerders van bloedstolling, en/of die onderdrukking van fibrinolitiese aktiwiteit (Vorster *et al.*, 1988). Die verwantskap tussen KHS en vlakke of aktiwiteite van die ensieme in die stollings- en fibrinolitiese sisteme sal vervolgens kortliks bespreek word.

### Plasmafibrinogeen as risikofaktor vir KHS

Die eerste studie wat plasmafibrinogeen as risikofaktor vir koronêre hartvatsiekte na vore laat kom het, is in 1980 deur Meade en medewerkers gepubliseer (Meade *et al.*, 1980). Hierdie groep het 'n onafhanklike verband tussen plasmafibrinogeen en kardiovaskulêre sterftes aangetoon. Hierdie verband was minstens so sterk as die verband tussen cholesterol en kardiovaskulêre sterftes. Ander outeurs het later gevind dat verhoogde plasmafibrinogeenvlakke met KHS, miokardiale infarksie (MI), beroerte (Kannel *et al.*, 1987; Stone & Thorp, 1985; Wilhelmsen *et al.*, 1984) en kortstondige iskemie (Qizilbash *et al.*, 1991) verband hou. Benewens die direkte verband tussen verhoogde plasmafibrinogeen en KHS toon fibrinogeenvlakke ook positiewe korrelasies met verskeie ander erkende risikofaktore vir KHS soos bloeddruk, rook, serumcholesterol (Lee *et al.*, 1990; Wilhelmsen *et al.*, 1984), faktor VII<sub>C</sub>, faktor VIII<sub>C</sub> (Meade *et al.*, 1980), laedigheidslipoproteïen-cholesterol (LDL-C)(Balleisen *et al.*, 1985; Moller & Kristensen, 1991), baie-laedigheidslipoproteïen-cholesterol (VLDL-C)(Stone & Thorp, 1985), liggaamsmassa-indeks (LMI)(Lee *et al.*, 1990), persoonlike- en ekonomiese probleme, abdominale-pynindeks, gebrek aan aktiwiteit, werkstres (Moller & Kristensen, 1991), hematokrit (Kannel *et al.*, 1987), harttempo, bloedglukose (Korsan-Bengsten *et al.*, 1972), glukose-onverdraagsaamheid (Kannel *et al.*, 1990) en die gebruik van orale voorbehoedmiddels (Meade *et al.*, 1979). Negatiewe korrelasies is aangetoon tussen plasmafibrinogeenvlakke en alkoholverbruik (Lee *et al.*, 1990), hoëdigheidslipoproteïen-cholesterol (HDL-C)(Moller & Kristensen, 1991; Qizilbash *et al.*, 1991), dieetveselname (Fehily *et al.*, 1982), asook fiksheid en sosiale klas (Moller & Kristensen, 1991). Plasmafibrinogeen word beskou as 'n belangrike risikofaktor in die ontwikkeling en voorspelling van toekomstige KHS (Cook & Ubben, 1990; Ernst, 1990; Kannel *et al.*, 1987; Meade *et al.*, 1980; Stone & Thorp, 1985).

Resultate wat verkry is in die **Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC)**-studie in Amerika, toon dat daar etniese verskille in plasmafibrinogeenvlakke is. Plasmafibrinogeenvlakke is hoër in swartes as in blankes (Folsom *et al.*, 1991). Meade *et al.* (1986) rapporteer ook hoër plasmafibrinogeenvlakke in plattelandse swartes in Gambië as in Europese proefpersone. Venter *et al.* (1991a) het egter

onder Suid-Afrikaanse bevolkingsgroepe bevind dat gesonde plattelandse swartes se fibrinogeenvlakke dieselfde as die van blankes was, maar dat verstedelike swartes betekenisvol hoër plasmafibrinogeenvlakke gehad het.

Dit is moeilik om die oorsake van verhoogde plasmafibrinogeen van die gevolge daarvan te onderskei. Dit is wel seker dat plasmafibrinogeen 'n hoofrol in die trombotiese- en aterosklerotiese proses speel, en dat dit in die risikoprofiel vir die evaluering van KHS ingesluit behoort te word (Cook & Ubben, 1990; Ernst, 1990; Vorster & Venter, 1992).

### **Faktor VII as risikofaktor vir KHS**

Verhoogde faktor VII-aktiwiteit (FVIIa) word beskou as 'n goeie aanduider van 'n hiperkoaguleerbare toestand (Miller *et al.*, 1986) en is ook 'n onafhanklike risikofaktor vir KHS (Meade *et al.*, 1986a). FVIIa korreleer voorts met die gebruik van orale voorbehoedmiddels, massa (Balleisen *et al.*, 1985; Meade *et al.*, 1976), bloedglukose en trigliseriede (Balleisen *et al.*, 1985). FVII-vlakke styg tydens obesiteit maar word nie deur rook beïnvloed nie (Meade, 1984). Uitgesproke rasverskille word vir FVIIa gerapporteer. FVII-vlakke in plattelandse swartes in Gambië was betekenisvol laer as in proefpersone uit verskillende stede in Europa (Meade *et al.*, 1986b). Resultate van die **Northwick Park Heart Study (NPHS)** dui ook op laer FVIIa in swartes as in blankes (Meade, 1986; Meade & North, 1977). Merskey *et al.* (1960) en Vermaak *et al.* (1991) rapporteer laer FVII-vlakke in swartes as in blankes. Resultate van die ARIC-studie dui egter op geen etniese verskille in FVII-vlakke nie (Folsom *et al.*, (1991). Miller *et al.* (1986) rapporteer 'n sterk verband tussen FVIIa en die inname van dieetvet. Hierdie verband word ook aangebied as moontlike verklaring vir die etniese verskille in FVIIa-vlakke (Miller *et al.*, 1986). Verhoogde inname van dieetvesel verlaag ook FVII-vlakke in tipe II-diabete (Simpson *et al.*, 1982).

### **Faktor VIII as risikofaktor vir KHS**

In die NPHS het faktor VIIIa (FVIIIa) met kardiovaskulêre dood gekorreleer (Meade *et al.*, 1980a). FVIIIa korreleer voorts met plasmafibrinogeen (Balleisen *et al.*, 1985). Daar word ook etniese verskille ten opsigte van FVIII gerapporteer. Anders as FVII, is FVIII-vlakke hoër in swartes as in blankes (Merskey *et al.*, 1960; Meade, 1984; Meade & North, 1977; Meade *et al.*, 1986b).

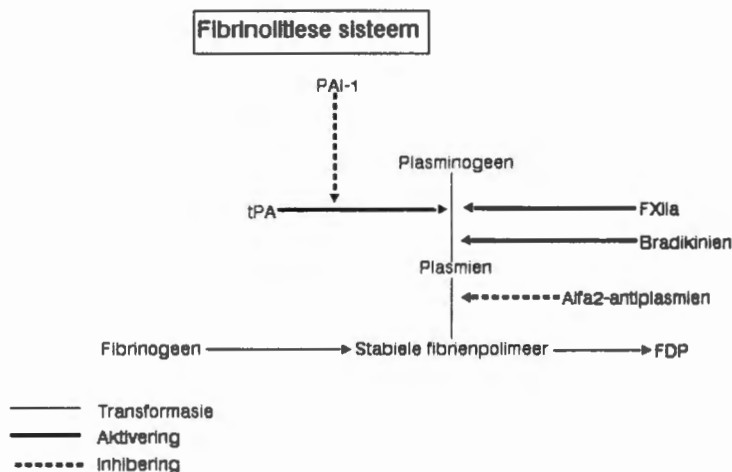
### **Antitrombin III en KHS**

Dit is bekend dat 'n aangebore gebrek aan ATIII 'n hoë risiko vir veneuse trombose is (Breddin, 1986). Tydens verskillende vorme van vasculêre siekte is daar ook

verskillende vlakke van ATIII gerapporteer (Breddin, 1986). Daar is dus geen duidelike patroon wanneer daar van KHS en ATIII-vlakke gepraat word nie. Resultate van die NPHS dui op geen verskille in ATIII-vlakke tussen persone wat 'n kardiovaskulêre episode oorleef en die wat daaraan sterf nie (Meade *et al.*, 1980). Pasiënte wat in die onderste- of boonste derde van die ATIII-verspreidingskromme val, is meer geneig om aan KHS te sterf as die wat in die middelste derde val (Meade *et al.*, 1991). In reaksie op en in teenstelling met Meade *et al.* se resultate rapporteer Cortellaro *et al.* (1991) 'n neiging na minder sterftes in pasiënte met hoër ATIII-vlakke. Dit is aangetoon dat ATIII met FVIIa ( $r=0.23$ ) en plasmafibrinogeen ( $r=0.19$ ) korreleer (Meade *et al.*, 1991). Cortellaro *et al.* (1991) rapporteer dat ATIII met plasmafibrinogeen ( $r=0.27$ ), proteïen-C ( $r=0.29$ ), totale cholesterol ( $r=0.19$ ) en trigliseriede ( $r=0.19$ ) korreleer. Franz *et al.* (1980) rapporteer rasverskille ten opsigte van ATIII-vlakke maar meld nie in watter groep die hoër waardes gemeet is nie. Meade *et al.* (1986) rapporteer geen etniese verskille ten opsigte van ATIII tussen plattelandse swartes in Gambië en Europese proefpersone nie.

### 2.3 Die fibrinolitiese sisteem

Bloed bevat 'n ensiemsisteem wat die vermoë het om bloedklonte op te los. Hierdie sisteem word die fibrinolitiese sisteem genoem. Die fibrinolitiese sisteem bestaan uit 'n onaktiewe pro-ensiem, plasminogeen, wat verander kan word na 'n aktiewe ensiem, plasmien. Plasmien breek dan die stabiele fibrienpolimeer na oplosbare fibrienafbraakprodukte (FDP) af. 'n Skematiese uiteensetting van die fibrinolitiese sisteem word in figuur 2.2 gegee.



Figuur 2.2 'n Skematiese uiteensetting van die fibrinolitiese sisteem (Aangepas uit: Collen & Lijnen, 1990).

Weefselplasminogeenaktiveerder (tPA) asook urokinase (uPA) aktiveer plasminogeen na plasmien. Die inhibering van die fibrinolitiese sisteem vind op twee vlakke plaas. Op die vlak van plasminogeenaktivering word dit deur plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1 (PAI-1) geïnhibeer, en op die vlak van plasmien hoofsaaklik deur  $\alpha_2$ -antiplasmien. Die beheer en regulering van hierdie sisteem hang van die spesifieke interaksies tussen die hoofkomponente van die sisteem af. Plasminogeenaktivering kan ook plaasvind deur die intrinsieke stollingsweg. Faktor XIIa en van die kiniene het plasminogeen-aktiveringspotensiaal (Collen & Lijnen, 1990).

Etniese verskille ten opsigte van fibrinolitiese aktiwiteit is reeds gerapporteer (Dischinger *et al.*, 1980; Franz *et al.*, 1961; Franz *et al.*, 1980; Meade & North, 1977; Meade *et al.*, 1986b). Hierdie studies rapporteer almal hoër fibrinolitiese aktiwiteit in swartes as in blankes. Dit is ook bekend dat KHS met laer fibrinolitiese aktiwiteit gepaardgaan (Prins & Hirsh, 1991).

Die rol van die belangrikste aktiveerder en inhibeerder van die fibrinolitiese sisteem, tPA en PAI-1 word vervolgens in meer besonderhede bespreek.

## Weefselplasminogeenaktiveerder (tPA)

### Algemene biochemie

Weefselplasminogeenaktiveerder is 'n serienprotease met 'n  $M_r$  van ongeveer 70 000 en bestaan uit 'n enkel polipeptiedketting met 527 aminosure. Serien is die  $NH_2$ -terminale aminosuur (Pennica *et al.*, 1983). Die enkelkettingvorm kan verander word na 'n dubbelkettingvorm deur die hidrolisering van die Arg<sup>275</sup>-Ile<sup>276</sup> polipeptiedband. Die dubbelketting wat dan vorm word aanmekaar gehou deur 'n disulfiedband. tPA word in byna al die weefsels in die liggaam aangetref, insluitende die lewer en endoteelselle (oorsig deur Bachmann & Kruithof, 1984). Die  $NH_2$ -terminaal van die molekule vertoon ooreenkomste met verskeie ander proteïene: residue 1-43 is homolog aan die "vingerstreek" van fibronektien (Banyai *et al.*, 1983), residue 44-91 aan menslike epidermale groeifaktor (EGF), residue 92-173 en 180-261 aan die kringelstrukture van plasminogeen (Pennica *et al.*, 1983). Residue 276-527 is homolog aan dié van ander serienproteases en bevat die katalitiese setel (Pennica *et al.*, 1983). Ander molekule wat soortgelyke homologe vertoon is urokinase (uPA), FXII, FX, FIX, proteïen-C, komplement C9, tumor-groeifaktore, LDL-reseptor, fibronektien, plasminogeen en protrombien (Patthy, 1985; Rijken, 1988).

tPA is hoogs fibrien-spesifiek (Thorsen *et al.*, 1972). In die afwesigheid van fibrien is tPA 'n swak plasminogeenaktiveerder, en die teenwoordigheid van fibrien

verhoog tPA-reaktiwiteit teenoor plasminogeen 'n 1000 tot 1500 keer (Hoylaerts *et al.*, 1982). tPA veroorsaak egter 'n mate van sistemiese fibrinogenolise deurdat die oplosbare fibrienafbraakprodukte plasminogeen en tPA bind en sodoende plasmien genereer (Weitz *et al.*, 1991).

tPA het 'n halfleeftyd van 3-4 minute in die bloed, en word hoofsaaklik deur die lewer verwyder (Nilsson *et al.*, 1984) deur 'n reseptorsisteem met 'n hoë-kapasiteit en hoë-affiniteit vir tPA (Owensby *et al.*, 1988). Afbraak in die lewer neem ongeveer 15 minute en alle afbraakprodukte word binne 24 uur in die urien uitgeskei (Nilsson *et al.*, 1984). Lewerbloedvloei word beskou as een van die belangrikste bepalers van tPA-verwydering. Dit is dus belangrik om die effek van 'n toestand of middel op lewerbloedvloei, en dus ook verwydering van tPA deur die lewer, in ag te neem voordat daar gevolgtrekkings oor sulke toestande of middels gemaak word (De Boer *et al.*, 1990; De Boer *et al.*, 1992). Die mate van glikosilering van die tPA-molukuul speel ook 'n rol in die verwydering daarvan deur die lewer (Ord *et al.*, 1990).

Hoër tPA-antigeen-vlakke (tPA-Ag) word aangetref in mans as in vroue, en tPA-Ag verhoog ook met toenemende ouderdom (Eliasson *et al.*, 1992; Rumley *et al.*, 1992; Stegnar & Pentek, 1992) (tPA-Ag bestaan uit alle vorme van tPA in die plasma, dit wil sê aktiewe sowel as onktiewe tPA asook tPA in kompleks met PAI-1).

### **Toestande en stowwe wat tPA-vrystelling of -sintese beïnvloed**

Verskeie toestande en middels veroorsaak 'n verhoging in tPA-vlakke, byvoorbeeld oefening, veneuse afsnoering, proteïen-C, bradikiniën en vasopressien. 'n Verlaagde tPA-respons op veneuse afsnoering word aangetref in vetsugtige persone, in gebruikers van orale voorbehoedmiddels, en in hipertriglisieridemiese proefpersone (oorsig deur Bachmann & Kruithof, 1984). tPA-Ag-vrystelling of tPA-aktiwiteit word in verskeie sellyne of *in vivo* verhoog deur interleukien-1 (IL-1)(Michel & Quertermous, 1989), tumor-nekrosefaktor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) (Schleef *et al.*, 1988), trombin (Van Hinsbergh *et al.*, 1990), basiese-fibroblastgroeifaktor (bFGF)(Saksela *et al.*, 1987), gonadotropien-vrystellingshormoon, follikelstimulerendehormoon (Ny *et al.*, 1987) en luteïeniseringshormoon (O'Connell *et al.*, 1987). Klein hoeveelhede transformerende groeifaktor-B (TGF $\beta$ ) verlaag die effek van bFGF op tPA-aktiwiteit (Saksela *et al.*, 1987). Die akute infusie van insulien verhoog tPA-aktiwiteit (Landin *et al.*, 1991). Deur endoteelselle met butiraat te behandel word tPA mRNA-vlakke verhoog sonder om PAI-vlakke te beïnvloed (Lijnen & Collen, 1990). tPA bind aan en word geïnhibeer deur oppervlakgebonde lipoproteïen (a) (Lp(a)). Hierdie ontdekking bied 'n unieke verklaring vir hoe Lp(a) en tPA 'n rol te speel het in die ontwikkeling van atero-

trombotiese siektes (Simon *et al.*, 1991). In kontras hiermee vind Tranchesi *et al.* (1990) geen verband tussen verhoogde Lp(a)-vlakke en trombolise nie. In 'n onlangse oorsig verduidelik Dahlén (1991) hoe Lp(a) met plasminogeen en tPA kompeteer vir binding aan fibrien. Op dié manier dra Lp(a) by tot die verhoogde risiko vir trombose in mense met hoë Lp(a)-vlakke. Dahlén bevraagteken egter hierdie teorie op grond van gebrek aan *in vivo* studies en gebrek aan korrelasie tussen Lp(a)-konsentrasie en veneuse trombose. Lijnen en Collen (1992) gee in 'n oorsig epidemiologiese bewyse van die verhoogde risiko vir beroerte of miokardiale iskemie in mense met Lp(a)-waardes hoër as 30 mg/dL.

'n Verlaagde tPA-respons op veneuse afsnoering word aangetref in pasiënte met trombose van die diep venes (DVT) (Wiman *et al.*, 1985; Juhan-Vague *et al.*, 1987) en in pasiënte drie maande na 'n MI (Johnson *et al.*, 1984). In pasiënte wat 'n MI oorleef het, is daar na drie jaar hoër tPA-Ag vlakke gemeet as in 'n kontrolegroep. tPA-aktiwiteit was egter betekenisvol laer in die pasiëntgroep (Hamsten *et al.*, 1985). Hoër tPA-Ag vlakke word aangetref in pasiënte met DVT en KHS in vergelyking met gesonde kontrolepersone (Paramo *et al.*, 1985a; Paramo *et al.*, 1985b). Hoër tPA-Ag vlakke word ook aangetref in pasiënte met beroerte in vergelyking met gesonde kontroleproefpersone (Jiao *et al.*, 1992).

tPA-vlakke hou verband met sekere antropometriese veranderlikes soos LMI en middel-heupverhouding (Sundell *et al.*, 1989c). tPA-Ag korreleer positief met insulienweerstand (Kluft *et al.*, 1992), PAI-aktiwiteit en fibrinogeen (Eliasson *et al.*, 1992). tPA-Ag korreleer negatief met tPA-aktiwiteit (Eliasson *et al.*, 1992).

Dit wil voorkom asof dieet 'n rol mag speel in die aktivering van die fibrinolitiese sisteem. 'n Lae-vet, hoë-koolhidraat dieet veroorsaak 'n daling in tPA-Ag, maar ook in PAI-1 (Mehrabian *et al.*, 1990). 'n Matige verlaging in die vetinhoud van die dieet het geen invloed op tPA-Ag of PAI-aktiwiteit gehad nie (Marckmann *et al.*, 1992a). Hierdie outeurs het die dieet egter net vir twee weke nagevors, wat moontlik te kort is om enige verskille te toon.

## **Plasminogeenaktiveerderinhibeerder (PAI-1)**

### **Inleiding**

Die aanvang van vaskulêre fibrinolise is 'n komplekse proses wat nie net deur tPA en uPA beheer word nie, maar ook deur interaksies van spesifieke stowwe met seloppervlakreseptore, selmatrikse en plasmakofaktore. Die primêre reguleerder is na alle waarskynlikheid PAI-1, 'n relatief onstabiele molekule wat in 'n aktiewe en latente vorm bestaan. PAI-1 is self een van die mees gereguleerde komponente van die fibrinolitiese sisteem. Veranderinge in PAI-aktiwiteit, natuurlik of

eksperimenteel geïnduseer, ontwrig die normale fibrinolitiese balans en kan lei tot drastiese verhogings of verlaging in netto fibrinolitiese aktiwiteit (Loskutoff *et al.*, 1989).

## Agtergrond

Fisiologiese fibrinolise word hoofsaaklik deur fibrien (Hoylaerts *et al.*, 1982) en fibrinolitiese inhibeerders (Aoki & Harpel, 1984; Erickson *et al.*, 1985a; Sprengers & Kluft, 1987) beheer. Die belang van fibrien word weerspieël in die feit dat tPA redelik oneffektief in die afwesigheid van fibrien, maar baie effektief in die teenwoordigheid daarvan is (Hoylaerts *et al.*, 1982). Verder word plasmien wat aan fibrien gebind is, beskerm teen inaktivering deur  $\alpha_2$ -antiplasmin (Aoki & Harpel, 1984; Collen, 1980). Hierdie waarnemings het gelei tot 'n fisiologiese model vir fibrinolise wat 'n moontlike regulatoriese rol aan fibrien toeskryf (Wiman & Collen, 1978). Hierdie model het egter die inhibeerders van tPA op die agtergrond geskuif, sodat hulle as onnodig geag is en dat die bestaan daarvan betwyfel is (Korninger & Collen, 1981). Die gevolgtrekkings is as waar aanvaar omdat waarnemings oor spesifieke inhibeerders in die bloed (Aoki & Von Kaulla, 1971; Beattie *et al.*, 1976) nie deur kinetiese data bevestig kon word nie (Korninger & Collen 1981).

Ten spyte van die voorafgaande was daar waarnemings wat die bestaan van plasminogeenaktiveerderinhibeerders bevestig het. Die belangrikste hiervan was die waarneming deur verskeie groepe dat endoteelselle van verskeie spesies 'n molekule met plasminogeenaktiverings-aktiwiteit sintetiseer (Emeis *et al.*, 1983; Loskutoff & Edgington, 1981; Philips *et al.*, 1984) en wat verskil van bekende protease-inhibeerders (Van Mourik *et al.*, 1984). Daar is geen PAI-aktiwiteit waargeneem in normale menslike plasma nie (Korninger & Collen, 1981) maar wel in die plasma van sekere pasiënte met trombotiese probleme (Chmielewska *et al.*, 1983; Kruithof *et al.*, 1984; Thorsen & Philips, 1984; Wiman & Chmielewska, 1985). Hierdie endoteel- en plasma-PAI het natriumdodesielsulfaat (SDS)-stabiele komplekse met tPA gevorm (Kruithof *et al.*, 1984; Thorsen & Philips, 1984; Wiman *et al.*, 1984). Hierdie kompleksvorming met tPA het baie vinniger as met bekende plasmaprotease-inhibeerders geskied (Korninger & Collen, 1981). Sedertdien is PAI-1 al in 'n verskeidenheid weefsels gevind.

Plasminogeenaktiveerders is hoogs-spesifieke serien-proteases wat die onaktiewe simogeen, plasminogeen, omskakel in die breë-spektrum protease, plasmien. Plasminogeenaktiveerders kan in twee groepe verdeel word naamlik tPA en u-PA. Plasminogeenaktivering is 'n belangrike bron van plaaslike proteolitiese-aktiwiteit, nie net tydens fibrinolise nie maar ook tydens ovulasie, selmigrasie, epiteeldifferensiering en 'n wye verskeidenheid ander fisiologiese prosesse (Dano *et*

*al.*, 1985). Presiese regulering van plasminogeenaktiveerder-aktiwiteit is belangrik vir baie biologiese prosesse.

Ten minste vier immunologies-onderskeibare PAI-molekules is reeds beskryf (Collen, 1986):

1. PAI-1: ook genoem endoteelselinhiveerder (Emeis *et al.*, 1983; Philips *et al.*, 1984; Van Mourik *et al.*, 1984) of "'fast-acting inhibitor of tPA in plasma" (Kruithof *et al.*, 1984).
2. PAI-2: voorheen plasentale-tipe inhiveerder genoem (Astedt *et al.*, 1987; Kawano *et al.*, 1968) vanweë die plek waaruit dit die eerste keer geïsoleer is. Dit word ook uit monosiet/makrofaag-weefselkulture (U937) geïsoleer (Kruithof *et al.*, 1986a).
3. PAI-3: 'n u-PA wat eerste in urien aangetoon is (Stump *et al.*, 1986) maar ook in bloed teenwoordig is (Heeb *et al.*, 1987; Stump *et al.*, 1986).
4. Protease-neksien: inhiveer trombien, plasmien en tripsien wat deur gekweekte fibroblaste geproduseer is en vorm SDS-stabiele komplekse met urokinase *in vitro* (Scott & Baker, 1983).

Om die fisiologiese belang en relatiewe invloed van elk van die PAI-molekule te bepaal moet die konsentrasie van die inhiveerder, die snelheidskonstante en die vlakke van protease-proteaseinhiveerderkomplekse in ag geneem word (Loskutoff *et al.*, 1989). Wanneer dit gedoen word is daar net twee PAI-molekule wat van fisiologiese belang is naamlik PAI-1 en PAI-2.

### **Struktuur-funksie verwantskap**

PAI-1 is 'n lid van die serienprotease-inhiveerder superfamilie en toon 30% homologie met beide  $\alpha_1$ -proteïenase-inhiveerder ( $\alpha_1$ -antitripsien) en ATIII (Loskutoff *et al.*, 1989). Die funksies van hierdie familie het te doen met die beheer van die hoof-protease sisteme in die liggaam soos die fibrinolitiese-, stollings- en komplementkaskades (Carrell & Travis, 1985). Verskeie lede van die serpienfamilie is reeds breedvoerig bestudeer (Carrell & Travis, 1985; Travis *et al.*, 1985) en die homologieë het 'n beter begrip van die PAI-molekuul tot gevolg gehad.

Die totale nukleotied-volgorde van PAI-1 is bekend (Andreasen *et al.*, 1986; Ny *et al.*, 1986). Die proteïen bestaan uit 379 aminosure en het 'n valien by die NH<sub>2</sub>-terminaal (Ny *et al.*, 1986). Hier kan egter 'n mate van heterogeniteit bestaan (Andreasen *et al.*, 1986). Daar is drie potensiële N-gebonde glikosileringsplekke. PAI-1 bevat geen sisteïen-residue nie, en dit mag verklaar waarom dit nie deur chemiese reduksie geaktiveer word nie (Van Mourik *et al.*, 1984). Die afwesigheid van stabiliserende disulfiedbande suggereer dat PAI-1 saam met sy omgewing verander. Dit verklaar moontlik waarom PAI-1 so onstabiel in oplossing is, asook

die vermoë besit om te verander na 'n aktiewe vorm na behandeling met denaturante (Loskutoff *et al.*, 1989).

Die serpiene het 'n "strained loop" wat die reaktiewe setel bevat en dien as pseudo-substraat vir die serien-protease. Die reaktiewe setel is by die COOH-terminaal geleë. Die serienresidu in die reaktiewe setel van die protease reageer met die P1 residu in die reaktiewe setel van die inhibeerder, en vorm 'n kovalente binding tussen die twee (Laskowski & Kato, 1980). Die struktuur van die reaktiewe setel bepaal meestal die teikenspesifisiteit. Oor die algemeen stem die P1 residu in die reaktiewe setel ooreen met die COOH-terminaal-residu van die polipeptiedband wat normaalweg deur die protease gebreek word. Die reaktiewe setel vir PAI-1 is Arg<sub>358</sub>/Met<sub>359</sub> (P1-P1'). Hierdie plasminogeenaktiveerders breek die binding tussen Arg<sub>560</sub> en Val<sub>561</sub> en verander plasminogeen na plasmien. PAI-1 kan dus as 'n arginien-serpien geklassifiseer word (Loskutoff *et al.*, 1989).

PAI-1 inhibeer tPA en uPA (Juhan-Vague *et al.*, 1984; Kruithof *et al.*, 1984) en in sy natuurlike vorm inhibeer dit die enkelketting-vorm van tPA met 'n tweede orde snelheidskonstante van ongeveer  $3,5 \times 10^7 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$  (Colucci *et al.*, 1986; Hekman & Loskutoff, 1988a; Kruithof *et al.*, 1984). Laasgenoemde is 10 000 keer hoër as dié van PAI-2, PAI-3 en protease-neksien met tPA (Hekman & Loskutoff, 1988a). Ongeveer 70% van alle tPA in plasma is in kompleks met PAI-1 (Hanss & Collen, 1987). In teenstelling hiermee is komplekse tussen PAI-2 en tPA nog nie gevind nie, selfs nie tydens swangerskap nie, wanneer PAI-2 in groter konsentrasies as PAI-1 mag voorkom (Kruithof *et al.*, 1987b). PAI-2 is waarskynlik 'n uPA-inhibeerder (tweede orde snelheidskonstante  $9 \times 10^5 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) en beheer dus sellulêre uPA-molekule (Astedt *et al.*, 1987). Hierdie bewyse ondersteun die vermoede dat PAI-1 die primêre inhibeerder van tPA is (Loskutoff *et al.*, 1989).

Vroeë inligting oor die biochemie van PAI-1 is verkry uit studies op PAI-1 wat deur beesaorta-endoteelselle geproduseer is (Van Mourik *et al.*, 1984). Hierdie studies het getoon dat PAI-1 'n enkelketting polipeptied is met 'n Mr van ongeveer 50 000. Dit is as vreemd beskou dat PAI-1 nog inhibitoriese-aktiwiteit na SDS-poliakrielamied-gel-elektroforese (SDS-PAGE) getoon het (Erickson *et al.*, 1985b; Sprengers & Kluit, 1987; Travis *et al.*, 1985; van Mourik *et al.*, 1984). Die gesuiwerde inhibeerder is 'n glikoproteïen met 'n iso-elektriese pH van tussen 4.5 en 5.0. PAI-1 inhibeer beide tPA en uPA deur die vorming van SDS-weerstandbiedende 1:1 stoigiometriese komplekse (Wiman *et al.*, 1984). Kinetiese studies dui op 'n dissosiasiekonstante met tPA van minder as  $1 \times 10^{-12} \text{M}$  (Colucci *et al.*, 1986). Gesuiwerde bees-PAI-1 inhibeer beide plasmien (tweede orde snelheidskonstante  $6.6 \times 10^5 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) en tripsien (tweede orde snelheidskonstante  $7 \times 10^6 / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) op 'n dosis- en tydafhanklike wyse (Hekman & Loskutoff, 1988b).

Gesuiwerde PAI-molekule het die ongewone eienskap dat dit metionien in die reaktiewe setels bevat (Andreasen *et al.*, 1986; Ny *et al.*, 1986) en baie sensitief is vir oksidering (Lawrence & Loskutoff, 1986). Dit is dus moontlik dat PAI-1 plaaslik beheer kan word deur oksidante wat vrygestel word deur geaktiveerde inflammatoriese selle (Travis *et al.*, 1985).

'n Tweede ongewone eienskap van PAI-1 is dat dit primêr in 'n onaktiewe of latente vorm in 'n gekondisioneerde medium voorkom (Sprengers & Kluft, 1987). Daar is gevind dat PAI-1 wat deur SDS-PAGE gesuiwer is, tPA en uPA inhibeer (van Mourik *et al.*, 1984), maar dat die medium waarmee begin is geen of min PAI-aktiwiteit gehad het nie (Hekman & Loskutoff, 1985). SDS-PAGE het dus die latente PAI-1 na aktiewe PAI-1 verander (Hekman & Loskutoff, 1985). Daar is ook gevind dat dié twee vorme verskillende vorme van dieselfde molekule is (Sprengers *et al.*, 1986). Dit is ook aangetoon dat gesuiwerde PAI-1 spontaan na die latente vorm toe verander (Hekman & Loskutoff, 1988b). In teenstelling met die situasie in 'n gekondisioneerde medium is sowat 80% van die PAI-1 in selekstrakte in die aktiewe vorm (Levin & Santell, 1987a). Hierdie aktiewe vorm verander na die latente vorm wanneer dit by 37°C geïnkubeer word (Hekman & Loskutoff, 1988b; Kooistra *et al.*, 1986; Levin & Santell, 1987a), wat dus aandui dat dit in die aktiewe vorm deur die selle gesekreter word (Kooistra *et al.*, 1986).

Daar is verskillende moontlike meganismes waardeur latente PAI-1 weer geaktiveer kan word. Denaturante, onder andere KSCN, guanidien-HCl en ureum, verander latente PAI-1 na aktiewe PAI-1. Hierdie stowwe verander die sekondêre proteïenstruktuur. Dit is dus waarskynlik dat die aktivering gepaardgaan met 'n konformasieverandering (Loskutoff *et al.*, 1989). Aktiewe en latente PAI-1 migreer verskillend tydens gelfiltrasie (Hekman & Loskutoff, 1985) en ultrasentrifugering (Levin & Santell, 1987a). Dit dui dan ook op 'n konformasieverandering (Loskutoff *et al.*, 1989). Daar moet nog bepaal word of daar stowwe *in vivo* bestaan wat hierdie verandering teweeg kan bring. Die feit dat negatief-gelaaide fosfolipiede latente PAI-1 stimuleer (Lambers *et al.*, 1987), laat die moontlikheid ontstaan dat die aktivering op die selmembraan kan plaasvind (Loskutoff *et al.*, 1989).

### **Selle waarin PAI-1 geproduseer word**

PAI-1 kom veral in die lewer en die milt voor (Simpson *et al.*, 1991), maar is reeds in 'n wye verskeidenheid ander selle aangetref, insluitende endoteelselle, bloedplaatjies, megakariosiete, polimorfe neutrofiele, makrofages, mesangialeselle (Peraldi *et al.*, 1992; Simpson *et al.*, 1991), granuloseselle (Ny *et al.*, 1985) en mesoteelselle (Rheinwald *et al.*, 1987). PAI-1 kom egter nie in limfosiete voor nie (Simpson *et al.*, 1991). *In vitro* kan verskeie selle gestimuleer word om PAI-1 te

produseer, soos menslike endoteelselle (Bartha *et al.*, 1991), gladdespierselle (Reilly & McFall, 1991), fibroblaste (Lund *et al.*, 1987), hepatoomselle (Fujii *et al.*, 1989) en andere. Verdere studies is nodig om die *in vivo* produksie te bepaal (Loskutoff *et al.*, 1989).

### **PAI-1 in die ekstrasellulêre matriks (ESM)**

Die ESM is betrokke by die prosesse van weefsêlherstel, selvashegting en -migrasie (Watt, 1986). Erickson *et al.* het reeds in 1984 PAI-1 in selle buite die vaskulêre stelsel aangetoon. Aktiewe PAI-1 is teenwoordig in die ESM van weefselkulture van menslike endoteelselle (Levin & Santell, 1987b). Die aktiewe PAI-1 se funksie het hier waarskynlik te doen met beskerming van komponente in die ESM teen PA-gemedieerde afbraak (Loskutoff *et al.*, 1989). Die ESM dien as "stoor" vir aktiewe PAI-1 en bevat byna alle aktiewe PAI-1 (Sakata *et al.*, 1988).

### **Regulering van PAI-1**

#### **Regulering van PAI-aktiwiteit**

PAI-1 word met die ESM van verskeie selle geassosieer onder andere endoteelselle (Levin & Santell, 1987b; Mimuro *et al.*, 1987), fibrosarkomaselle (Pöllänen *et al.*, 1987), fibroblaste (Laiho *et al.*, 1986), gladdespierselle (Knudsen *et al.*, 1987) en mesoteelselle (Rheinwald *et al.*, 1987). PAI-1 in 'n groeimedium is relatief onstabiel met 'n halfleeftyd van 3 ure, terwyl PAI-1 in die ESM oor 'n tydperk van 24-uur by 37°C aktief en stabiel is (Mimuro *et al.*, 1987). Dit het die vermoede laat ontstaan dat PAI-1 gestabiliseer word teen inaktivering deur sekere proteïene in die ESM. Plasma (Wiman *et al.*, 1988a) en serum (Erickson *et al.*, 1986) is gefraksioneer en die meerderheid aktiewe PAI-1 het gemigreer met 'n oënskynlike  $M_r$  van 250 000. Latente PAI-1 is gemeet met 'n verwagte  $M_r$  van 50 000 (Erickson *et al.*, 1986; Wiman *et al.*, 1988a). Die molekule wat PAI-1 dus bind, het 'n  $M_r$  van 200 000 en bind slegs aktiewe en nie latente PAI-1 nie (Declerck *et al.*, 1988; Wiman *et al.*, 1988a). Hierdie PAI-bindende proteïen is geïdentifiseer as 'n multimeer van proteïen-S of vitronektien (Declerck *et al.*, 1988; Wiman *et al.*, 1988b) en het 'n stabiliserende effek op PAI-1 (Declerck *et al.*, 1988).

*In vitro* studies toon dat PAI-1 deur 'n wye reeks stowwe geïnaktiveer word. Dit word geïnaktiveer deur chloramien-T en ander oksidante (Carrell & Travis, 1985). PAI-1 is sensitief vir oksidante. Oksidante wat deur geïntlammeerde selle vrygestel word mag ook verantwoordelik wees vir die inaktivering van PAI-1 (Weiss & Regiani, 1984), en so verantwoordelik wees vir 'n kaskade van weefselvernietigende proteases. 'n Voorbeeld hiervan is die hoë plasmienvlakke wat gevind word in reumatoïede sinoviale vloeistof (Inman & Harpel, 1986).

Spesifieke proteases vorm onaktiewe komplekse met PAI-1. PAI-1 word ook geïnaktiveer deur proteases wat net sekere peptiedbande in die reaktiewe setel breek, sonder om komplekse te vorm (Travis *et al.*, 1985). Proteïen-C is 'n vitamien K-afhanklike plasmaprotease simogeen wat na aktivering deur trombien antikoagulant- (Kisiel *et al.*, 1977; Marlar *et al.*, 1982) en profibrinolitiese aktiwiteit (Comp & Esmon, 1981) het. Die byvoeging van aktiewe proteïen-C by endoteelselkulture lei tot 'n verandering in die fibrinolitiese balans (Van Hinsbergh *et al.*, 1985) en veroorsaak tot 'n skerp verhoging in netto fibrinolitiese aktiwiteit (Sakata *et al.*, 1985; Sakata *et al.*, 1986). Inaktivering van PAI-1 deur aktiewe proteïen-C behels die vorming van 'n onaktiewe kompleks (De Fouw *et al.*, 1987; Sakata *et al.*, 1985). Daar is min data oor die *in vivo* belang van hierdie interaksie (Loskutoff *et al.*, 1989). Die feit dat aktiewe proteïen-C in vergelyking met PAI-1, in relatief hoë konsentrasies voorkom (Heeb *et al.*, 1987; Suzuki *et al.*, 1983), en dat aktiewe proteïen-C 'n relatief lae affiniteit vir PAI-1 het, maak dit onwaarskynlik dat die reaksie 'n rol sal speel onder die meeste omstandighede (Loskutoff *et al.*, 1989). Trombien speel ook 'n moontlike rol in die regulering van PAI-1. Trombien verlaag PAI-aktiwiteit in endoteel-selkulture (De Fouw *et al.*, 1987; Levin, 1986; Van Hinsbergh *et al.*, 1985; Van Hinsbergh *et al.*, 1987). Trombien splyt die COOH-terminaalfragment van PAI-1 af en 'n kleiner molekule word dus gevorm sonder dat daar enige PAI-1-trombienkomplekse gevorm word (De Fouw *et al.*, 1987).

Die rol wat heparien in die regulering van PAI-aktiwiteit speel, is nog grootliks onbekend (Ehrlich *et al.*, 1991). Daar is aanduidings dat heparien PAI-aktiwiteit verlaag deur die teikenprotease-spesifiteit van PAI-1 vir trombien te verhoog (Ehrlich *et al.*, 1991). Die fisiologiese belang van hierdie reaksie is nog nie duidelik nie. Dit mag wees dat die reaksie in 'n omgewing plaasvind wat nie toeganklik vir antitrombien III is nie, en dus so trombien en PAI-1 inaktiveer. Dit mag ook te doen hê met die lokalisering van PAI-1 in 'n sekere omgewing (Ehrlich *et al.*, 1991).

Alhoewel al die bogenoemde molekule 'n rol mag speel, is die hoofregulering van PAI-1 waarskynlik gesetel in die spontane inaktivering (Hekman & Loskutoff, 1988b; Levin & Santell, 1987a; Mimuro *et al.*, 1987; Sprengers & Kluft 1987) en die vinnige verwydering daarvan uit die bloed (Emeis, 1985).

Die latente vorm van PAI-1 is relatief stabiel in oplossing (Hekman & Loskutoff, 1988b), en ook relatief onsensitief vir inaktivering deur hoë- en lae pH (Hekman & Loskutoff, 1988b), plasminogeenaktiveerders, aktiewe proteïen-C (Sakata *et al.*, 1986) en trombien (Levin, 1986; Van Hinsbergh *et al.*, 1987). Alhoewel daar geen bekende aktiveerders vir latente PAI-1 in die liggaam bekend is nie, is daar wel gerapporteer dat latente PAI-1 na aktiewe PAI-1 verander word deur negatief-

gelaaiide fosfolipiede (Lambers *et al.*, 1987). Dit is dus moontlik dat negatief-gelaaiide selmembrane (soos wat ontstaan as plaatjies geaktiveer word) (Zwaal, 1978), latente PAI-1 kan aktiveer. Die ESM is 'n ander potensiële bron van molekule wat latente PAI-1 aktiveer omdat die meerderheid PAI-1 molekule in die ESM aktief is (Mimuro *et al.*, 1987). Alhoewel latente PAI-1 aan die ESM bind (Mimuro *et al.*, 1987), bind dit swak in vergelyking met die aktiewe vorm (Mimuro & Loskutoff, 1987) en word dit nie deur die binding geaktiveer nie (Mimuro *et al.*, 1987). Dit lyk dus asof die ESM nie 'n aktiveerder van latente PAI-1 bevat nie (Loskutoff *et al.*, 1989).

### **Regulering van PAI-biosintese**

Verskeie stowwe is reeds aangetoon wat PAI-sintese reguleer. Die eerste van hierdie stowwe is endotoksien (Colucci *et al.*, 1985) of lipopolisakkariiede (LPS), 'n komponent wat uit die selwande van gram-negatiewe bakterieë geïsoleer is (Morrison & Ulevitch, 1978). LPS verhoog die PAI-aktiwiteit in endoteelselkulture as gevolg van 'n verhoging in die hoeveelheid PAI-1 (Bevilacqua *et al.*, 1986a), en is waarskynlik die gevolg van verhoogde PAI-1-geen-uitdrukking (Emeis & Kooistra, 1986).

Transformerende groeifaktor-beta (TGF $\beta$ ) is 'n polipeptied-groeimoduleerder aanwesig in die  $\alpha$ -granules van plaatjies (Sporn *et al.*, 1987), en word vrygestel na aktivering van plaatjies deur trombien (Assoian & Sporn, 1986). TGF $\beta$  stimuleer die sintese van ESM-komponente (Ignatz & Massaguè, 1986; Roberts *et al.*, 1986) asook PAI-1 in bees-gladdespierselle (Reilly & McFall, 1991) en PAI-1 mRNA in fibroblaste (Lund *et al.*, 1987) en hepatoomselle (Fujii *et al.*, 1989).

Basiese-fibroblast- groeifaktor (bFGF) is 'n ander groeifaktor wat 'n rol speel by PAI-sintese. Dit besit angiogeniese eienskappe en stimuleer PAI-produksie in endoteelselle uit kapillêre vate van beeste (Saksela *et al.*, 1987).

Epidermale-groeifaktor, plaatjie-afgeleide-groeifaktor (PDGF) en endoteelsel-groeifaktor (EGF) het nie PAI-sintese in bees-endoteelselle beïnvloed nie (Mimuro & Loskutoff, 1987). Reilly en McFall (1991) vind wel 'n verhoging in PAI-sintese in bees-gladdespierselle na stimulering met PDGF. In endoteelselle uit menslike naelstringvenes (HUVEC), het granulosisiet-makrofage kolonie-stimulerende faktor (GM-CSF) en granulosisiet kolonie-stimulerende faktor (G-CSF) ook geen invloed op PAI-sintese gehad nie (Yong *et al.*, 1991).

Sitokiniene wat uit inflammatoriese selle vrygestel word mag PAI-sintese ook moontlik beïnvloed. IL-1 stimuleer die sintese van PAI-1 in kulture van HUVEC (Bevilacqua *et al.*, 1986a; Emeis & Kooistra, 1986; Nachman *et al.*, 1986; Yong *et al.*, 1991). IL-1 onderdruk ook tPA-produksie (Bevilacqua *et al.*, 1986a) en het

dus 'n invloed op beide tPA en PAI-1. In artikulêre kraakbeenweefsel lyk die situasie anders deurdat IL-1 tPA stimuleer en PAI-1 inhibeer. So word die sintese van metalloproteases en vorming van plasmien gestimuleer, en die afbraak van kraakbeen bevorder (Martel-Pelletier *et al.*, 1991). Hierdie reaksie is waarskynlik veral van belang in die patogene van gewrigsiektes.

TNF $\alpha$  (200 E/mL) verhoog PAI-1 mRNA en PAI-1 vyf keer in menslike endoteelselle (Schleef *et al.*, 1988), en in HUVEC verhoog dit PAI-vlakke met 241% (Yong *et al.*, 1991). Die grootte van die reaksie op TNF $\alpha$ , en die feit dat TNF $\alpha$  tPA-sintese inhibeer (Schleef *et al.*, 1988), dui op die sterk antifibrinolitiese eienskappe van hierdie sitokinien in hierdie sisteem (Loskutoff *et al.*, 1989). Oor die inhibering van tPA deur TNF $\alpha$  is daar nie eenstemmigheid nie. Van Hinsbergh *et al.* (1990) vind dat TNF $\alpha$ -infusie in kankerpatiënte PAI-1 sowel as tPA-sintese verhoog.

Die induksie van prokoagulant-aktiwiteit deur inflammatoriese mediereers soos IL-1 en TNF $\alpha$  (Bevilacqua *et al.*, 1986b; Nawroth & Stern, 1986), mag ook lei tot trombienvorming (Loskutoff *et al.*, 1989). Konsentrasies van 1.0 en 0.1 E/mL trombien by HUVEC (Gelehrter & Szyner-Laszuk, 1986) en menslike voorhuid-mikrovaskulêre endoteelselle (Van Hinsbergh *et al.*, 1987) onderskeidelik, het 'n verhoging in PAI-1 tot gevolg gehad. Daarenteen was daar geen verhoging in PAI-aktiwiteit met dosisse hoër as 1.0 E/mL, maar wel 'n verhoging in PAI-1 antigeen (Van Hinsbergh *et al.*, 1987; Yong *et al.*, 1991), wat aandui dat trombien die sintese van PAI-1 stimuleer, en ook PAI-1 splyt en inaktiveer by konsentrasies hoër as 1.0 E/mL (De Fouw *et al.*, 1987).

Daar is aanduidings dat hormone PAI-sintese mag beheer. Steroïede stimuleer PAI-sintese in verskeie sisteme soos rot-hepatoomselle (Loskutoff *et al.*, 1986), menslike borskankerselle (Busso *et al.*, 1987), en gekweekte menslike dermale fibroblaste (Rheinwald *et al.*, 1987). In HT 1080 fibrosarkomaselle het dexametasoon die produksie van PAI-1 en PAI-1 mRNA verhoog (Andreasen *et al.*, 1987). Geen steroïedeffekte is in endoteelselkulture gerapporteer nie (Loskutoff *et al.*, 1989).

Tydens die skeuring van die follikel van Graaf van die ovarium met ovulasie, is daar verhoogde fibrinolitiese aktiwiteit (Beers, 1975; Strickland & Beers, 1976). Gonadotropiene het profibrinolitiese eienskappe as dit by gekweekte rot-ovarium granulosaselle gevoeg word (Ny *et al.*, 1985; Reich *et al.*, 1986). Die verhoging in fibrinolitiese aktiwiteit spruit uit 'n verhoging in die uitdrukking van tPA (Ny *et al.*, 1987; O'Connell *et al.*, 1987) en 'n gepaardgaande verlaging in PAI-aktiwiteit (Ny *et al.*, 1985). Dit is egter nog nie duidelik of dit die gevolg is van verlaagde PAI-sintese of 'n verhoging in kompleksvorming met tPA nie (Loskutoff *et al.*, 1989).

tPA veroorsaak verhoogde PAI-sintese in HepG2 en HUVEC selle (Fujii *et al.*, 1990).

Lp(a), 'n sterk onafhanklike risikofaktor vir KHS en MI (Kostner *et al.*, 1981), toon 'n sterk verband met PAI-vlakke in pasiënte met KHS en beroerte (Jiao *et al.*, 1992). Hierdie verband is nog nie bo alle twyfel in gesonde persone vasgestel nie (Sundell *et al.*, 1989b). Lp(a) verhoog ook PAI-sintese in endoteelselkulture (Etingin *et al.*, 1991).

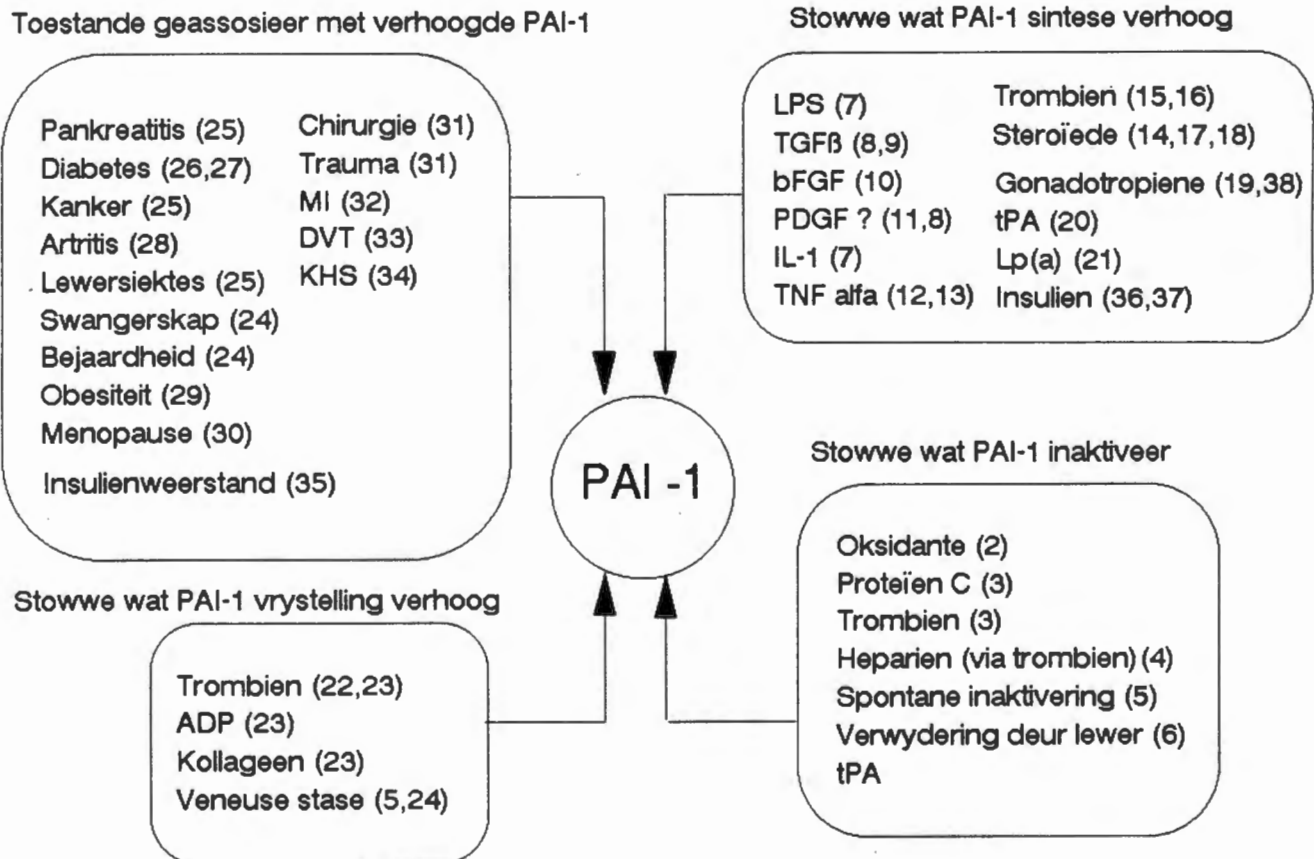
### **Regulering van PAI-vrystelling**

PAI-1 is reeds gemeet in ekstrakte van gewaste, gelgefiltreerde menslike plaatjies (Booth *et al.*, 1985; Erickson *et al.*, 1984; Kruithof *et al.*, 1986b; Sprengers *et al.*, 1986b), en kan daaruit vrygestel word deur fisiologiese konsentrasies trombien. PAI-1 word aangetref in die  $\alpha$ -granules van die plaatjies (Erickson *et al.*, 1984), en word ook vrygestel in respons op ADP en kollageen (Booth *et al.*, 1985; Kruithof *et al.*, 1986b). Dit lyk dus asof PAI-1 in die plaatjies gestoor en vrygestel word soos dit benodig word (Loskutoff *et al.*, 1989). Die vrystelling van PAI-1 uit plaatjies tydens plaatjie-aggregasie en vaskulêre skade mag fibrien-neerlegging bevorder en plasmievorming beperk (Loskutoff *et al.*, 1989). Dit beskerm dus die gevormde klont teen voortydige afbraak (Erickson *et al.*, 1984).

Die verhoogde vrystelling van PAI-1 uit selle wat met trombien (Gelehrter & Szyner-Laszuk, 1986) of IL-1 en LPS (Emeis & Kooistra, 1986) behandel is, word geheel en al geblokkeer deur inhibeerders van proteïensintese, wat beteken dat hierdie stowwe se meganisme van werking nie is om gebergde PAI-1 vry te stel nie (Loskutoff *et al.*, 1989).

Verhoogde vlakke van PAI-1-Ag word aangetref na veneuse afsluiting (Kruithof *et al.*, 1987a; Urden *et al.*, 1987). Hierdie verskynsel kan nie slegs op grond van hemokonsentring of verhoogde vrystelling uit plaatjies verklaar word nie. Dit is dus moontlik dat veneuse afsluiting PAI-1 uit intrasellulêre poele of uit die ESM van die vaskulêre bed vrystel (Loskutoff *et al.*, 1989).

Die regulering van PAI-1 word in figuur 2.3 opgesom.



1. DeClerck *et al.*, 1984
2. Carrell & Travis, 1985
3. de Fouw *et al.*, 1987
4. Ehrlich *et al.*, 1991
5. Levin & Santell, 1987a
6. Emeis, 1985
7. Emeis & Kooistra, 1986
8. Reilly & McFall, 1991
9. Fujii *et al.*, 1989
10. Saksela *et al.*, 1987
11. Mimuro & Loskutoff, 1987
12. Schleef *et al.*, 1988
13. Yong *et al.*, 1991
14. Loskutoff *et al.*, 1986
15. Gelehrter & Szyncer-Laszuk, 1986
16. van Hinsbergh *et al.*, 1987
17. Busso *et al.*, 1987
18. Andreasen *et al.*, 1987
19. Ny *et al.*, 1985
20. Fujii *et al.*, 1990
21. Etingin *et al.*, 1991
22. Erickson *et al.*, 1984
23. Kruithof *et al.*, 1986b
24. Kruithof, 1987a
25. Juhan-Vague *et al.*, 1984
26. Auwerx *et al.*, 1988
27. Juhan-Vague *et al.*, 1989
28. Mussoni *et al.*, 1990
29. Vague *et al.*, 1987
30. Heinrich *et al.*, 1992
31. Kluff, 1985
32. Almér & Öhlin, 1987
33. Paramo *et al.*, 1985a
34. Rydzewski *et al.*, 1990
35. Vague *et al.*, 1986
36. Alessi *et al.*, 1988
37. Schneider & Sobel, 1991

Figuur 2.3 Die regulering van PAI-1

## Kliniese aspekte van PAI-1

### Probleme met die meting van PAI-1

tPA-aktiwiteit word bi-fasies in plasma geïnhibeer (Juhan-Vague *et al.*, 1984; Kruithof *et al.*, 1984; Sprengers, 1986; Verheijen *et al.*, 1984; Wiman *et al.*, 1984). Die eerste fase is vinnig en word veroorsaak deur PAI-1 (Erickson *et al.*, 1985b; Kruithof *et al.*, 1984). Die tweede, stadiger fase is die gevolg van  $\alpha_2$ -antiplasmin se werking (Korninger & Collen, 1981; Kruithof *et al.*, 1984). Met langer inkubasietye bind C1-inhibeerder aan tPA en inhibeer tPA-aktiwiteit (Kruithof *et al.*, 1984). Die probleem met aktiwiteitsmetings om PAI-1 te meet is dat dit PAI-1 self, sowel as ander inhibeerders kan meet (Loskutoff *et al.*, 1989). Bogenoemde probleme kan omseil word deur plasmamonsers in 'n lae pH buffer te versamel, die metingstyd soveel as moontlik te verkort, asook om die aard van die tPA-inhibeerder-kompleks te bepaal (Chmielewska *et al.*, 1983; Kruithof *et al.*, 1984; Verheijen *et al.*, 1984; Wiman *et al.*, 1984). Deur gebruik te maak van enkelketting-tPA in plaas van dubbelketting-tPA of uPA, sal die spesifisiteit van die metings van PAI-1 verhoog word (Schleef *et al.*, 1987). Normale waardes wissel geweldig, van onmeetbaar tot 50 E/mL (Chmielewska *et al.*, 1983; Juhan-Vague *et al.*, 1984; Kruithof *et al.*, 1987a; Urden *et al.*, 1987). Immunologiese metodes meet meer sensitief, en normale waardes is tussen 5 en 20 ng/mL (Kruithof *et al.*, 1987a; Urden *et al.*, 1987).

### Verhoogde vlakke van PAI-1

Verhoogde PAI-aktiwiteitsvlakke is in verskeie kliniese toestande beskryf waaronder pankreatitis (Juhan-Vague *et al.*, 1984), diabetes mellitus (Auwerx *et al.*, 1988; Juhan-Vague *et al.*, 1989), kwaadaardigheid (Juhan-Vague *et al.*, 1984; Sawaya *et al.*, 1991; Sprengers, 1986), chroniese artritis in kinders (Mussoni *et al.*, 1990) en lewersiektes (Juhan-Vague *et al.*, 1984). 'n Mens sou verwag om veranderde vlakke tydens lewersiekte te sien omdat PAI-1 deur die lewer verwyder word (Colucci *et al.*, 1985; Emeis, 1985), en moontlik ook deur hepatosiete geproduseer word (Risberg *et al.*, 1987; Sprengers *et al.*, 1985). PAI-vlakke styg reëlmatig met ouderdom (Stegnar & Pentek, 1992; Wiczorek *et al.*, 1992) en hoë vlakke word ook in bejaardes aangetref (Aillaud *et al.*, 1986; Kruithof *et al.*, 1987a). Verhoogde vlakke is ook gerapporteer in mense met obesiteit (Vague, 1987), na die menopouse in vroue (Heinrich *et al.*, 1992), na chirurgie (Aillaud *et al.*, 1985; Klufft *et al.*, 1985), erge trauma (Klufft *et al.*, 1985; Sprengers & Klufft, 1987) en in respons op MI (Almér & Öhlin, 1987), tydens DVT (Paramo *et al.*, 1985a) en KHS (Rydzewski *et al.*, 1990).

PAI-1 is 'n akute-fase reaktant (Juhan-Vague *et al.*, 1984; Klufft *et al.*, 1985), en dit lyk asof die verhoging daarvan na MI parallel met die verhoging in kortisol is (Aillaud *et al.*, 1985). Glukokortikoïede stimuleer PAI-sintese in gekweekte hepatoomselle (Coleman *et al.*, 1982; Loskutoff *et al.*, 1986), en dus kan die verhoging in PAI-1 deels die gevolg wees van die werking van kortisol op hepatosiete (Loskutoff *et al.*, 1989). Om die model te toets is adrenokortikotrofiese hormoon aan pasiënte toegedien. Kortisolvlakke het gestyg tot vlakke soortgelyk aan dié wat na chirurgie aangetref word, maar PAI-1 het nie gestyg nie. Dit beteken dat kortisol self nie die molekule is wat PAI-produksie tydens die akute-fase stimuleer nie (Aillaud *et al.*, 1985). Studies met selkulture dui daarop dat sitokiniene PAI-produksie tydens die akute-fase mag stimuleer. IL-1 en TNF $\alpha$  stimuleer beide die produksie van PAI-1 in endoteelselle (Bevilacqua *et al.*, 1986b; Emeis & Kooistra, 1986; Nachman *et al.*, 1986; Schleef *et al.*, 1988;). In rotte verhoog IL-1 PAI-aktiwiteit nadat dit ingespuut is (Emeis & Kooistra, 1986).

Daar is twee toestande waar PAI-1 ver bo normaal verhoog, naamlik swangerskap (PAI-aktiwiteit 29 E/mL en PAI-Ag 144ng/mL (Kruithof *et al.*, 1987b)) en as gevolg van gram-negatiewe infeksie (PAI-aktiwiteit 14 E/mL (Colucci *et al.*, 1985)). PAI-1 vertoon 'n prominente diurnale variasie in gesonde- en obese proefpersone, maar nie in swanger vroue of pasiënte met inflammatoriese sindroom nie (Juhan-Vague *et al.*, 1992).

### **Korrelasies tussen PAI-aktiwiteit en ander veranderlikes**

Korrelasies tussen PAI-1 en ander veranderlikes is sterker vir vroue as vir mans (Huisveld *et al.*, 1990). Gerapporteerde korrelasies word in tabel 2.1 opgesom.

Tabel 2.1 Korrelasies tussen PAI-aktiwiteit en ander veranderlikes

Veranderlike	r-waarde	Groepbeskrywing	Outeur
EFA	-0.48	62 diabetes mellitus pasiënte	Auwerx <i>et al.</i> , 1988
	-0.61	35 gesonde proefpersone (sommige oorgewig)	Vague <i>et al.</i> , 1986
tPA-aktiwiteit	-0.79	1000 ewekansig gekose mans	Eliasson <i>et al.</i> , 1992
tPA-Ag	0.43	1000 ewekansig gekose mans	Eliasson <i>et al.</i> , 1992
	0.58	62 diabetes mellitus pasiënte	Auwerx <i>et al.</i> , 1988
PAI-Ag	0.40	20 kontrole- en 15 obese proefpersone, 15 pasiënte met infeksie en 13 swanger vroue	Juhan-Vague <i>et al.</i> , 1992
	0.73	10 matig oorgewigproefpersone	Sundell <i>et al.</i> , 1989a
	0.49	27 obese volwassenes	Mehrabian <i>et al.</i> , 1990
	0.71	13 gesonde proefpersone	Marckmann <i>et al.</i> , 1992a
	0.61	39 gesonde proefpersone	Kruithof <i>et al.</i> , 1987a
	0.90	20 kontrole- en 15 obese proefpersone, 15 pasiënte met infeksie en 13 swanger vroue	Juhan-Vague <i>et al.</i> , 1992
	0.88	11 oorgewig mans	Huisveld <i>et al.</i> , 1990
	0.59	27 obese volwassenes	Mehrabian <i>et al.</i> , 1990
	0.60	26 KHS-pasiënte + 15 gesonde kontroles	Mehta <i>et al.</i> , 1987
	0.27	2662 vrywillige proefpersone	Siegert <i>et al.</i> , 1992
TG	0.57	71 pasiënte 3 jaar na MI	Hamsten <i>et al.</i> , 1985
	0.38	50 gesonde proefpersone	Hamsten <i>et al.</i> , 1985
	0.40	120 DVT-pasiënte	Juhan-Vague <i>et al.</i> , 1987
	0.36	58 DVT-pasiënte + 51 gesonde kontroles	Stegnar <i>et al.</i> , 1991
	NR	191 gesonde proefpersone	Stegnar & Pentek, 1992
	0.60	38 tipe II-diabete + 20 gesonde kontroles	Juhan-Vague <i>et al.</i> , 1989
	0.52	35 gesonde proefpersone (sommige oorgewig)	Vague <i>et al.</i> , 1986
	0.62	62 diabetes mellitus pasiënte	Auwerx <i>et al.</i> , 1988
LMI	0.66	35 gesonde proefpersone (party oorgewig)	Vague <i>et al.</i> , 1986
	0.32	38 tipe II-diabete + 20 gesonde kontroles	Juhan-Vague <i>et al.</i> , 1989
	0.38	2662 vrywillige proefpersone	Siegert <i>et al.</i> , 1992
	0.31	58 DVT-pasiënte + 51 gesonde kontroles	Stegnar <i>et al.</i> , 1991
	0.62	30 sedentêre proefpersone	Gris <i>et al.</i> , 1990
	0.33	38 tipe II-diabete + 20 gesonde kontroles	Juhan-Vague <i>et al.</i> , 1989
Apo B	0.37	58 DVT-pasiënte + 51 gesonde kontroles	Stegnar <i>et al.</i> , 1991
Bloedglukose	0.29	62 diabetes mellitus pasiënte	Auwerx <i>et al.</i> , 1988
Sistoliese BD	0.42	62 diabetes mellitus pasiënte	Auwerx <i>et al.</i> , 1988
Diastoliese BD	0.32	62 diabetes mellitus pasiënte	Auwerx <i>et al.</i> , 1988
	0.46	26 KHS-pasiënte + 15 gesonde kontroles	Mehta <i>et al.</i> , 1987
Ouderdom	0.64	30 sedentêre proefpersone	Gris <i>et al.</i> , 1990
Oormassa	0.68	10 matig oorgewig proefpersone	Sundell <i>et al.</i> , 1989a
Massa	0.86	30 sedentêre proefpersone	Gris <i>et al.</i> , 1990
FVIIa			

Lys van afkortings in tabel 2.1

EFA	Euglobulien-fibrinolitiese aktiwiteit
tPA-Ag	tPA-antigeen
PAI-Ag	PAI-antigeen
TG	Trigliseriede
LMI	Liggaamsmassa-indeks
MI	Miokardiale infarksie
DVT	Trombose van die diep venes
NR	Nie gerapporteer nie

## Verlaagde vlakke van PAI-1

Daar is gevalle waar verlaagde plasma-PAI-vlakke voorgekom het. Die eerste was 'n pasiënt met outoteenliggame teen PAI-1 (Francis *et al.*, 1986). Ander pasiënte het lae PAI-aktiwiteit, hoë tPA-aktiwiteit maar normale PAI-Ag (Dieval *et al.*, 1991; Pillemer *et al.*, 1987), en dus 'n kwalitatiewe fout met PAI-1 self. Pasiënte het versnelde fibrinolitiese response gehad met matige bloedingsprobleme en 'n relatiewe verhoging in vry tPA.

## PAI-1 en vaskulêre siekte

Die defektiewe vrystelling en akkumulاسie van tPA in bloed in respons op veneuse afsnoering, word dikwels in verband gebring met trombo-emboliese siektes soos MI (Hamsten *et al.*, 1985; Paramo *et al.*, 1985b) en DVT (Paramo *et al.*, 1985a; Nilsson *et al.*, 1985). Oor die algemeen kan pasiënte in twee groepe verdeel word: dié met swak tPA-vrystelling, en dié met lae tPA-aktiwiteit en normale tPA-antigeen (Nilsson *et al.*, 1985). In laasgenoemde geval word die verwagte toename in tPA-aktiwiteit tydens veneuse afsnoering verskans deur hoë PAI-aktiwiteit.

Verhoogde PAI-vlakke word beskou as 'n risikofaktor vir herhaalde MI (Hamsten *et al.*, 1987a) en herinfarsie (Rocha *et al.*, 1992). Direkte bewyse dat hoë PAI-aktiwiteit trombose veroorsaak ontbreek nog (Loskutoff *et al.*, 1989). Verhoogde PAI-vlakke gaan hoofsaaklik gepaard met die omvang van koronêre sklerose (Huber *et al.*, 1992). Mehta *et al.* (1987) voer egter aan dat PAI-vlakke nie van die omvang van KHS afhang nie, en spreek hulle twyfel uit oor 'n moontlike patogeniese rol vir PAI-1 in die ontwikkeling van koronêre aterosklerose. 'n Interessante verskynsel is die diurnale patroon van beroerte (Wroe *et al.*, 1992) wat saam met die diurnale patroon van PAI-1 (Juhan-Vague *et al.*, 1992) val. Paramo *et al.* (1985c) het wel getoon dat pre-operatiewe PAI-vlakke van pasiënte wat DVT ontwikkel betekenisvol hoër is as pasiënte wat dit nie ontwikkel nie. Sorensen *et al.* (1990) vind egter geen verband tussen pre- en post-operatiewe PAI-vlakke en DVT nie. PAI-vlakke wat met MI, DVT en ander vaskulêre siektes gepaardgaan, is op die meeste drie maal hoër as kontrolewaardes, terwyl PAI-vlakke tydens swangerskap meer as tien keer hoër kan wees, sonder enige trombo-emboliese neigings (Kruithof *et al.*, 1987b). Matige dosisse endotoksien (1µg/kg) veroorsaak 'n tienvoudige verhoging bo die kontrolewaarde sonder enige trombo-emboliese effekte. Slegs by baie hoë dosisse (200µg/kg) is daar verspreide intravaskulêre stolling opgemerk. Dit is dus onwaarskynlik dat PAI-1 die primêre oorsaak van trombo-emboliese siekte in hierdie gevalle is (Loskutoff *et al.*, 1989). In 'n onlangse oorsig maak Dawson & Henney (1992) die gevolgtrekking dat die huidige beskikbare inligting oor PAI-1 dui op 'n patogeniese rol in die ontwikkeling van KHS. Die moontlikheid dat PAI-1 slegs 'n aanduider van onderliggende siekte is,

word egter nie uitgesluit nie (Dawson & Henney, 1992). Haverkate (1990) meen dat insulien 'n groter rol as PAI-1 speel in die ontwikkeling van trombose.

### **Die rol van insulien en insulienweerstand op PAI-vlakke en -aktiwiteit**

Dit is bekend dat hoë PAI-vlakke in pasiënte met KHS aangetref word (Almér & Öhlin, 1987; Paramo *et al.*, 1985a; Rydzewski *et al.*, 1990). PAI-1 word ook as 'n onafhanklike risikofaktor vir miokardiale herinfarksie beskou (Hamsten *et al.*, 1985). Hiperinsulinemie word ook beskou as 'n risikofaktor vir MI (Fontbonne & Eschwege, 1987; Stout & Wallace-Owen, 1979). Dit is ook reeds getoon dat insulienweerstand gepaardgaan met hoë PAI-vlakke (Juhan-Vague *et al.*, 1989; Vague *et al.*, 1986). Daar is rede om te glo dat die korrelasies wat PAI-1 met LMI, middel-heupomtrek en trigliseriede het, afhang van die verband tussen PAI-1 en insulien (Juhan-Vague *et al.*, 1991).

Om die verhoogde PAI-vlakke tydens toestande van insulienweerstand te verklaar is egter nie so eenvoudig nie. Alessi *et al.* (1988) het aangetoon dat insulien wat by umbilikale vene se endoteelselle gevoeg word, geen effek op PAI-sintese het nie. Wanneer fisiologiese hoeveelhede insulien egter by HepG2 selle gevoeg word, is daar 'n tweevoudige verhoging in PAI-produksie. Schneider & Sobel (1991) het 'n soortgelyke verhoging in PAI-1 en PAI-1 mRNA verkry deur die byvoeging van insulien en insulienagtige-groefaktor by HepG2 selle. Die verhoging van insulien gaan gepaard met 'n verhoging in PAI-1 mRNA (Grant *et al.*, 1991; Kooistra *et al.*, 1989). Na 'n akute toediening van insulien is daar geen PAI-verhoging opgemerk nie (Grant *et al.*, 1990; Potter van Loon *et al.*, 1990). Selfs nie met 'n hiperinsulinemiese glukoseklamp was daar enige verhoging in PAI-vlakke nie (Juhan-Vague & Vague, 1991; Vuorinen-Markkola *et al.*, 1992). Onder akute toestande wat nie met insulienweerstand gepaardgaan nie, is PAI-vlakke dus nie afhanklik van insulienkonsentrasie nie (Juhan-Vague *et al.*, 1991). Landin *et al.* (1991) het egter wel 'n betekenisvolle verhoging in PAI-vlakke tydens 'n twee-uurlange euglukemiese, hiperinsulinemiese klamp gekry. Tipe II-diabete wat vir 16 weke insulienbehandeling ontvang, toon geen verhoging in PAI-vlakke in vergelyking met 'n gesonde kontrolegroep nie. Die outeurs sluit egter nie die moontlikheid uit dat PAI-vlakke wel mag verhoog oor 'n langer termyn as gevolg van die massatoename, geassosiëer met insulienbehandeling nie (Vukovich *et al.*, 1992). Obese nie-diabetiese proefpersone ondervind 'n verbetering in insulien sensitiwiteit en 'n daling in PAI-1 na behandeling met Metformin (Vague *et al.*, 1987).

Al die voorafgenoemde bevindinge versterk die gedagte dat insulien sensitiwiteit (insulienweerstand) verantwoordelik is vir die verband tussen PAI-1 en insulien (Haverkate, 1990; Klufft *et al.*, 1992). Klufft *et al.* (1992) vind geen direkte

verband tussen PAI-1 en insulien nie, maar wel tussen insulienweerstand en PAI-1. Daar is egter teenstrydige resultate wat die *in vivo* en *in vitro* situasies betref. 'n Moontlike verklaring is dat selkulture 'n insulienweerstandbiedende toestand naboots (Juhan-Vague *et al.*, 1991). Dié hipotese vind steun in die feit dat HepG2 selle defektiewe insulienreseptore het (Williams & Olefsky, 1990). Verder word lipogenese herstel wanneer Metformin (Metformin verbeter insulien sensitiviteit) saam met insulien by rotheptosiete gevoeg word (Melin *et al.*, 1990). Metformin inhibeer ook PAI-sintese in HepG2 selle (Anfosso *et al.*, 1992). 'n Moontlike meganisme mag egter modifikasie van plasmalipoproteïene deur verskillende faktore wees (Juhan-Vague *et al.*, 1991). Stiko-Rahm *et al.* (1990) het getoon dat gesuiwerde VLDL-C uit hipertrigliseredemiese pasiënte PAI-sintese in endoteelselle meer verhoog as die VLDL-C uit normotrigliseredemiese mense. Geoksideerde LDL het ook 'n stimulerende invloed op die sintese van PAI-1 in endoteelselle (Latron *et al.*, 1991). Dit lyk dus of PAI-sintese deur hepatosiete en endoteelselle beïnvloed mag word deur hoë insulienkonsentrasies en lipied-abnormaliteite in pasiënte met insulienweerstandbiedende toestande (Juhan-Vague *et al.*, 1991). Insulienweerstand kan verminder word deur sekere medikasies, oefening, en veral dieet (Kluft *et al.*, 1992). Die normalisering van PAI-vlakke deur insulienweerstand te verlaag mag aterotrombose vertraag en KHS voorkom (Juhan-Vague *et al.*, 1991).

#### **Die effek van dieet op PAI-vlakke**

Die mees onlangse studies wat konsentreer op die invloed van dieet op PAI-vlakke word in tabel 2.2 opgesom. Uit hierdie opsomming is dit duidelik dat dieet wel 'n rol speel in die regulering van PAI-vlakke. Dit wil voorkom asof dit veral die diëte met 'n hoë veselinhoud is wat PAI-vlakke beïnvloed. Uit die beskikbare studies is die rol van vetiname nog onduidelik.

Tabel 2.2 Opsomming van die effek van dieet op PAI-aktiwiteit in verskillende groepe

OUTEUR	PROEFPERSONE	TIPE DIEET	TYD	EFFEK OP PAI-1
Legnani <i>et al.</i> 1992	Obese vroue	Baie-lae kilojouledieet	3 maande	↓ PAI-1 + ↓ massa
Andersen <i>et al.</i> 1992	Oorgewig vroue met polistiese ovariumsindroom	Baie-lae kilojouledieet	4 weke	↔ PAI-1 + ↓ massa
Sundell <i>et al.</i> 1992	Ileostomie pasiënte	Hoë-vesel vs lae-veseldieet	1 week	↓ PAI-1 + ↓ massa
Huisveld <i>et al.</i> 1992	Obese persone	Lae-kilojouledieet	13 weke	↓ PAI-1 + ↓ massa
Marckmann <i>et al.</i> 1992b	Gesonde vrywilligers	Hoë-vesel, lae-vetdieet	8 maande	↔ PAI-1 + ↑ EFA
Marckmann <i>et al.</i> 1992a	Gesonde vrywilligers	Lae-vetdieet (matig)	2 weke	↔ PAI-1
Mehrabian <i>et al.</i> 1990	Gesonde vrywilligers	Hoë-vesel, lae-vetdieet	3 weke	↓ PAI-1
Rånby & Sundell, 1992	Gesonde vrywilligers	Veselsupplement	6 weke	↓ PAI-1

EFA Euglobulien-fibrinolitiese aktiwiteit

## 2.4 Samevatting en doel van hierdie studie

Plasmafibrinogeen is 'n onafhanklike risikofaktor vir KHS (Meade *et al.*, 1980; Wilhelmsen *et al.*, 1984) en 'n belangrike bepaler van hiperkoaguleerbaarheid. Ander bepalers van hiperkoaguleerbaarheid is die vlakke en/of aktiwiteite van verskeie ander stollingsfaktore, asook ensieme in die fibrinolitiese sisteem (Vorster *et al.*, 1988).

Etniese verskille ten opsigte van fibrinolitiese aktiwiteit (FA) is reeds voorheen gerapporteer (Dischinger *et al.*, 1980; Franz *et al.*, 1961; Franz *et al.*, 1980). Dit is ook bekend dat in vergelyking met blanke Suid-Afrikaners, swart Suid-Afrikaners 'n laer KHS mortaliteitsyfer het (Steinberg *et al.*, 1988).

Die hoofdoel van hierdie studie was om vas te stel of daar etniese verskille in PAI-vlakke, 'n belangrike bepaler van fibrinolitiese aktiwiteit, is, asook om vas te stel of PAI-vlakke plasmafibrinogeenvlakke beïnvloed.

Verder is die moontlikheid ondersoek dat daar etniese verskille in respons op 'n veneuse-stase toets is. Die resultate sal moontlik bydra om meganismes daar te stel of verklarings te bied vir die etniese verskille in KHS-voorkoms in Suid-Afrika. Die resultate mag moontlik ook meer lig werp op die rol van dieet as bepaler van PAI-vlakke.

Die twee groepe proefpersone in hierdie studie, naamlik verstedelike blankes met 'n Westerse leefwyse en plattelandse swartes met 'n meer tradisionele leefwyse, is so gekies dat die invloed van ras en dieet op PAI-vlakke gemeet kon word. PAI-vlakke is dus gekorreleer met 'n verskeidenheid ander metings om die oorsaak van moontlike verskille in PAI-vlakke te ondersoek.

## HOOFSTUK 3

### METODE

#### 3.1 Proefpersone

Twee-en-dertig proefpersone het vrywillig, met ingeligte toestemming aan die projek deelgeneem. Die projek is deur die Etiekkomitee van die PU vir CHO goedgekeur. Proefpersone is uit twee groepe gekies - die eerste groep het bestaan uit blanke dienspligtiges van Danie Theron Krygskool op Potchefstroom, terwyl die tweede groep saamgestel is uit jong plattelandse Vendamans van die dorp Tshikundamalema in Venda. Die twee groepe proefpersone is gekies om so homogeen as moontlik te wees. Die twee groepe het op grond van ras verskil. Die groepe het ook ten opsigte van sosio-ekonomiese status verskil, met 'n waarskynlik gepaardgaande verskil in dieetgewoontes. PAI-1, fibrinogeen, totale cholesterol, hoëdigtheidslipoproteïn-cholesterol, trigliseriede en insulien kan beïnvloed word deur faktore soos oormassa, rook, ouderdom, geslag, chroniese- en akute siekte. Proefpersone is so gekies dat hierdie faktore uitgeskakel word. Enige verskille sou dus nie aan hierdie faktore toegeskryf kon word nie. Gesonde manlike, nie-rokende vrywilligers tussen die ouderdomme van 18 en 23 jaar, met 'n liggaamsmassa-indeks van tussen 19 en 23 kg/m<sup>2</sup> (ligte tot medium liggaamsbou) het aan die studie deelgeneem. Proefpersone moes vry wees van enige chroniese siekte of parasitiese infeksies. Onlangse trauma is ook as uitsluitingskriterium gebruik. Uit al die moontlike proefpersone, het 17 Vendamans en 15 SAW-dienspligtiges aan hierdie vereistes voldoen.

#### 3.2 Bloedtrekprosedure

Vastende (10-uur) veneuse bloedmonsters is tussen 07:00 en 10:00 verkry met behulp van 'n dubbelspuitmetode. 'n 21G infusiestel en steriele spuite is gebruik om die bloed te trek. Nadat die eerste bloedmonsters verkry is, is 'n gestandaardiseerde veneuse afsnoertoets op elke proefpersoon uitgevoer. Die infusiestel is in die vene gelaat en 'n bloeddrukband is tot halfpad tussen die sistoliese- en diastoliese bloeddruk gepomp. Hierdie druk is vir 6 minute toegepas. 'n Tweede reeks bloedmonsters is getrek waarvan die eerste 5 mL mee weggedoen is. Hierna is die bloeddrukband afgeblaas, en die naald uit die vene verwyder.

### 3.3 Bereiding van serum en plasma

Vir die bereiding van serum is die bloed in glasbuis versamel en toegelaat om volledig te stol, waarna dit vir 10 minute teen 3600 rpm gesentrifugeer is om die serum van die res van die bloedbestanddele te skei. Die serum is verdeel en gevries by  $-80^{\circ}\text{C}$  totdat die analyses gedoen is. Sitraatplasma is berei deur 4.5 mL bloed te verdun met 0.5 mL sitraat-bufferoplossing (Behringwerke AG, Marburg, Kat. no. ORKH 25, 0.1 mol/L, pH 4.5). Die sitraatbloed is vir 10 minute teen 3600 rpm gesentrifugeer. Die sitraatplasma is van die rooibloedselle geskei, in deelvolumes verdeel en in mikrosentrifugeerbuisies by  $-80^{\circ}\text{C}$  gevries totdat die analyses gedoen is.

### 3.4 Biochemiese analyses

#### 3.4.1 Inleiding

Alle bepalinge op serum- en plasmamonsters is deur die navorser self in die Voedingsnavorsingslaboratorium van die PU vir CHO gedoen. Interne standaarde sowel as eksterne kontroleserum en -plasma is in alle gevalle gebruik. Die koëffisiënt van variasie (%) is vir elke metode, met herhaalde metings op die eksterne standaard soos volg bereken:  $\text{Standaardafwyking} \div \text{rekenkundige gemiddeld} \times 100$ .

#### 3.4.2 Totale cholesterol (TC)

Die serum-TC is bepaal met die CHOD-PAP-metode (Boehringer Mannheim (BM) Kat. no. 237 574). Cholesterolesters in serum word na vry cholesterol en vetsure gehidroliseer deur cholesterolesterase. Die vry cholesterol word dan deur cholesteroloksidase geoksideer na  $\Delta^4$  cholestenoon en waterstofperoksied. In die teenwoordigheid van peroksidase reageer 4-aminofenasoon en fenol met waterstofperoksied om 'n kleurkompleks te vorm. Die intensiteit van die kompleks is direk-eweredig aan die hoeveelheid cholesterolesters in die monster, en word spektrofotometries gemeet by 500 nm. Die koëffisiënt van variasie vir die metode was tussen 1.33 en 1.37%. Die wenslike waarde vir TC is  $< 5.2$  mmol/L (Rossouw *et al.*, 1988).

#### 3.4.3 Hoëdigheidslipoproteïen-cholesterol (HDL-C)

Chilomikrone, baie-laedigheids- en laedigheidslipoproteïen-cholesterol word deur wolframsuur en magnesiumione (BM Kat. no. 543 004) gepresipiteer. Na sentrifugering bly die HDL-C fraksie in die supernatant oor, en die cholesterolinhoud word bepaal met die CHOD-PAP-metode soos reeds beskryf. Die koëffisiënt van variasie vir die metode was tussen 3.15 en 4.31%. Die wenslike waarde vir HDL-C is  $> 1$  mmol/L (Berger & Marais, 1987).

#### 3.4.4 Triglisieriede (TG)

Die TG-inhoud van serum is bepaal met die GPO-PAP-metode (BM Kat. no. 701 904). Triglisieriede word ensiematies gehidroliseer. Gevormde waterstofperoksied reageer in die teenwoordigheid van peroksidase met 4-chlorofenol en 4-aminofenasoon om 'n kleurkompleks te vorm. Die intensiteit van die kompleks is direk-eweredig aan die hoeveelheid gliserol in die monster en word spektrofotometries gemeet by 500 nm. Precimat Glycerol (BM Kat. no. 166 588) is as interne standaard gebruik. Die koëffisiënt van variasie vir die metode was tussen 1.19 en 3.40%. Die wenslike waarde vir TG is  $< 2.28$  mmol/L (Lang & Schnettler, 1985).

#### 3.4.5 Insulien (Ins)

Seruminsulien is bepaal met 'n RIA (Radioimmunoassay) metode, en is gebaseer op 'n dubbelteenliggaam soliede fase tegniek (Phadeseph Insulin RIA, Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Swede, Kat. no. 64101). Die insulien in 'n onbekende monster kompeteer met 'n vasgestelde hoeveelheid  $^{125}\text{I}$ -gemarkte insulien vir bindingsplekke op die hoogs-spesifieke teenliggame. Die konsentrasie insulien word bepaal deur die kompeteringskapasiteit te vergelyk met die van 'n reeks standarde met bekende konsentrasies. Proefmonsters, insulien  $^{125}\text{I}$ -oplossing en 'n anti-insulien oplossing word by kamertemperatuur geïnkubeer. Gebonde en vrye insulien word geskei deur die byvoeging van 'n dubbelteenliggaamsuspensie. 'n Verdere inkubasietyd word toegelaat waarna die oplossing gesentrifugeer word en die vloeistoffase afgegooi word. Die radio-aktiwiteit in die soliede pil wat agterbly word met 'n gammateller gemeet. Die hoeveelheid gebonde radio-aktiwiteit is omgekeerd eweredig aan die hoeveelheid insulien in die monster. Die koëffisiënt van variasie vir die metode was 2,94%. Normalwaardes vir insulien word beskou as  $< 25$   $\mu\text{E}/\text{mL}$  (Kaplan & Pesce, 1989)

#### 3.4.6 Berekende indeks vir insuliensensitiwiteit (IS)

Die indeks vir insuliensensitiwiteit is bereken met die formule  $10\ 000 / \text{vastende glukose}(\text{mmol}/\text{L}) \times \text{insulien}(\mu\text{E}/\text{mL})$  (Donahue *et al.*, 1988).

### **3.4.7 Glukose (Glc)**

Serumglukose is gemeet met 'n kolorimetriese metode (Suid-Afrikaanse Instituut vir Mediese Navorsing, Sandringham, Suid-Afrika) wat op die metode van Trinder gebaseer is. Glukose word deur glukose-oksidasie na glukonaat en waterstofperoksied geoksideer. Waterstofperoksied reageer in die teenwoordigheid van peroksidase met fenol en 4-aminofenasoon om 'n kleurkompleks te vorm. Die intensiteit van die kleurkompleks is eweredig aan die hoeveelheid glukose in die monster en word spektrofotometries by 505nm gemeet. Die koëffisiënt van variasie vir die metode was 0.58%. Normaalwaardes vir glukose word aangegee as tussen 3.9 en 6.1 mmol/L (Kaplan & Pesce, 1989).

### **3.4.8 Totale proteïene (TP)**

Die TP is in serum met die Biuret-metode bepaal (BM, Kat. no. 974 820). Proteïene vorm 'n kleurkompleks met kupri-ione in 'n alkaliese medium. Die intensiteit van die kleurkompleks is eweredig aan die totale hoeveelheid proteïene in die monster en word spektrofotometries by 550nm gemeet. Die koëffisiënt van variasie vir die metode was 2.02%. Normaalwaardes vir TP word aangegee as tussen 66.6 en 81.4 g/L (Kaplan & Pesce, 1989).

### **3.4.9 Albumien (Alb)**

Serumalbumien is bepaal met die Broomkresol-groenmetode (BM, Kat. no. 263 869). Albumien vorm 'n kompleks met broomkresol-groen by 'n pH van 4.2. Die ligabsorbansie van die kompleks word gemeet by 630nm en die konsentrasie albumien is bereken met 'n standaardformule vir die metode. Precinorm U is as standaard gebruik (BM, Kat. no. 171 760). Die koëffisiënt van variasie vir die metode was 2.25%. Normaalwaardes vir albumien word aangegee as tussen 33 en 61.2 g/L (Kaplan & Pesce, 1989).

### **3.4.10 Hemostatiese veranderlikes**

#### **Plasmafibrinogeen (Fgn)**

Plasmafibrinogeen is bepaal met 'n gewysigde metode van Clauss (Clauss, 1957) (Behringwerke, Kat. no. OTXG 20/21) en die Fibrintimer (Behring Instituut, Marburg, Duitsland). Die Fibrintimer is 'n dubbelkanaalstollingsmeter. 'n Voorbereide monster word in duplikaat in die verhittingsblok by 37°C in 'n kuwet met 'n magnetiese roerder geïnkubeer. 'n Oormaat trombin word bygevoeg en die tyd wat dit vir die monster neem om te stol, word gemeet. As eksterne standaard is 'n kontroleplasma wat saam met die toetsstel verskaf word, gebruik. 'n Tabel wat die stollingstyd vir sekere konsentrasies fibrinogeen gee, word saam met elke toetsstel verskaf. Die konsentrasie fibrinogeen in die monsters word van die

standaardtabel afgelees. Normaalwaardes vir fibrinogeen wanner dit met die Clauss-metode bepaal word, word aangegee as tussen 1.8 en 3.5 g/L (Behringwerke, 1991).

### Plasmastollingsfaktore (FV, FVII, FVIII, FX)

Aktiwiteite van plasmastollingsfaktore V, VII, VIII en X, plasminogeen en antitrombin III is gemeet met die ACL 200 (Automated Coagulation Laboratory, Instrumentation Laboratory, Milaan, Italië). Die ACL 200 is 'n ten volle geoutomatiseerde stollingsanaliseerder wat ligverspreiding nefelometries meet, maar ook ligabsorbansie tydens chromogeniese reaksies bepaal.

Vir die bepaling van faktore in die ekstrinsieke weg van stolling, dit wil sê, faktore II, V, VII en X, is 'n aangepaste protrombientyd toets (PT) gebruik. Plasma van die proefpersoon word verdun en by plasma wat 'n enkele ekstrinsieke faktor ontbreek gevoeg. Korrigering van die verlengde stolyd van die faktor-ontbrekende plasma is proporsioneel aan die konsentrasie (aktiwiteit %) van die spesifieke faktor in die proefpersoon se plasma. Die presiese aktiwiteit word geïnterpoleer vanaf 'n standaard-kalibrasiekromme wat outomaties deur die apparaat opgestel word.

Vir die bepaling van faktore in die intrinsieke weg van stolling, dit wil sê, faktore VIII, IX, XI en XII is 'n aangepaste geaktiveerde gedeeltelike tromboplastientydtoets (APTT) gebruik. Plasma van die proefpersoon word verdun en by plasma wat 'n enkele intrinsieke faktor ontbreek gevoeg. Korrigering van die verlengde stolyd van die faktor-ontbrekende plasma is proporsioneel aan die konsentrasie (aktiwiteit %) van die spesifieke faktor in die proefpersoon se plasma. Die presiese aktiwiteit word geïnterpoleer vanaf 'n standaard-kalibrasiekromme, wat outomaties deur die apparaat opgestel word. Die  $r^2$ -waardes vir al die faktore was tussen 0.999 en 0.983. Normaalwaardes vir die stollingsfaktore wanneer dit met die ACL-200 bepaal word, word aangegee as tussen 50 en 150% (IL, 1991).

Reagense is verkry van Instrumentation Laboratories (IL):

Reagens	Katalogusnommer
Faktor-ontbrekende plasma V	84661-50
Faktor-ontbrekende plasma VII	84662-50
Faktor-ontbrekende plasma VIII	84664-50
Faktor-ontbrekende plasma X	84663-50
Kalibrasieplasma	84673-00
Normaal kontroleplasma	84670-11
PT-Fibrinogeen	97567-10
Faktorverdunningsvloeistof	97576-00
APTT toetsstel	97570-10

### **Plasminogeen (Plg)**

Die bepaling van plasminogeen in plasma is met 'n chromogeniese metode (IL, Kat. no. 97573-15) op die ACL 200 gedoen. Plasminogeen word in die teenwoordigheid van 'n oormaat streptokinase omgesit in 'n plasminogeen-streptokinasekompleks met plasmienagtige aktiwiteit. Hierdie plasminogeen-streptokinasekompleks stel paranitro-anilien vry as dit met die sintetiese chromogeniese substraat reageer. Die hoeveelheid paranitro-anilien wat vrygestel word is eweredig aan die plasminogeenvlak in die monster, en word spektrofotometries by 'n golflengte van 405nm gemeet. Vir kalibrering word 'n kalibrasieplasma (IL, Kat. no. 84673-00), en vir kontrole 'n kontroleplasma (IL, Kat. no. 84670-11) gebruik. Die  $r^2$ -waardes vir die metode was tussen 1.000 en 0.998. Normaalwaardes vir plasminogeen wanneer dit met die ACL-200 bepaal word, word aangegee as tussen 50 en 150% (IL, 1991).

### **Antitrombin III (ATIII)**

ATIII is chromogenies met die ACL 200 bepaal (bioMerieux, Frankryk, Kat. No. 68672). Plasma word vir 'n spesifieke tyd met 'n oormaat trombin in die teenwoordigheid van heparien geïnkubeer. Die residuele trombin word gemeet aan die tempo waarteen 'n spesifieke sintetiese chromogeniese substraat gehidroliseer word. Die konsentrasie ATIII in die monster is omgekeerd eweredig aan die hoeveelheid gehidroliseerde substraat. Vir kalibrering word 'n kalibrasieplasma (IL, Kat. no. 84673-00) en vir kontrole 'n kontroleplasma (IL, Kat. no. 84670-11) gebruik. Die  $r^2$ -waardes vir die metode was tussen 1.000 en 0.998. Normaalwaardes vir ATIII wanneer dit met die ACL-200 bepaal word, word aangegee as tussen 50 en 150% (IL, 1991).

#### **3.4.11 Fibrinolitiese veranderlikes**

##### **Weefselplasminogeenaktiveerder-antigeen (tPA-Ag)**

tPA-antigeen in plasma is met 'n dubbelteenliggaam-metode (Imulyse tPA, Biopool, Swede) bepaal. Die metode is uniek in die sin dat dit gebruik maak van normale sowel as versadigingsteenliggame as kontrole vir tPA-spesifisiteit (ISAC = Immunological Specificity and Accuracy Control). Die ELISA-metode saam met ISAC sluit die probleem van foutiewe positiewe resultate, soos soms verkry word wanneer daar net met ELISA gewerk word, uit. Mikro-toetsplate word gevoer met teenliggame gemik teen menslike tPA. Die een putjie word gevul met normale bok IgG (N-putjie) en die ander met bok anti-menslike-tPA IgG (A-putjie). By elke twee aangrensende putjies word plasma gevoeg. Gedurende die inkubasietydperk bind die tPA-antigeen in die monster aan die anti-tPA-IgG in die N-putjie, maar tPA binding in die A-putjie word verhoed deur bok anti-menslike tPA IgG. Die verskil in respons tussen die twee putjies is hoogs tPA-spesifiek. Konjugaat

(peperwortel peroksidase gemerkte anti-tPA IgG) word by elke putjie gevoeg en bind aan die vry antigeniese determinante op die tPA-molekule. Na 'n inkubasie van twee uur word die ongebonde konjugaat uitgewas. Die hoeveelheid ensiem peroksidase wat in die putjie oorbly is eweredig aan die hoeveelheid tPA-Ag in die monster. 'n Peroksidase-substraat word bygevoeg en word katalities geoksideer deur die ensiem-peroksidase. Die hoeveelheid kleur wat ontwikkel is proporsioneel aan die hoeveelheid tPA-Ag wat aan die wande van die putjie gebind het, en word gemeet by 'n golflengte van 492nm met 'n mikro-toetsplaatleser (Uniskan II, Labsystems, Helsinki, Finland). Die  $r^2$ -waardes vir die metode was tussen 0.990 en 0.961. Normaalwaardes vir tPA-Ag word aangegee as tussen 3 en 10 ng/mL (Imulyse tPA, Biopool, Umeå, Swede)

### **Plasminogeenaktiveerderinhibeerder (PAI-1)**

PAI-1 aktiwiteit in plasma is gemeet met die indirekte ensiematiese metode van Chmielewska *et al.*, (1983) (Spectrolyse/pL, Biopool, Umeå, Swede). Die eerste stap behels die byvoeging van 'n sekere hoeveelheid tPA, wat dan met die PAI-1 in die monster bind. Die pH van die monster word dan na omtrent 5 verlaag om alle  $\alpha_2$ -antiplasmien aktiwiteit te vernietig wat moontlik mag inmeng met die bepaling van tPA. In die tweede stap word die oorblywende tPA-aktiwiteit gemeet deur die byvoeging van 'n mengsel Glu-plasminogeen, poli-lisien en chromogeniese substraat by 'n neutrale pH. Die oorblywende tPA in die monster kataliseer die omsetting van Glu-plasminogeen na plasmien, wat op sy beurt die chromogeniese substraat hidroliseer. Die intensiteit van die kleur wat ontwikkel is proporsioneel aan die hoeveelheid tPA in die monster, en word by 405 nm gemeet met 'n mikro-toetsplaatleser (Uniskan II, Labsystems, Helsinki, Finland). Die hoeveelheid PAI-1 in die monster is dan die verskil tussen die hoeveelheid tPA bygevoeg en die gemete hoeveelheid tPA. Die koëffisiënt van variasie vir die metode was tussen 6 en 13%. Normaalwaardes word deur die vervaardiger van die toetsstel aangegee as 5.5 E/mL (Spectrolyse/pL, Biopool, Umeå, Swede).

### **Korreksie vir hemokonsentrasie**

Gedurende stase vind daar ultrafiltrering van water en ander stowwe met lae  $M_r$  in die interstisiële ruimtes in, plaas. Pre- en post-stase albumienvlakke is gemeet met die metode soos voorheen beskryf. Albumien word gebruik omdat die  $M_r$  van 64 000 omtrent dieselfde is as dié van tPA ( $M_r$  70 000) en PAI-1 ( $M_r$  50 000). Die formule wat gebruik is, is: pre-stase/post-stase albumien vermenigvuldig met die post-stase tPA of PAI (Ranby *et al.*, 1990).

### 3.5 Nutriëntinname

Om die gebruikelike daaglikse inname van sekere makronutriënte en die persentasie energiever spreiding daarvan te bepaal, is 'n gestandaardiseerde voedsel frekwensievraelys vir elke proefpersoon ingevul.

'n Geregistreerde dieetkundige het 'n onderhoud in groepsverband met die SAW-lede gevoer. Inligting aangaande die spyskaart, porsiegroottes en gaarmaakmetodes is van die menasie verkry.

Voordat onderhoude met die Vendas gevoer is, is daar besoek gebring aan die plaaslike winkel om 'n idee te kry van wat beskikbaar was aan die bevolking. Daar is ook verneem watter veldvrugte, insekte en ander diere geëet word en in watter seisoene dit beskikbaar is. Onderhoude met die Vendas is gevoer deur 4 opgeleide veldwerkers. Vrae is deur middel van Venda-tolke aan die proefpersone gestel. Voedselmodelle is gebruik om die akkuraatheid van die proefpersoon se beskrywing van porsiegroottes te verbeter. Proefpersone is ook gevra om byvoorbeeld voorafbereide pap en hoenderstukke op te skep in die porsiegroottes wat hulle normaalweg sou verkies. Die massa van sulke porsies is dan aangeteken. Ander hulpmiddels soos blikborde, bekere, lepels van verskillende groottes, en voorbeelde van sekere produkte is ook gebruik.

Die voedselinname van elke persoon is omgesit in gram deur die "NRIND Food Quantities Manual" (Gouws & Langenhoven 1986) te gebruik. Die kode vir elke voedselsoort en die hoeveelheid in gram is gerekenariseer en geanaliseer deur gebruik te maak van 'n program wat gebaseer is op die "NRIND Food Composition Tables" (Gouws & Langenhoven 1986).

### 3.6 Statistiese verwerking

Betekenisvolle verskille tussen groepe is bepaal met Student-t-toetse. Pearson-korrelasiekoëffisiënte is tussen die verskillende veranderlikes bepaal. Vir die statistiese verwerking is die SAS<sup>R</sup> rekenaarpakket gebruik, en 'n p-waarde van kleiner as 0.05 is as statisties betekenisvol beskou.

## HOOFSTUK 4

### RESULTATE

#### 4.1 Inleiding

Die gemiddelde met standaardafwykings van ouderdomme en sekere antropometriese veranderlikes van die twee groepe proefpersone word in tabel 4.1 opgesom.

Tabel 4.1 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van besonderhede van proefpersone

VERANDERLIKE		BLANKES	VENDAS	p-waarde *
LENGTE (m)	GEM	1.82	1.67	<0.0001
	SA	0.07	0.07	
MASSA (kg)	GEM	72.9	59.5	<0.0001
	SA	8.8	6.06	
LMI (kg/m <sup>2</sup> )	GEM	21.9	21.4	NB
	SA	1.37	1.51	
OUDERDOM (jr)	GEM	19.2	19.3	NB
	SA	1.74	1.31	

\* Student-t-toets

NB = Nie betekenisvol

Daar was 'n hoogs betekenisvolle verskil tussen die blankes en die Vendas ten opsigte van lengte ( $1.82 \pm 0.07$  m teenoor  $1.66 \pm 0.07$  m) en massa ( $72.9 \pm 8.80$  kg teenoor  $59.5 \pm 6.16$  kg). Wanneer liggaamsbou in ag geneem word is dit duidelik dat die blankes en die Vendas baie homogeen was ten opsigte van LMI ( $21.9 \pm 1.37$  kg/m<sup>2</sup> teenoor  $21.4 \pm 1.51$  kg/m<sup>2</sup>) asook ouderdom ( $19.2 \pm 1.74$  jr teenoor  $19.3 \pm 1.31$  jr). Die ideale LMI vir mans is 21-25 kg/m<sup>2</sup> (Bray, 1978). Ons kan dus aanvaar dat die proefpersone in hierdie groepe 'n ligte tot medium liggaamsbou gehad het. Geeneen van die proefpersone het gerook of aan enige chroniese of akute siekte of infeksie gely nie.

## 4.2 Dieetverskille tussen blanke- en Venda proefpersone

Die gemiddelde met standaardafwykings vir die gebruikelike daaglikse inname van sekere makronutriënte van die twee groepe proefpersone word in tabel 4.2 opgesom.

Tabel 4.2 Gemiddelde daaglikse nutriëntinname van die blankes en Vendas

Makronutriënte	BLANKES		VENDAS		p-waarde *
	GEM	SA	GEM	SA	
Totale energie (kJ)	18057	4071	12321	3520	<0.01
Totale proteïen (g)	162.2	17.7	112.3	37.2	<0.0001
Dierlike proteïen (g)	121	18	62	34	<0.0001
Plantaardige proteïen (g)	40.4	13	49.8	15.1	NB
%E: Totale proteïen	15.7	2.2	15.6	2.5	NB
%E: Dierlike proteïen	11.8	2.6	8.5	3.6	<0.05
Totale vet (g)	183	44	101	51	<0.01
Versadigde vetsure (g)	65.8	13.4	28.5	14.6	<0.0001
Mono-onversadigde vetsure (g)	65.1	14.6	36.6	24.4	<0.01
Poli-onversadigde vetsure (g)	37.2	18.1	23.5	12.8	NB
P/V verhouding	0.56	0.2	0.87	0.3	<0.05
%E: Totale vet	38.4	1.7	29.8	8.9	<0.0001
Cholesterol (mg)	917.6	246.4	490.5	286.8	<0.01
(mg/1000kJ)	52.6	15.6	39.3	22.1	NB
Totale koolhidrate (g)	481.8	120.8	369.6	81.7	NB
%E: Totale koolhidrate	45.1	1.8	52.5	7.8	<0.0001
Sukrose (g)	207.2	50.5	53.9	26.7	<0.0001
%E: Sukrose	19.6	2.9	7.6	3.8	<0.0001
Totale vesel (g)	21.8	8.4	29.7	8.4	NB
(g/1000kJ)	1.3	0.6	2.5	0.6	<0.0001

\* Student-t-toets

P/V = Poli-onversadigde-, versadigdevetsuurverhouding

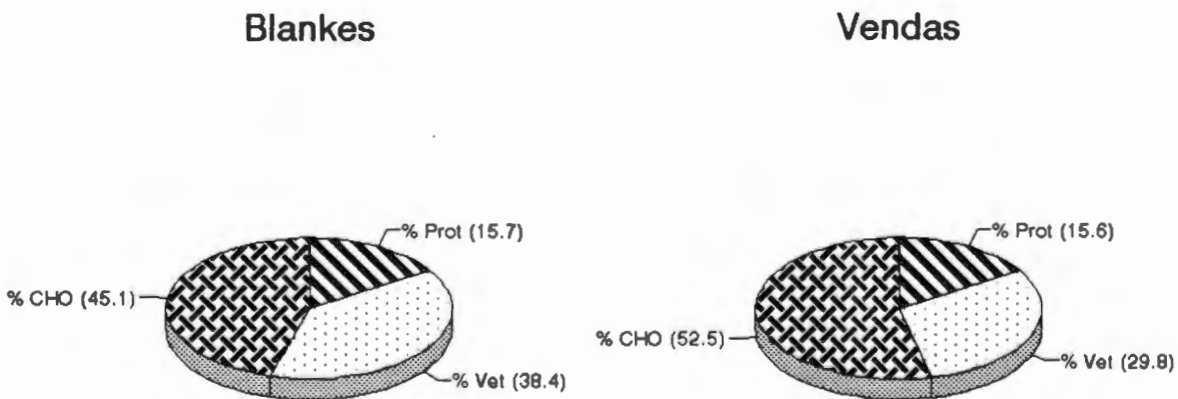
NB = Nie betekenisvol

%E = persentasie energie van die totale energie

Die totale energie-inname was betekenisvol hoër in die blankes as in die Vendas. Die blankes het daagliks gemiddeld 247.7 kJ per kg liggaamsmassa ingeneem, terwyl die Vendas 207.1 kJ per kg liggaamsmassa ingeneem het. Wat proteïen-inname betref het die blankes betekenisvol meer ingeneem, en ook betekenisvol meer proteïene van dierlike oorsprong. Die aanbevole proteïen-inname vir volwassenes is 0.8 g/kg liggaamsmassa (Food and Nutrition Board, 1980). Die blankes het daagliks gemiddeld 2.22 g proteïen per kg liggaamsmassa ingeneem en

die Vendas 1.89 g per kg. Dit is dus duidelik dat die Vendas voldoende proteïen in hulle dieet gehad het. Die blankes het betekenisvol meer vet as die Vendas ingeneem en veral meer versadigde- en mono-onversadigde vetsure. Die P/S-verhouding van die Vendas se dieet was ook betekenisvol hoër as dié van die blankes. Cholesterolinname uitgedruk as mg cholesterol/1000kJ het nie betekenisvol verskil tussen die twee groepe nie. Die blankes het 'n groter hoeveelheid sukrose ingeneem, en sukrose het ook 'n groter persentasie van die totale energie in die blanke groep uitgemaak. Die totale hoeveelheid vesel wat deur die twee groepe ingeneem is, het nie betekenisvol verskil nie, maar uitgedruk in gram vesel/1000kJ het die Vendas betekenisvol meer vesel ingeneem.

In figuur 4.1 word die persentasie energiever spreiding van die dieet van die blanke- en Vendagroepe opgesom.



Figuur 4.1 Persentasie energiever spreiding in die blanke- en Venda diëte

Die vernaamste verskille ten opsigte van die diëte tussen die twee groepe was die hoogs betekenisvolle verskille in die persentasie energie afkomstig van koolhidrate en vette. Die energiever spreiding in die blankes se dieet (figuur 4.1) was tipies die van 'n Westerse dieet, met vette wat tot 38.4%, koolhidrate 45.1% en proteïen 15.7% tot die totale energie bygedra het. Hierdie patroon vergelyk goed met die dieet wat gevolg is deur blanke studente aan die PU vir CHO (Vorster *et al.*, 1992).

In die Vendadiëte het vette 29.8%, koolhidrate 52.5% en proteïene 15.6% van die totale energie bygedra. Die persentasie energiever spreiding van die Vendas se dieet (figuur 4.2) vergelyk goed met riglyne wat vir die omsigtige dieet daargestel word (Truswell, 1987), maar is nog nie so laag as wat in ander plattelandse swartes gerapporteer word nie (Jooste *et al.*, 1990; Vorster *et al.*, 1985). Hierdie tendens, dat die dieet van die plattelandse swartes tans neig om hoër in vet en laer in

koolhidrate te wees as in studies wat voorheen gerapporteer is (Jooste *et al.*, 1990; Vorster *et al.*, 1985), dui op die toenemende verwestering in die plattelandse gebiede van Suid-Afrika.

Ter opsomming is dit duidelik dat in vergelyking met die Vendas die blankes meer energie ingeneem het. Hulle het 'n groter hoeveelheid energie van dierlike proteïen ingeneem en waarskynlik daarmee saam meer versadigde- en mono-onversadigde vetsure. Die blankes het 'n groter persentasie energie uit vette ingeneem en minder uit koolhidrate. Die koolhidrate in die blankes se dieet het uit meer verfynde koolhidrate bestaan, en hulle het minder vesel as die Vendas ingeneem.

#### 4.3 Serumlipiede

Die gemiddelde met standaardafwykings vir totale cholesterol (TC), hoëdigtheidslipoproteïen-cholesterol (HDL-C), persentasie HDL-C en trigliseriede (TG) van die twee groepe proefpersone word in tabel 4.3 opgesom.

Tabel 4.3 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van serumlipiede en -lipoproteïene

VERANDERLIKE		BLANKES	VENDAS	p-waarde *
TC (mmol/L)	GEM	5.89	4.17	<0.05
	SA	2.45	0.86	
HDL-C (mmol/L)	GEM	1.17	1.17	NB
	SA	0.24	0.25	
% HDL-C	GEM	22.1	29.1	<0.05
	SA	6.83	8.56	
TG (mmol/L)	GEM	0.73	0.73	NB
	SA	0.23	0.27	

\* Student t-toets

NB = Nie betekenisvol

TC was betekenisvol hoër in die blanke groep as in die Vendagroep ( $5.89 \pm 2.45$  mmol/L teenoor  $4.17 \pm 0.86$  mmol/L). Wanneer die gemiddelde TC-waarde van die blankes met die ouderdomspesifieke afsnyppunte vir blanke Suid-Afrikanners naamlik 5.5 mmol/L (Rossouw *et al.*, 1988) vergelyk word, val dit in die hoërisikogebied vir KHS. Rossouw *et al.* (1985) rapporteer uit resultate van die CORIS-studie 'n gemiddelde TC-waarde van 4.86 mmol/L in 443 blanke mans tussen die ouderdomme van 15 en 19 jaar. Die verskil in TC-waardes tussen die onderhawige studie en dié van Rossouw *et al.* (1985) lê moontlik daarin dat die

dieet wat deur die blankes in die onderhawige studie gevolg is, moontlik nie verteenwoordigend is van die gemiddelde dieet wat deur blankes in Suid-Afrika geëet word nie. In drie groepe studente ( $n=70$ , ouderdom 18 jaar, LMI 22-22.5 kg/m<sup>2</sup>) op 'n vergelykbare dieet was die gemiddelde TC-waardes egter tussen 4.32 en 4.47 mmol/L (Vorster *et al.*, 1992). Dit blyk dus dat hierdie groep blanke mans moontlik 'n hoër gemiddelde TC-waarde as die "populasie" gehad het.

Steyn *et al.* (1991) rapporteer uit resultate van die BRISK-studie 'n gemiddelde TC-waarde van 3.6 mmol/L in 150 swart mans tussen die ouderdomme van 15 en 24 jaar. Walker & Walker (1978) rapporteer gemiddelde TC-waardes van 3.4 mmol/L in 50 plattelandse swart mans tussen die ouderdomme van 16 en 18 jaar. Die TC-waardes van die Vendas was dus hoër wanneer dit met die studies van Steyn *et al.* (1991) en Walker & Walker (1978) vergelyk word, maar steeds binne "normale" grense (Rossouw *et al.*, 1988).

Alhoewel die HDL-C-vlakke nie verskil het nie, het die Vendas 'n betekenisvol hoër persentasie HDL-C van TC gehad ( $29.1 \pm 8.56\%$  teenoor  $22.1 \pm 6.83\%$ ). Persentasie HDL-C vir die CORIS- (Rossouw *et al.*, 1985) en BRISK-studies (Steyn *et al.*, 1991) is as 23.7% bereken vir blanke mans in die CORIS-studie en 36% vir swart mans in die BRISK-studie. Walker & Walker (1978) rapporteer 'n gemiddelde persentasie HDL-C van 44.1% in 50 plattelandse swart mans tussen die ouderdomme van 16 en 18 jaar. In vergelyking met ander vergelykbare studies was die persentasie HDL-C in hierdie studie relatief laag, veral in die Vendas. Alle waardes is egter binne normale grense (Lang & Schnettler, 1985).

Die TG vlakke in beide groepe was dieselfde en heeltemal binne aanbevole grense.

#### 4.4 Veranderlikes van koolhidraatmetabolisme

Die gemiddelde waardes vir serumglukose (Glc), -insulien (Ins) en berekende insuliesensitiwiteitindeks (IS) met standaardafwykings, word in tabel 4.4 opgesom.

Tabel 4.4 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van Glc, Ins en IS

VERANDERLIKE		BLANKES	VENDAS	p-waarde *
Glc (mmol/L)	GEM	4.28	4.08	NB
	SA	0.71	1.12	
Ins ( $\mu\text{E}/\text{mL}$ )	GEM	5.95	4.38	<0.05
	SA	2.05	1.44	
IS	GEM	444.5	581.6	<0.05
	SA	196	176	

\* Student-t-toets

NB = Nie betekenisvol

Vastende serumglukosevlakke van die twee groepe het nie betekenisvol verskil nie. In drie groepe studente ( $n=70$ , ouderdom 18 jaar, LMI 22-22.5  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) op 'n vergelykbare dieet was die gemiddelde vastende glukosewaardes egter tussen 5.1 en 5.2  $\text{mmol}/\text{L}$  (Vorster *et al.*, 1992), wat hoër is as wat in hierdie studie gerapporteer word. Gemiddelde waardes vir vastende glukose in die Vendas vergelyk goed met waardes wat verkry is in 50 swart proefpersone op 'n soortgelyke dieet (Vorster *et al.*, 1987). Vastende insulienvlakke in die Vendas was betekenisvol laer ( $4.08 \pm 1.12 \mu\text{E}/\text{mL}$ ) as in die blankes ( $5.95 \pm 2.05 \mu\text{E}/\text{mL}$ ). Die verskille in insulien het daartoe bygedra dat berekende insuliesensitiwiteit betekenisvol hoër ( $581.6 \pm 176$ ) in die Vendas as in die blankes ( $444.5 \pm 196$ ) was. Serumglukose en -insulienwaardes vir beide groepe het binne die normale reikwydtes van 3.9-6.1  $\text{mmol}/\text{L}$  vir serumglukose en  $< 25 \mu\text{E}/\text{mL}$  vir seruminsulien geval (Kaplan & Pesce, 1989).

#### 4.5 Serumproteïene

Die gemiddelde met standaardafwykings vir totale proteïen (TP) en serumalbumien (Alb) van die twee groepe proefpersone word in tabel 4.5 opgesom.

Tabel 4.5 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van serumproteïene

VERANDERLIKE		BLANKES	VENDAS	p-waarde *
TP (g/L)	GEM	73.3	74.4	NB
	SA	6.8	10.5	
Alb (g/L)	GEM	49.5	48.1	NB
	SA	5.04	4.28	

\* Student t-toets

NB = Nie betekenisvol

Daar is geen betekenisvolle verskille in TP of serumalbumien tussen die twee groepe waargeneem nie. Die gemiddelde waardes vir TP en serumalbumien het ook binne die normale reikwydtes van 66.6-81.4 g/L vir TP, en 33-61.2 g/L vir serumalbumien geval (Kaplan & Pesce, 1989).

#### .4.6 Plasmastollingsfaktore

Die gemiddelde met standaardafwykings vir plasmafibrinogeen (Fgn), faktor V (FV), faktor VII (FVII), faktor VIII (FVIII), faktor X (FX), antitrombien III (ATIII) en plasminogeen (Plg) vir die twee groepe proefpersone word in tabel 4.6 opgesom.

Tabel 4.6 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van plasmastollingsfaktore

VERANDERLIKE		BLANKES	VENDAS	p-waarde *
Fgn (g/L)	GEM	2.22	2.55	<0.05
	SA	0.36	0.38	
FVa (%) **	GEM	93.9	80.3	<0.05
	SA	23.6	13	
FVIIa (%)	GEM	86.6	66.3	<0.01
	SA	18.4	14.2	
FVIIIa (%)	GEM	78.7	99.6	<0.05
	SA	25.8	30.3	
FXa (%)	GEM	91.7	84.2	NB
	SA	14.2	10.2	
ATIII (%)	GEM	141.9	146.7	NB
	SA	9.8	19.2	
Plg (%)	GEM	107.9	116.2	NB
	SA	15.9	19.6	

\* Student-t-toets

\*\* "a" verwys na die aktiwiteit van die faktor wat gemeet is

NB = Nie betekenisvol

Plasmafibrinogeenvlakke was betekenisvol hoër in die Vendas ( $2.55 \pm 0.38$  g/L teenoor  $2.22 \pm 0.36$  g/L). Resultate wat verkry is in die ARIC-studie toon dat daar etniese verskille in plasmafibrinogeenvlakke is. Plasmafibrinogeenvlakke was hoër in swartes as in blankes ( $2.98$  teenoor  $2.85$  g/L) (Folsum *et al.*, 1991). Meade *et al.* (1986b) rapporteer hoër plasmafibrinogeenvlakke in plattelandse swartes in Gambië as in Europese proefpersone. In twee onafhanklike studies rapporteer Vorster *et al.* (1987 en 1992) plasmafibrinogeenvlakke van tussen 2.0 en 2.2 g/L in 70 blanke studente, en tussen 2.8 en 3.5 g/L in 30 plattelandse swartes. In teenstelling hiermee rapporteer Venter *et al.* (1992) geen verskil in plasmafibrinogeenvlakke tussen gesonde plattelandse swartes en blankes nie. Meade *et al.* (1986b) voer aan dat verhoogde plasmafibrinogeenvlakke, veral in plattelandse gemeenskappe die gevolg kan wees van parasitiese infeksies. Alhoewel

die proefpersone in hierdie studie met ondervraging aangedui het dat hulle nie aan parasitiese infeksies gely het nie, is dit moontlik dat hulle onbewustelik parasitiese infeksies gehad het, en dus ook hoër fibrinogeenvlakke as gevolg van 'n akute-faserespons. In hierdie studie is etniese verskille in plasmafibrinogeenvlakke dus waargeneem. Alle plasmafibrinogeenwaardes vir blankes en Vendas het binne die normale grense van 1.8 tot 3.5 g/L geval (Cook & Ubben, 1991).

Faktor  $V_a$  was betekenisvol laer in die Vendas ( $80.3 \pm 13$  % teenoor  $93.9 \pm 23.6$  %).

FVII<sub>a</sub> was betekenisvol laer in die Vendas ( $66.3 \pm 14.2$  % teenoor  $86.6 \pm 18.4$  %). FVII-vlakke in plattelandse swartes in Gambië was ook betekenisvol laer as in proefpersone uit verskillende stede in Europa (Meade *et al.*, 1986b). Resultate van die **Northwick Park Heart Study** dui op laer FVIIa in swartes as in blankes (Meade, 1986; Meade & North, 1977). Merskey *et al.* (1960) en Vermaak *et al.* (1991) rapporteer laer FVII-vlakke in swartes as in blankes. Resultate van die ARIC-studie dui egter op geen etniese verskille in FVII-vlakke nie (Folsum *et al.*, 1991).

FVIII<sub>a</sub> was betekenisvol hoër in die Vendas ( $99.6 \pm 30.3$  % teenoor  $78.7 \pm 25.8$  %). Daar word ook etniese verskille ten opsigte van FVIII gerapporteer. Vir FVIII-vlakke is die omgekeerde as vir FVII waar. FVIII-vlakke is hoër in swartes as in blankes (Merskey *et al.*, 1960; Meade, 1986; Meade & North, 1977; Meade *et al.*, 1986b).

Geen betekenisvolle verskille is ten opsigte van faktor  $X_a$ , ATIII en plasminogeen gemeet nie. Daar was egter 'n neiging na 'n voordeliger stollingsprofiel in die Vendas. Franz *et al.* (1980) rapporteer rasverskille ten opsigte van ATIII-vlakke maar meld nie in watter groep die hoër waardes gemeet is nie. Meade *et al.* (1986b) rapporteer geen etniese verskille ten opsigte van ATIII tussen plattelandse swartes in Gambië en Europese proefpersone nie. Die rasverskille ten opsigte van plasminogeen wat deur Dischinger *et al.* (1980) gerapporteer word, kan nie deur hierdie studie bevestig word nie.

#### 4.7 Fibrinolitiese ensieme

Die gemiddelde met standaardafwykings vir pre-stase tPA en -PAI (tPA 0, PAI 0), post-stase tPA en -PAI (tPA 6, PAI 6) en gekorrigeerde post-stase tPA en -PAI (tPA 6-k, PAI 6-k) vir die twee groep proefpersone word in tabel 4.7 opgesom.

Tabel 4.7 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van fibrinolitiese ensieme

VERANDERLIKE		BLANKES	VENDAS	p-waarde *
tPA 0 (ng/mL) #	GEM	7.77	6.66	NB
	SA	2.5	2.11	
tPA 6 (ng/mL) ##	GEM	5.98	5.99	NB
	SA	2.1	2.81	
tPA 6-k (ng/mL) ###	GEM	5.1	5.39	NB
	SA	1.91	2.59	
PAI 0 (E/mL) #	GEM	11.48	2.75	<0.0001
	SA	4.62	3.03	
PAI 6 (E/mL) ##	GEM	10.39	5.3	<0.01
	SA	5.05	3.63	
PAI 6-k (E/mL) ###	GEM	8.91	4.99	<0.01
	SA	4.34	3.71	

\* Student t-toets

NB = Nie betekenisvol

# 'n waarde met 0 aangedui: pre-stase (basislyn)

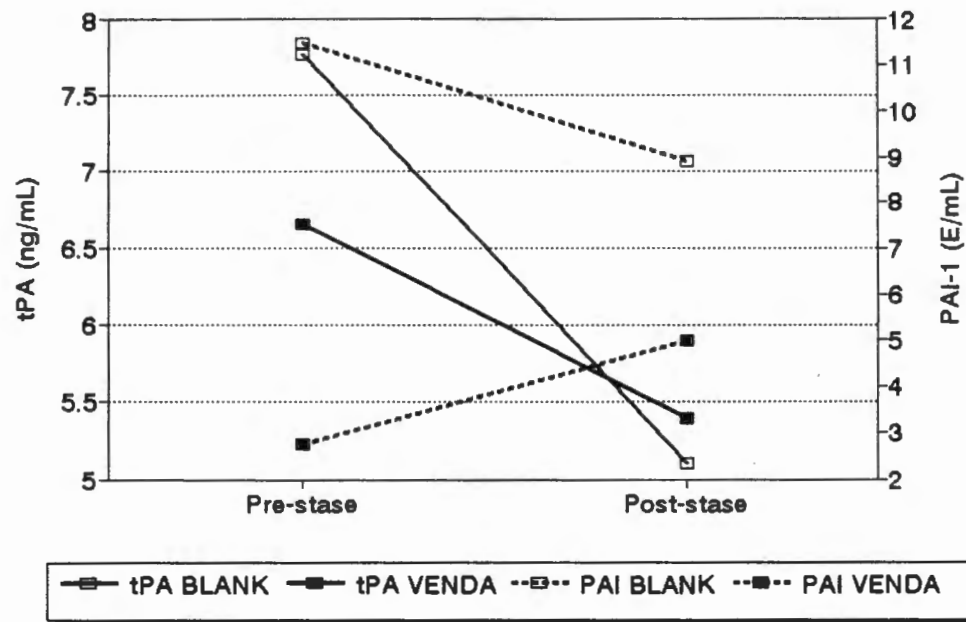
## 'n waarde met 6 aangedui: post-stase (na 6 minute stase)

### 'n waarde met 6-k aangedui: gekorrigeerde post-stasewaarde

Die gemiddelde waardes vir tPA-Ag (tPA 0 in tabel 4.7) tussen die twee groepe het nie betekenisvol verskil nie. Die gemiddelde waardes vir tPA-Ag in die blankes ( $7.77 \pm 2.5$  ng/mL) en vir die Vendas ( $6.66 \pm 2.11$  ng/mL) vergelyk goed met waardes wat deur Rånby *et al.* (1990) ( $5.5 \pm 0.4$  ng/mL), Stegnar *et al.* (1991) (6.1 ng/mL), Gris *et al.* (1991) ( $5.90 \pm 2.6$  ng/mL), Wiczorek *et al.* (1992) ( $5.6 \pm 0.4$  ng/mL) en Rydzewski *et al.* (1990) ( $8.4 \pm 3.0$  ng/mL) gerapporteer word. PAI-aktiwiteit (PAI 0 in tabel 4.7) in die Vendas was  $2.75 \pm 3.03$  E/mL en in die blankes  $11.48 \pm 4.62$  E/mL. Hierdie verskil was hoogs betekenisvol. PAI-aktiwiteit in die blankes ( $11.48 \pm 4.62$  E/mL) vergelyk goed met waardes wat deur Rånby *et al.* (1990) ( $10.4 \pm 0.9$  E/mL), Stegnar *et al.* (1991) (9.4 E/mL) en Gris *et al.* (1991) ( $8.1 \pm 3.6$  E/mL) gerapporteer word. Die PAI-aktiwiteit in die Vendas was merkbaar laer as hierdie waardes. Alhoewel dit nie genoem word nie,

is dit waarskynlik dat die groepe proefpersone wat Rånby *et al.* (1990), Stegnar *et al.* (1991) en Gris *et al.* (1991) gebruik het, uit blankes bestaan het.

In figuur 4.2 word die effek van stase op tPA-Ag en PAI-1 aktiwiteit opgesom.



Figuur 4.2 Die verandering in tPA- PAI-vlakke, voor en na stase in blankes en Vendas

Na veneuse stase en korrigering vir hemokonsentrasie, was daar nie 'n verhoging in tPA-Ag (tPA 6-k in tabel 4.7) in enige van die twee groepe nie. Hierdie resultate is in teenstelling met dié van Rånby *et al.* (1990) wat 'n verhoging ( $5.5 \pm 0.4$  ng/mL na  $29.3 \pm 2.4$  ng/mL) in tPA-Ag gekry het na veneuse stase. Stegnar *et al.* (1991) kry 'n verhoging van 6.1 ng/mL (pre-stase) na 26.5 ng/mL (post-stase) in gesonde proefpersone. Dieselfde respons word deur Gris *et al.* (1991) in gesonde proefpersone gerapporteer, naamlik dat tPA-Ag na veneuse stase van  $5.90 \pm 2.6$  ng/mL na  $26.7 \pm 5.7$  ng/mL verhoog. Hamsten *et al.* (1985) en Wiman *et al.* (1985) rapporteer ook 'n verhoging in tPA-Ag in respons op veneuse stase.

PAI-aktiwiteit het betekenisvol verhoog na veneuse stase en korrigering vir hemokonsentrasie (PAI 6-k in tabel 4.7) in die Vendas ( $2.75 \pm 3.03$  E/mL na  $4.99 \pm 3.71$  E/mL), maar in die blankes het PAI-aktiwiteit gedaal ( $11.48 \pm 4.62$  E/mL na  $8.91 \pm 4.34$  E/mL). Hierdie daling was egter nie betekenisvol nie. Die reaksie van die blankes vergelyk goed met Rånby *et al.* (1990) se resultate. Hulle

rapporteer 'n verlaging in PAI-aktiwiteit na veneuse stase ( $10.4 \pm 0.9$  E/mL na  $8.1 \pm 0.9$  E/mL) in gesonde proefpersone. Dit is belangrik om hier te onthou dat in hierdie studie van dieselfde metodes gebruik gemaak is as in dié van Rånby *et al.* (1990). Die resultate van Rånby *et al.* (1990) het dus goeie vergelykende waarde. Stegnar *et al.* (1991) kry 'n verlaging in PAI-aktiwiteit van 9.4 E/mL (pre-stase) na 0 E/mL (post-stase) in gesonde proefpersone. Gris *et al.* (1991) rapporteer 'n soortgelyke respons in gesonde proefpersone, PAI-aktiwiteit verlaag na veneuse stase van  $8.1 \pm 3.6$  E/mL na  $0 \pm 0.5$  E/mL.

#### 4.8 Korrelasies tussen gemete parameters

Die belangrikste betekenisvolle ( $p < 0.05$ ) korrelasiekoëffisiënte (r-waarde) van die hele groep proefpersone word in tabel 4.8 opgesom.

Tabel 4.8 Betekenisvolle korrelasie koëffisiënte in Venda- en blanke groepe saam (n=32)

PARAMETER	r-WAARDE	p-waarde *
PAI-1 x Fgn	-0.41	<0.03
PAI-1 x Ins	0.58	<0.0005
PAI-1 x IS	-0.5	<0.004
PAI-1 x FVII	0.48	<0.007
PAI-1 x massa	0.47	<0.007
tPA x FVII	0.4	<0.04
tPA x FX	0.45	<0.02
FV x FVII	0.59	<0.0008
FV x FX	0.73	<0.0001
FV x Plg	0.36	<0.05
FVII x Alb	-0.37	<0.05
FVII x massa	0.38	<0.05
FVII x FX	0.61	<0.0004
FX x Plg	0.39	<0.03
ATIII x Plg	0.53	<0.002

\* Pearson korrelasiekoëffisiënt

Die korrelasie in hierdie studie tussen PAI-1 en insulien is hoogs betekenisvol. In 'n nie-diabetiese groep proefpersone rapporteer Vague *et al.* (1986) 'n korrelasie tussen PAI-1 en insulien van  $r=0.521$ . Die korrelasie tussen PAI-aktiwiteit en insulien word beskryf deur onder andere Stegnar & Pentek (1992) en Juhan-Vague *et al.* (1989).

Die korrelasie tussen PAI-1 en insuliensensitiwiteit ( $r=-0.5$ ) was betekenisvol. 'n Soortgelyke korrelasie tussen insulienweerstand en PAI-1 word in 'n groep obese proefpersone en obese tipe II-diabete gerapporteer (Kluft *et al.*, 1992).

Die korrelasie tussen PAI-aktiwiteit en massa ( $r=0.47$ ) is in ooreenstemming met resultate van Sundell *et al.* (1989) wat ook 'n korrelasie tussen PAI-aktiwiteit en massa rapporteer ( $r=0.68$ ).

Die korrelasie tussen PAI-aktiwiteit en FVIIa ( $r=0.48$ ) is in ooreenstemming met resultate van Gris *et al.* (1990) wat korrelasie ( $r=0.86$ ) tussen PAI-aktiwiteit en FVIIa gerapporteer het.

'n Nuwe korrelasie wat in hierdie studie na vore tree is die tussen PAI-aktiwiteit en plasmafibrinogeen ( $r=-0.41$ ).

Een van die vernaamste korrelasies, die tussen PAI-aktiwiteit en trigliseriede (Hamsten *et al.*, 1985; Mehta *et al.*, 1987; Stegnar, *et al.*, 1991), het nie voorgekom nie. 'n Moontlike rede hiervoor sou wees omdat die variasie in trigliseriede binne die groepe so klein was. Daar is geen korrelasie tussen PAI-1 en LMI gekry nie. (Daar was wel 'n korrelasie van  $r=0.47$  tussen PAI-1 en massa). Hierdie bevinding is in teenstelling met die van verskeie ander outeurs (Auwerx *et al.*, 1988; Gris *et al.*, 1990; Juhan-Vague *et al.*, 1989; Siegert *et al.*, 1992). 'n Moontlike verklaring hiervoor sou wees dat die groep so homogeen ten opsigte van LMI was. In hierdie studie het die bekende korrelasie tussen tPA-Ag en PAI-aktiwiteit (Eliasson *et al.*, 1992) ook nie voorgekom nie.

Die korrelasie tussen FVIIa en massa ( $r=0.38$ ) is in ooreenstemming met resultate van Balleisen *et al.* (1985) wat ook 'n korrelasie tussen FVIIa en massa rapporteer.

Ander korrelasies wat in hierdie studie gevind is, en wat sover vasgestel kon word nog nie elders gerapporteer nie, is dié tussen tPA-Ag en FVIIa, tPA-Ag en FXa, FVa en FVIIa, FVa en FXa, FVa en Plg, FVIIa en Alb, FVIIa en FXa, FXa en Plg en dié tussen ATIII en Plg.

## HOOFSTUK 5

### BESPREKING

#### 5.1 Inleiding

Die onderhawige studie is ontwerp om vas te stel of daar verskille in bloedstollingsfaktore en fibrinolitiese ensieme tussen blankes en Vendas is, en of die fibrinolitiese veranderlikes plasmafibrinogeen beïnvloed. Om die vergelyking van die twee groepe geldig te maak is proefpersone volgens streng in- en uitsluitingskriteria gekies. Dit het meegebring dat die groepe baie homogeen ten opsigte van sekere algemene veranderlikes soos geslag, ouderdom, liggaamsmassa-indeks, bloedglukose, HDL-cholesterol, totale serumproteïene en serumalbumien was. Verskille wat wel voorgekom het kon dus waarskynlik aan óf die dieet van die proefpersone, óf aan etnisiteit toegeskryf word.

Die belangrikste resultate van die studie word kortliks in tabel 5.1 opgesom.

Tabel 5.1 Opsomming van die belangrikste resultate van die studie

VERANDERLIKE	BETEKENISVOLLE VERSKILLE
Dieet.....	Blankes: Hoë-vet, lae-koolhidraat, lae-veseldieet
.....	Vendas: Lae-vet, hoë-koolhidraat, hoë-veseldieet
TC.....	Val in hoë risikogebied vir KHS by die blankes
%HDL-C.....	Hoër in die Vendas
Insulien.....	Hoër in die blankes
Insuliesensitiwiteit (IS)	Laer in die blankes
Fibrinogeen (Fgn).....	Hoër in die Vendas
FVa.....	Laer in Vendas
FVIIa.....	Laer in Vendas
FVIIIa.....	Hoër in Vendas
tPA-Ag.....	Dieselfde in beide groepe
PAI-aktiwiteit.....	Laer in Vendas
Respons op veneuse stase..	Gedeeltelik "normale" respons in die blankes
	Unieke respons in die Vendas

Die meeste van die verskille in biochemiese veranderlikes wat in hierdie studie bevind is, kan aan die hand van verskille in dieetgewoontes verklaar word. Daar is egter ander moontlikhede wat nie uitgesluit kan word nie. Vervolgens word verskillende moontlike verklarings vir die resultate van hierdie studie beredeneer.

#### 5.2 Serumlipiede

Dit is bekend dat 'n hoë inname van totale vet en veral versadigde vetsure, serumcholesterol kan verhoog (Ulbricht & Southgate, 1991). In 'n onlangse oorsig bespreek Anderson *et al.*, (1990) die voordelige effekte van dieetvesel op serumcholesterolvlakke in die mens, asook moontlike meganismes waardeur

dieetvesel cholesterolvlakke kan beïnvloed. 'n Waarskynlike verklaring vir die hoër TC-vlakke in die blankes sou wees dat hulle meer versadigde vetsure en minder dieetvesel ingeneem het en dat hierdie faktore saam, die TC-vlakke sou kon verhoog het.

Die verskille in die persentasie HDL-C tussen die twee groepe is nie as gevolg van verskille in HDL-C-vlakke nie, aangesien die HDL-C-vlakke bykans dieselfde in beide groepe was. Die verskille is die gevolg van die hoër TC-waardes in die blankegroep.

### 5.3 Koolhidraatmetabolisme

Maron *et al.* (1991) rapporteer 'n onafhanklike betekenisvolle verband tussen die hoër inname van versadigde vetsure en hoër insulienvlakke. Hierdie bevinding verklaar moontlik die hoër vastende insulienwaardes in die blankes. 'n Verhoogde dieetveselinname veroorsaak verder 'n verbetering in IS in diabetiese proefpersone (Vorster, 1987). Euglukemiese insulien-klemstudies in gesonde- en diabetiese proefpersone toon dat IS aansienlik toeneem na 'n verhoogde dieetveselinname (Anderson, 1986). Dit is dus moontlik dat die laer inname van vesel en die hoër inname van verfynde koolhidrate in die blankegroep die oorsaak van die hoër insulienvlakke was.

### 5.4 Bloedstolling- veranderlikes

Die Vendas se gemiddelde plasmafibrinogeen was betekenisvol hoër as dié van die blankes. Die eerste moontlikheid is dat daar etniese verskille ten opsigte van plasmafibrinogeenvlakke bestaan. Resultate wat verkry is in die **Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC)**-studie in Amerika, toon dat daar wel etniese verskille in plasmafibrinogeenvlakke voorkom. Plasmafibrinogeenvlakke was hoër in swartes as in blankes (Folsum *et al.*, 1991). Meade *et al.* (1986) rapporteer ook hoër plasmafibrinogeenvlakke in plattelandse swartes in Gambië as in Europese proefpersone. In teenstelling met bogenoemde, het Venter *et al.* (1992) egter onder Suid-Afrikaanse bevolkingsgroepe bevind dat gesonde plattelandse swartes met 'n goeie voedingstatus se fibrinogeenvlakke dieselfde as dié van blankes was, maar dat verstedelike swartes betekenisvol hoër plasmafibrinogeenvlakke gehad het. Daar is aanduidings in die literatuur dat plasmafibrinogeen tot 'n groot mate deur genetiese faktore bepaal word (Hamsten *et al.*, 1987b).

'n Tweede moontlikheid is dat die Vendas aan parasitiese infeksies gely het. Alhoewel die proefpersone by ondervraging aangedui het dat hulle nie enige parasitiese infeksies gehad het nie, is dit moontlik dat hulle onbewustelik wel aan parasitiese infeksies gely het. Sulke infeksies verhoog plasmafibrinogeen as gevolg van 'n akutfase-respons.

Dit is onwaarskynlik dat die verskil in dieetveselinname, die verskil in plasmafibrinogeen kan verklaar. Fehily *et al.* (1982) rapporteer 'n negatiewe verband tussen plasmafibrinogeenvlakke en die inname van dieetvesel. Dit is dus nie moontlik dat die hoër dieetveselinname van die Vendas die hoër plasmafibrinogeenvlakke tot gevolg gehad het nie. Vorster *et al.* (1988) suggereer 'n moontlike meganisme waardeur 'n verhoogde dieetveselinname mag lei tot dalings in plasmafibrinogeenvlakke. Hierdie meganisme word ondersteun deur eksperimentele bewyse in twee proefdiermodelle, naamlik die Zuckervetrot (Venter *et al.*, 1991) en die bobbejaan (Venter *et al.*, 1990). Dit is onduidelik watter rol dieetveselinname in die bepaling van plasmafibrinogeenvlakke van proefpersone gespeel het. Die moontlikheid kan nie uitgesluit word dat ander dieetbestanddele plasmafibrinogeen kon beïnvloed het nie.

Daar is drie of 'n kombinasie van drie moontlike verklarings vir die verskille in FVIIa tussen die twee groepe. Uitgesproke rasverskille word vir FVIIa gerapporteer. FVII-vlakke in plattelandse swartes in Gambië was betekenisvol laer as in proefpersone uit verskillende stede in Europa (Meade *et al.*, 1986). Resultate van die **Northwick Park Heart Study** dui ook op laer FVIIa in swartes as in blankes (Meade, 1986; Meade & North, 1977). Merskey *et al.* (1960) en Vermaak *et al.* (1991) rapporteer laer FVII-vlakke in swartes as in blankes. Vermaak *et al.* (1991) toon dat swartes en blankes wat aan dieselfde omgewing en dieet blootgestel is vir 'n jaar, steeds verskille ten opsigte van FVIIa toon. Dit is dus moontlik dat die gemete verskille ras- of genetiese verskille is. Resultate van die ARIC-studie dui egter nie op etniese verskille in FVIIa nie (Folsom *et al.*, 1991).

Miller *et al.* (1986) rapporteer 'n sterk verband tussen FVIIa en die inname van dieetvet. Dit is moontlik dat die hoër vetinname verantwoordelik kon wees vir die hoër FVIIa in die blankes.

Dieetvesel verlaag FVII-vlakke in tipe II-diabete (Simpson *et al.*, 1982). Die hoër dieetveselinname kan moontlik verantwoordelik wees vir die laer FVIIa in die Vendas.

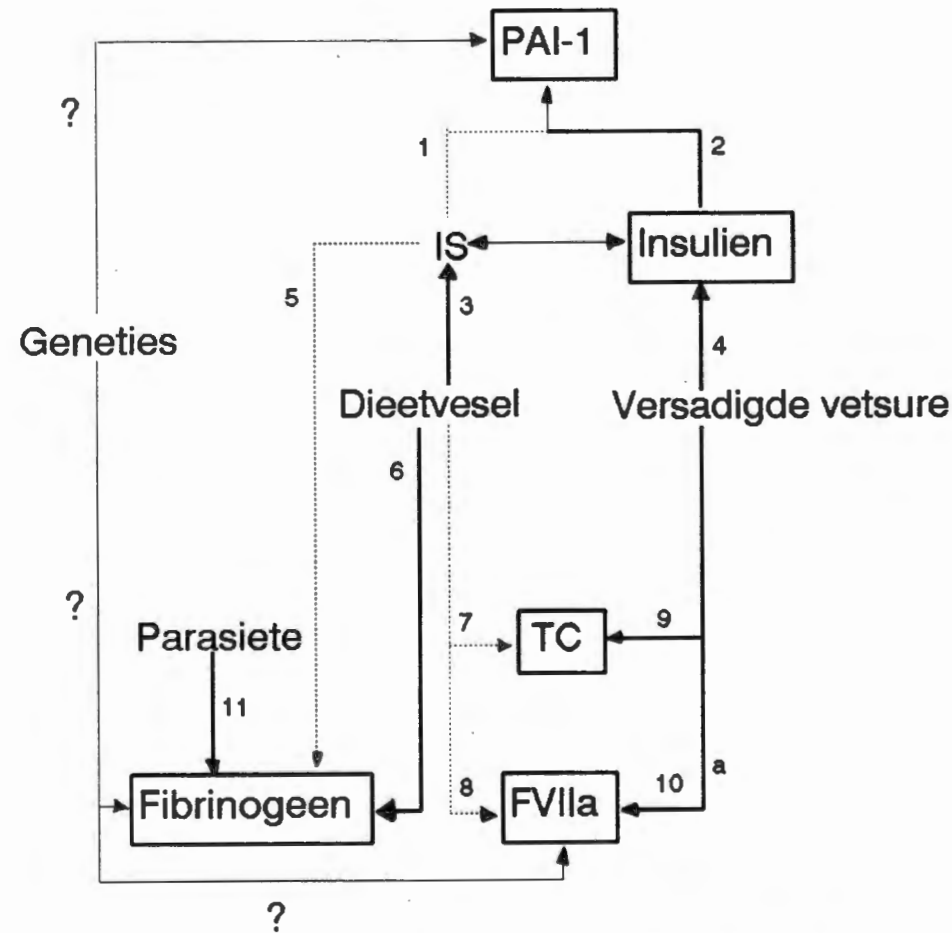
Alhoewel etniese verskille in FVIIIa voorheen gerapporteer is (Merskey *et al.*, 1960; Meade, 1986; Meade & North, 1977), is daar nog nie 'n moontlike verklaring daarvoor aangebied nie. Die verskille ten opsigte van FVa kan ook nie op grond van beskikbare inligting verklaar word nie.

## 5.5 Fibrinolitiese veranderlikes

Die belangrikste bevinding van hierdie studie is die hoogs betekenisvolle verskil in PAI-aktiwiteit tussen die blankes en die Vendas. Haverkate (1990) meen dat insulienweerstand eerder as verhoogde insulienvlakke die oorsaak van verhoogde PAI-vlakke is. Hierdie mening word deur Klufft *et al.* (1992) in 'n onlangse oorsig

gestaaf. Dit is bekend dat verhoogde PAI-vlakke voorkom tydens toestande van insulienweerstand (Juhan-Vague *et al.*, 1989; Vague *et al.*, 1986). In hierdie studie was daar 'n betekenisvolle verskil ten opsigte van insulien en insulien sensitiwiteit tussen die twee groepe. Die moontlike rol van versadigde vetsure en dieetvesel in die bepaling van insulienvlakke en insulien sensitiwiteit is reeds bespreek.

In figuur 5.1 word die moontlike verklarings vir resultate wat in hierdie studie verkry is en soos hierbo bespreek is, skematies uiteengesit.



= risikofaktor vir KHS      ..... = verlaging  
 ————— = verhoging

Sleutel vir verwysings en notas

- |                                  |                                 |                                |
|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1. Kluft <i>et al.</i> , 1992    | 2. Landin <i>et al.</i> , 1991  | 3. Vorster, 1987               |
| 4. Maron <i>et al.</i> , 1991    | 5. Vorster <i>et al.</i> , 1988 | 6. Fehily <i>et al.</i> , 1982 |
| 7. Anderson <i>et al.</i> , 1990 | 8. Simpson <i>et al.</i> , 1982 | 9. Ulbricht & Southgate, 1991  |
| 10. Miller <i>et al.</i> , 1986  | 11. Meade <i>et al.</i> , 1986  |                                |
- a. Hoë-vetdieet wat versadigde vetsure insluit  
 ? Onseker

Figuur 5.1 Skematiese uiteensetting van moontlike verklarings vir resultate in hierdie studie

Die eerste moontlike verklaring vir die verskille ten opsigte van PAI-vlakke is dat dieet, en in besonder die hoër inname van versadigde vetsure en laer inname van dieetvesel in die blankes, aanleiding kon gee tot die hoër insulienvlakke en laer insulien sensitiwiteit. Die hoër insulienvlakke en laer insulien sensitiwiteit sou die hoër PAI-vlakke tot gevolg kon hê. Die betekenisvolle korrelasies tussen PAI-aktiwiteit en onderskeidelik insulien en insulien sensitiwiteit in hierdie studie ondersteun hierdie verklaring.

'n Tweede moontlikheid is dat die gemete verskille in PAI-vlakke die gevolg van 'n geneties-vasgestelde toestand in een van die twee groepe is. Hierdie studie is egter nie ontwerp om hierdie vraag te beantwoord nie.

Ander faktore soos obesiteit, diabetes mellitus, rook, ouderdom, geslag, chroniese infeksie of bestaande KHS, wat moontlik 'n rol kon speel in die bepaling van enige van die gemete veranderlikes is met die omskrywing van die kriteria waaraan die proefpersone moes voldoen uitgeskakel. Die enigste twee faktore waarvoor daar nie gekontroleer is nie, was dieet en ras.

#### **5.6 Die effek van veneuse stase op fibrinolitiese veranderlikes**

Dit is belangrik om veranderinge in tPA-Ag en PAI-aktiwiteit na stase saam te evalueer. tPA-Ag bestaan uit alle vorme van tPA. Dit sluit aktiewe-, onaktiewe-, asook tPA wat in kompleks met PAI-1 is in. 'n Verhoging in tPA-Ag sou dus die gevolg kon wees van verhoogde tPA-aktiwiteit (vrystelling van tPA) of verhoogde kompleksvorming met PAI-1.

Die twee groepe het verskillend gereageer op veneuse stase. Die "normale" reaksie op veneuse stase is dat tPA-Ag-vlakke minstens verdubbel en dat PAI-aktiwiteit daal (Gris *et al.*, 1991; Rånby *et al.*, 1990; Stegnar *et al.*, 1991). Die resultate wat hier gerapporteer word is uniek omdat daar geen tPA-Ag-verhoging na veneuse stase was in enige van die groepe nie. Die verlaging in PAI-vlakke na stase in die blankes is in ooreenstemming met ander outeurs (Gris *et al.*, 1991; Rånby *et al.*, 1990; Stegnar *et al.*, 1991). Die verhoging in PAI-aktiwiteit na stase in die Vendas is 'n unieke bevinding.

Dit is moeilik om die resultate van hierdie studie ten opsigte van veneuse stase te interpreteer. Aangesien daar in die blankegroep nie 'n verhoging in tPA-Ag was nie, beteken dit dat daar geen verhoging in tPA-vrystelling was nie. Daar was ook nie 'n verhoogde kompleksvorming tussen tPA en PAI-1 nie. Die verlaging in PAI-aktiwiteit was nie die gevolg van verhoogde kompleksvorming tussen vrygestelde tPA en PAI-1 nie, omdat tPA-Ag nie verhoog het nie. Daar moet dus 'n ander verklaring daarvoor wees.

In die Vendas was daar nie 'n verhoging in tPA-Ag nie, dit beteken dat daar geen verhoging in tPA-vrystelling was nie. Daar was ook nie 'n verhoogde kompleksvorming tussen tPA en PAI-1 nie. Die verhoging in PAI-aktiwiteit kan moontlik die gevolg van verhoogde PAI-vrystelling of aktivering van latente PAI-1 wees.

'n Moontlike verklaring vir die onverwagse resultate is dat die ses minute waartydens veneuse stase toegepas is, moontlik te kort was. Hierdie verklaring is onwaarskynlik omdat stase vir vyf minute genoeg is om 'n respons te verkry (Walker *et al.*, 1976). Daar kan waarskynlik geen rol aan dieet toegeskryf word wat die response op veneuse stase kon beïnvloed nie. Die laaste moontlikheid is dat die verskille etniese verskille is. Daar moet egter onthou word dat waneer die blankes se respons met ander outeurs se resultate vergelyk word, hulle respons ook nie "normaal" was nie. Dit is dus moeilik om die waarskynlikheid van hierdie verklaring te bepaal.

## HOOFSTUK 6

### GEVOLGTREKKINGS EN AANBEVELINGS

Dieet het 'n belangrike rol gespeel in die bepaling van TC, persentasie HDL-C en insulienvlakke.

Daar is duidelike rasverskille ten opsigte van PAI-vlakke. Hierdie verskille sou kon bydra tot die verskille in fibrinolitiese aktiwiteit tussen blankes en swartes. Die ontwerp van hierdie studie maak dit egter nie moontlik om die gevolgtrekking te maak dat verskille as gevolg van dieet of etnisiteit is nie.

Die studie het 'n betekenisvolle verwantskap tussen PAI-1 en insuliensensitiwiteit getoon. Die rol van insuliensensitiwiteit as determinant van PAI-vlakke behoort dus in meer diepte nagevors te word.

In die afwesigheid van ander kompliserende faktore behoort hoër PAI-vlakke met hoër plasmafibrinogeenvlakke gepaard te gaan. In die Vendas het die laer PAI-vlakke met hoër plasmafibrinogeenvlakke gepaard gegaan en in die blankes het die hoër PAI-vlakke met laer plasmafibrinogeenvlakke gepaard gegaan. Verder is daar 'n negatiewe korrelasie tussen PAI-1 en plasmafibrinogeen waargeneem. In hierdie studie is daar geen aanduiding dat PAI-1 'n belangrike bepaler van plasmafibrinogeenvlakke is nie. Indien dit 'n rol sou speel is die effek van ander faktore wat plasmafibrinogeen beïnvloed, waarskynlik groter as dié van PAI-aktiwiteit.

Die moontlikheid dat die hoër plasmafibrinogeen in die Vendas die gevolg van onbewuste chroniese, lae-graadse infeksies was, moet eers uitgeklaar word voordat daar gevolgtrekkings oor etniese verskille in fibrinogeenvlakke gemaak kan word.

Daar kan nie finale gevolgtrekkings oor die verskille in respons op veneuse stase gemaak word nie, omdat nie een van die twee response vergelykbaar was met resultate van ander outeurs nie. Dit is egter nodig om meer aandag aan hierdie verskille te gee.

#### **Voorstelle vir verdere studie**

Die onderhawige studie het betekenisvolle verskille tussen die Venda- en blanke proefpersone ten opsigte van plasmafibrinogeen en PAI-aktiwiteit aangetoon. Omdat die dieet van die twee proefgroepe betekenisvol verskil het, is dit egter nie moontlik om die verskille aan ras of dieet toe te skryf nie. Daarom word die volgende verdere studies voorgestel:

Om die effek van ras te bepaal: 'n Vergelykbare studie waarin swart- en blanke proefpersone slegs op grond van ras verskil.

Om die effek van dieet te bepaal: 'n Studie waarin die dieet van 'n groep stedelike swartes op 'n plattelandse dieet, verander word na 'n westerse dieet, en 'n groep blankes met 'n tipies westerse dieet se dieet verander word om meer in pas te kom met riglyne van die omsigtige dieet.

EFA en  $\alpha_2$ -antiplasmin behoort saam met PAI-1 gemeet te word om rasverskille in FA te bevestig en om die moontlike invloed van  $\alpha_2$ -antiplasmin op FA te bepaal.

'n Prospektiewe studie om te bepaal of hoë PAI-vlakke in gesonde jong persone 'n risikofaktor vir KHS in hul latere lewens is, is ook noodsaaklik. Daar behoort ook gekyk te word of verhoogde PAI-vlakke patogenies is en of dit net 'n merker van onderliggende siekte is.

## **LYS VAN FIGURE**

**Figuur 2.1** Skematiese uiteensetting van die intrinsieke- en ekstrinsieke weë van die stollingskaskade.

**Figuur 2.2** Skematiese uiteensetting van die fibrinolitiese sisteem.

**Figuur 2.3** Die regulering van PAI-1.

**Figuur 4.1** Persentasie energiever spreiding in die blanke- en Venda diëte.

**Figuur 4.2** Die verandering in tPA- en PAI-vlakke, voor en na stase in blankes en Vendas.

**Figuur 5.1** Skematiese uiteensetting van moontlike verklarings vir resultate in hierdie studie.

## **LYS VAN TABELLE**

Tabel 2.1 Korrelasies tussen PAI-aktiwiteit en ander veranderlikes.

Tabel 2.2 Opsomming van die effek van dieet op PAI-aktiwiteit in verskillende groepe.

Tabel 4.1 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van besonderhede van proefpersone.

Tabel 4.2 Gemiddelde daaglikse nutriëntinname van die blankes en die Vendas.

Tabel 4.3 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van serumlipiede en -lipoproteïene.

Tabel 4.4 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van Glc, Ins en IS.

Tabel 4.5 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van serumproteïene.

Tabel 4.6 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van plasmastollingsfaktore.

Tabel 4.7 Gemiddelde waardes met standaardafwykings van fibrinolitiese ensieme.

Tabel 4.8 Betekenisvolle korrelasiekoëffisiënte in Venda- en blanke groepe saam (n=32).

Tabel 5.1 Opsomming van die belangrikste resultate van die studie.

## LYS VAN AFKORTINGS

ACL 200	Automated Coagulation Laboratory 200
Alb	Albumien
APTT	Geaktiveerde-gedeeltelike tromboplastientyd
ARIC	Atherosclerosis Risk In Communities
ATIII	Antitrombien III
bFGF	Basiese-fibroblast-groefaktor
BM	Boehringer Mannheim
dL	Desiliter
DVT	Trombose van die diep venes
E	Eenhede
EGF	Epidermale groefaktor
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
ESM	Ekstrasellulêre matriks
FDP	Fibrien afbraakprodukte
$\mu$ E	Mikro-eenhede
$\mu$ g	Mikrogram
Fgn	Fibrinogeen
FIX	Faktor IX
FVII	Faktor VII
FVIIa	Faktor VII-aktiwiteit
FVIIc	Faktor VII-aktiwiteit
FVIII	Faktor VIII
FVIIIa	Faktor VIII-aktiwiteit
FX	Faktor X
FXI	Faktor XI
g	Gram
G-CSF	Granulosiet-kolonie stimulerende faktor
Glc	Glukose
GM-CSF	Granulosiet-makrofage-kolonie stimulerende faktor
HDL-C	Hoëdigheidslipoproteïen-cholesterol
HUVEC	Endoteelselle uit die menslike umbilikale vene
IgG	Immunoglobulien G
IL	Instrumentation Laboratories
IL-1	Interleukin-1
Ins	Insulien
IS	Indeks van insuliensensitiwiteit
ISAC	Immunological Specificity and Accuracy Control
jr	Jaar
Kat. no.	Katalogusnommer

kg	Kilogram
KHS	Koronêre hartvatsiekte
kJ	Kilojoule
L	Liter
LDL	Laedigheidslipoproteïen
LDL-C	Laedigheidslipoproteïen-cholesterol
LMI	Liggaamsmassa-indeks
Lp(a)	Lipoproteïen(a)
LPS	Lipopolisakkariede
m	Meter
M	Molaar
mg	Milligram
MI	Miokardiale infarksie
mL	Milliliter
mmol	Millimol
mol	Mol
$M_r$	Molekulêre massa
mRNA	Boodskapper ribonukleïnsuur
m <sup>2</sup>	Vierkante meter
ng	Nanogram
nm	Nanometer
NPHS	Northwick Park Heart Study
NRIND	Nutrition Research Institute for Nutritional Diseases
PAI-1	Plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1
PAI-2	Plasminogeenaktiveerderinhibeerder-2
PAI-3	Plasminogeenaktiveerderinhibeerder-3
PDGF	Plaatjie afgeleide-groefaktor
PT	Protrombientyd
RIA	Radio-immunoassay
rpm	Rotasies per minuut
s	Sekonde
SAW	Suid-Afrikaanse Weermag
SDS-PAGE	Natriumdodesielsulfaat-poliakrielamied-gelelektroforese
TC	Totale cholesterol
TG	Triglisieriede
TGF $\beta$	Transformerende groefaktor- $\beta$
TNF $\alpha$	Tumor nekrose faktor- $\alpha$
TP	Totale proteïen
tPA	Weefselplasminogeenaktiveerder
tPA-Ag	Weefselplasminogeenaktiveerder-antigeen

uPA  
VLDL-C  
°C

Urokinase  
Baie-laedigheidslipoproteïen-cholesterol  
Grade Celcius

## **BEDANKINGS**

Aan God kom alle eer toe.

Hiermee wil ek my dank teenoor die volgende persone uitspreek:

Prof. H.H. Vorster vir haar uitstekende leiding, haar bereidwilligheid om in mense te belê, en haar voorbeeld as navorser.

Prof. P.J. Pretorius vir sy bereidwilligheid om as medeleier op te tree.

Welma Oosthuizen wat deurgaans by die hele studie betrokke was, vir haar raad en daad.

Dr C.S. Venter wat altyd en op kort kennisgewing bereid was om te help, vrae te beantwoord, en wat die verhandeling geproeflees het.

Dr N. Silvis vir haar positiewe bemoediging en die statistiese verwerking van die resultate. Ek bedank haar ook graag vir die dieetkonsultasie met die SAW-dienspligtiges, die verwerking van die dieetresultate, die raad met die interpretering van die diëte, en die proeflees van die verhandeling.

Handri Kellerman vir die proeflees van die verhandeling, die hulp tydens die versameling van bloedmonsters, en die uitvoering van die dieetopnames.

Derick Veldman en Anesta Verster vir die hulp tydens die versameling van bloedmonsters en die uitvoering van die dieetopnames.

Prof. W.J.H. Vermaak en Dr D.J. van Staden vir die Venda-geleentheid wat hulle geskep het en die hulp met die bloedtrek tydens die Venda-besoek.

Kol. P.M. Müller, Lt. Gerhard Pienaar, Suster Sonja Thiele van Danie Theron Krygskool op Potchefstroom, vir hulle vriendelike en effektiewe hulp met die SAW-proefpersone.

Al my proefpersone wat nooit sal weet hoe ek dit waardeer dat hulle gebloei het nie.

Michelle en JD vir die vreugde wat hulle bring.

Mnr. D. Gouws van die Eierraad, die Stigting vir Navorsingsontwikkeling, en Prof J.C. Geertsema vir finansiële steun gedurende die studietyperk.

## **KONGRESVOORDRAGTE**

Die resultate van hierdie studie is reeds op die volgende kongresse voorgedra:

1. Die jaarkongres van die Fisiologiese Vereniging van Suidelike-Afrika. Klub Mykonos, Langebaan. 15-18 September 1992.
2. Kongres van die Buro Van Voortgesette Mediese Onderrig. Thrombosis and haemostasis, basic and controversial issues. Universiteit van Pretoria, Pretoria. 24-26 September 1992.

## BIBLIOGRAFIE

AILLAUD, M.F., JUHAN-VAGUE, I., ALESSI, M.C., MARECAL, M., VINSON, M.F., ARNAUD, C., VAGUE, P. & COLLEN, D. 1985. Increased PA-inhibitor levels in the postoperative period - no cause-effect relation with increased cortisol. **Thrombosis and haemostasis**, 54: 466-468.

AILLAUD, M.F., PIGNOL, F., ALESSI, M.C., HARLE, J.R., ESCANDE, M., MONGIN, M. & JUHAN-VAGUE, I. 1986. Increase in plasma concentration of plasminogen activator inhibitor, fibrinogen, von Willebrand factor, factor VII:c and in erythrocyte sedimentation rate with age. **Thrombosis and haemostasis**, 55: 330-332.

ALESSI, M.C., JUHAN-VAGUE, I., KOOISTRA, T., DECLERCK, P.J. & COLLEN, D. 1988. Insulin stimulates the synthesis of plasminogen activator inhibitor 1 by the human hepatocellular cell line HepG2. **Thrombosis and haemostasis**, 60: 491-494.

ALMÉR, L-O. & ÖHLIN, H. 1987. Elevated levels of the rapid inhibitor of plasminogen activator (t-PAI) in acute myocardial infarction. **Thrombosis research**, 47: 335-339.

ANDERSON, J.W., DEAKINS, D.A., FLOORE, T.L., SMITH, B.M. & WHITIS, S.E. 1990. Dietary fiber and coronary heart disease. **Critical reviews in food science and nutrition**, 29: 95-147.

ANDREASEN, P.A., PYKE, C., RICCIO, A., KRISTENSEN, P., NIELSEN, L.S., LUND, L.R., BLASI, F. & DANO, K. 1987. Plasminogen activator inhibitor type 1 biosynthesis and mRNA level are increased by dexamethasone in human fibrosarcoma cells. **Molecular and cellular biology**, 7: 3021-3025.

ANDREASEN, P.A., RICCIO, A., WELINDER, K.G., SARTORIO, R., NIELSEN, L.S., OPPENHEIMER, C., BLASI, F. & DANO, K. 1986. plasminogen activator inhibitor type-1: Reactive center and amino terminal heterogeneity determined by protein and cDNA sequencing. **FEBS letters**, 209: 213-218.

ANFOSSO, F., ALESSI, M.C., SUCCO, E., CHOMIKI, N. & JUHAN-VAGUE, I. 1992. Metformin inhibits the insulin-mediated PAI-1 synthesis by HepG2 cells. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 124.

AOKI, N. & HARPEL, P.C. 1984. Inhibitors of the fibrinolytic enzyme system. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, 10: 24-41.

AOKI, N. & VON KAULLA, K.N. 1971. Human serum plasminogen antiactivator: Its distinction from antiplasmin. **American journal of physiology**, 220: 1137-1145.

ASSOIAN, R.K. & SPORN, M.B. 1986. Type  $\beta$  transforming growth factor in human platelets: release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells. **The journal of cell biology**, 102: 1217-1223.

ÅSTEDT, B., LECANDER, I. & NY, T. 1987. The placental type plasminogen activator inhibitor, PAI-2. **Fibrinolysis**, 1: 203-208.

AUWERX, J., BOUILLON, R., COLLEN, D. & GEBOERS, J. 1988. Tissue-type plasminogen activator antigen and plasminogen activator inhibitor in diabetes mellitus. *Arteriosclerosis*, 8: 68-72.

BACHMANN, F. & KRUTHOF, E.K.O. 1984. Tissue plasminogen activator: chemical and physiological aspects. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 10: 6-17.

BALLEISEN, L., ASSMANN, G., BAILEY, J., EPPING, P.H., SCHULTE, H. & VAN DE LOO, J. 1985. Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population - II. Baseline data on the relation to blood pressure, blood glucose, uric acid and lipid fractions. *Thrombosis and haemostasis*, 54: 721-723.

BANYAI, L., VARADI, A. & PATTHY, L. 1983. Common evolutionary origin of the fibrin-binding structures of fibronectin and tissue-type plasminogen activator. *FEBS letters*, 163: 37-41.

BARTHA, K., DECLERCK, P.J., MOREAU, H., NELLES, L. & COLLEN, D. 1991. Synthesis and secretion of plasminogen activator inhibitor 1 by human endothelial cells *in vitro*. *The journal of biological chemistry*, 266: 792-797.

BEATTIE, A.G., OGSTEN, D., BENNETT, B. & DOUGLAS, A.S. 1976. Inhibitors of plasminogen activation in human blood. *British journal of haematology*, 32: 135-143.

BEERS, W.H. Follicular plasminogen and plasminogen activator and the effect of plasmin on ovarian follicle wall. *Cell*, 6: 379-386.

BERGER, G.M.B. & MARIAS, A.D. 1987. Guidelines to the diagnosis and management of hiperlipidaemia. *South African journal of continuing medical education*, 5: 75-78.

BEVILAQUA, M.P., POBER, J.S., MAJEAU, G.R., FIERS, W., COTRAN, R.S. & GIMBRONE, M.A. 1986b. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 83: 4533-4537.

BEVILAQUA, M.P., SCHLEEF, R.R., GIMBRONE, M.A. & LOSKUTOFF, D.J. 1986a. Regulation of the fibrinolytic system of cultured human vascular endothelium by interleukin 1. *Journal of clinical investigation*, 78: 587-591.

BOOTH, N.A., ANDERSON, J.A. & BENNETT, B. 1985. Platelet release protein which inhibits plasminogen activators. *Journal of clinical pathology*, 38: 825-830.

BRAY, G.A. 1978. Definition, measurement and classifications of the syndromes of obesity. *International journal of obesity*, 2: 99-112.

BREDDIN, K. 1986. Detection of prethrombotic states in patients with atherosclerotic lesions. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 12: 110-123.

BUSSO, N., BELIN, B., FAILLY-CRÉPIN, C. & VASSALLI, J-D. 1987. Glucocorticoid modulation of plasminogen activators and of one of their inhibitors in the human mammary carcinoma cell line MDA-MB-231. *Cancer research*, 47: 364-370.

- CARRELL, R. & TRAVIS, J. 1985.  $\alpha_1$ -antitrypsin and the serpins: variation and countervariation. **Trends in biochemical science**, 10: 20-24.
- CHAKRABARTI, R., HOCKING, E.D., CALCUTTA, M.B., CANTAB, M.B., FEARNLEY, G.R., MANN, R.D., ATTWELL, T.N. & JACKSON, D. 1968. Fibrinolytic activity and coronary-artery disease. **Lancet**, i: 987-990.
- CHMIELEWSKA, J., RÅNBY, M. & WIMAN, B. 1983. Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. **Thrombosis research**, 31: 427-436.
- COLEMAN, P.L., BAROUSKI, P.A. & GELEHRTER, T.D. 1982. The dexamethasone-induced inhibitor of fibrinolytic activity in hepatoma cells. A cellular product which specifically inhibits plasminogen activation. **The journal of biological chemistry**, 257: 4260-4264.
- COLLEN, D. 1980. On the regulation and control of fibrinolysis. **Thrombosis and haemostasis**, 43: 77-89.
- COLLEN, D. 1986. Report of the meeting of the Subcommittee on Fibrinolysis, Jerusalem, Israel, June 2, 1986. **Thrombosis and haemostasis**, 56: 415-416.
- COLLEN, D. & LIJNEN, H.R. 1990. The fibrinolytic enzyme system. (*In Sawaya, R., ed. Fibrinolysis and the central nervous system. Philadelphia: Hanley & Belfus. p.14-25.*)
- COLUCCI, M., PARAMO, J.A. & COLLEN, D. 1985. Generation in plasma of a fast-acting inhibitor of plasminogen activator in response to endotoxin stimulation. **Journal of clinical investigation**, 75: 818-824.
- COLUCCI, M., PARAMO, J.A. & COLLEN, D. 1986. Inhibition of one-chain and two-chain forms of human tissue-type plasminogen activator by the fast-acting inhibitor of plasminogen activator *in vitro* and *in vivo*. **Journal of clinical and laboratory medicine**, 108: 53-59.
- COMP, P.C. & ESMON, C.T. 1981. Generation of fibrinolytic activity by infusion of activated protein C into dogs. **Journal of clinical investigation**, 68: 1221-1228.
- COOK, N.S. & UBBEN, D. 1990. Fibrinogen as a major risk factor in cardiovascular disease. **Trends in pharmacological science**, 11: 444-451.
- CORTELLARO, M., BOSCHETTI, C., COFRANCESCO, E., CATALANO, M., GABRIELLI, L., DE GAETANO, G., LOMBARDI, B., SPECCHIA, G., TAVAZZI, L., TREMOLI, E. & ZANUSSI, C. 1991. Antithrombin III and arterial disease. **Lancet**, 338: 1525-1526.
- DAHLÉN, G.H. 1991. Lipoprotein(a), atherosclerosis and thrombosis. **Progress in lipid research**, 30: 189-194.
- DANO, K., ANDREASEN, P.A., GRONDAHL-HANSEN, J., KRISTENSEN, P., NIELSEN, L.S. & SKRIVER, L. 1985. Plasminogen activators, tissue degradation and cancer. **Advances in cancer research**, 44: 139-266.
- DAWSON, S. & HENNEY, A. 1992. The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease: a review. **Atherosclerosis**, 95: 105-117.

- DE BOER, A., KLUFT, C. & COHEN, A.F. 1990. Lifestyle and blood fibrinolytic activity: a comment on clearance of plasminogen activators. **Fibrinolysis**, 4 suppl. 2 : 61-63.
- DE BOER, A., KLUFT, C., KROON, J.M., KASPER, F.J., SCHOENMAKER, H.C., PRUIS, J., BREIMER, D.D., SOONS, P.A., EMEIS, J.J. & COHEN, A.F. 1992. Liver blood flow as a major determinant of the clearance of recombinant human tissue-type plasminogen activator. **Thrombosis and haemostasis**, 67: 83-87.
- DE FOUW, N.J., VAN HINSBERGH, V.W.M., DE JONG, Y.F., HAVERKATE, F. & BERTINA, R.M. 1987. The interaction of activated protein C and thrombin with the plasminogen activator inhibitor released from human endothelial cells. **Thrombosis and haemostasis**, 57: 176-182.
- DECLERCK, P.J., DE MOL, M., ALESSI, M.C., BAUDNER, S., PAQUES, E.P., PREISSNER, K.T., MÜLLER-BERGHHAUS, G. & COLLEN, D. 1988. Purification and characterization of a plasminogen activator inhibitor 1 binding protein from human plasma. Identification as a multimeric form of S protein (vitronectin). **The journal of biological chemistry**, 263: 15454-15461.
- DIÉVAL, J., NGUYEN, G., GROSS, S., DELOBEL, J. & KRUIHOF, E.K.O. 1991. A lifelong bleeding disorder associated with a deficiency of plasminogen activator inhibitor type 1. **Blood**, 77: 528-532.
- DISCHINGER, P., TYROLER, H.A., McDONAGH, R. & HAMES, C.G. 1980. Blood fibrinolytic activity, social class and habitual physical activity - I. A study of black and white men in Evans county, Georgia. **Journal of chronic disorders**, 33: 283-290.
- DONAHUE, R.P., ORCHARD, T.J., BECKER, D.J., KULLER, L.H. & DRASH, A.L. 1988. Physical activity, insulin sensitivity and the lipoprotein profile in young adults: the Beaver County Study. **American journal of epidemiology**, 127: 95-103.
- EHRlich, H.J., KEIJER, J., PREISSNER, K.T., GEBBINK, R.K. & PANNEKOEK, H. 1991. Functional interaction of plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) and heparin. **Biochemistry**, 30: 1021-1028.
- ELIASSON, M., EVRIN, P.E., ASPLUND, K. & RÅNBY, M. 1992. Influence of sex, age and sampling time on plasma fibrinolysis and fibrinogen - a 1300 population study. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 73-74.
- EMEIS, J.J. 1985. Fast hepatic clearance of tissue-type plasminogen activator inhibitor. **Thrombosis and haemostasis**, 54: 230.
- EMEIS, J.J., BROMMER, E.J.P., KLUFT, C. & BRAKMAN, P. 1985. Progress in fibrinolysis. (*In* Poller, L. ed. Recent advances in blood coagulation. Edinburgh : Churchill-Livingstone. p.10-33.)
- EMEIS, J.J. & KOOISTRA, T. 1986. Interleukin 1 and lipopolysaccharide induce an inhibitor of tissue-type plasminogen activator in vivo and in cultured endothelial cells. **Journal of experimental medicine**, 163: 1260-1266.
- EMEIS, J.J., VAN HINSBERGH, V.W.M., VERHEIJEN, J.H. & WIJNGAARDS, G. 1983. Inhibition of tissue-type plasminogen activator by conditioned medium from cultured human and porcine vascular endothelial cells. **Biochemical and biophysical research communications**, 110: 392-389.

ERICKSON, L.A., GINSBERG, M.H. & LOSKUTOFF, D.J. 1984. Detection and partial characterization of an inhibitor of plasminogen activator in human platelets. **Journal of clinical investigation**, 74:1465-1472.

ERICKSON, L.A., HEKMAN, C.A., LOSKUTOFF, D.J. 1986. Denaturant-induced stimulation of the  $\beta$ -migrating plasminogen activator inhibitor in endothelial cells and serum. **Blood**, 68: 1298-1305.

ERICKSON, L.A., HEKMAN, C.M. & LOSKUTOFF, D.J. 1985b. The primary plasminogen activator inhibitors in endothelial cells, platelets, serum and plasma are immunologically related. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 82: 8710-8714.

ERICKSON, L.A., SCHLEEF, R.R., NY, T. & LOSKUTOFF, D.J. 1985a. The fibrinolytic system of the vascular wall. (*In* Rugggeri, Z.M., *ed.*, *Clinics in haematology*. London : WB Saunders. p. 513-531.)

ERNST, E. 1990. Plasma fibrinogen - an independent cardiovascular risk factor. **Journal of internal medicine**, 227: 365-372.

ETINGIN, O.R., HAJJAR, D.P., HAJJAR, K.A., HARPEL, P.C. & NACHMAN, R.L. 1991. Lipoprotein(a) regulates plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells. A potential mechanism in thrombogenesis. **The journal of biological chemistry**, 266: 2459-2465.

FEHILY, A.M., MILBANK, T.E., YARNELL, J.W.G., HAYES, T.M., KUBIKI, A.J. & EASTHAM, R.D. 1982. Dietary determinations of lipoproteins, total cholesterol, viscosity, fibrinogen, and blood pressure. **American journal of clinical nutrition**, 36: 890-896.

FOLSOM, A.R., WU, K.K., DAVIS, C.E., CONLAN, M.G., SORLIE, P.D. & SZKLO, M. 1991. Population correlates of plasma fibrinogen and factor VII, putative cardiovascular risk factors. **Atherosclerosis**, 91: 191-205.

FONTBONNE, A. & ESCHWEGE, E. 1987. Diabetes, hyperglycaemia, hyperinsulinaemia and atherosclerosis: epidemiological data. **Diabete & metabolisme**, 13: 350-353.

Food and Nutrition Board. 1980. National Academy of Sciences - National Research Council. Recommended Daily Dietary Allowances, Revised 1980. Washington, D.C. : National Research Council.

FRANCIS, R.B., LIEBMAN, H., KOEHLER, S. & FEINSTEIN, D.I. 1986. Accelerated fibrinolysis in amyloidosis. Specific binding of plasminogen activator inhibitor by an amyloidogenic monoclonal IgG. **Blood**, 68: 333a.

FRANZ, R.C., KARK, A.E. & HATHORN, M. 1961. Postoperative thrombosis and plasma fibrinolytic activity. A comparative study in Africans, Indians and Whites. **Lancet**, i: 195-197.

FRANZ, R.C., MEIRING, J.L. & COETZEE, W.J.C. 1980. Ethnic differences in haemostatic, fibrinolytic and lipographic patterns. **South African journal of surgery**, 18: 58-59.

FUJII, S., LUCORE, C.L., HOPKINS, W.E., BILLADELLO, J.J. & SOBEL, B.E. 1989. Potential attenuation of fibrinolysis by growth factors released from platelets and their pharmacologic implications. **The American journal of cardiology**, 63: 1505-1511.

- FUJII, S., LUCORE, C.L., HOPKINS, W.E., BILLADELLO, J.J. & SOBEL, B.E. 1990. Induction of synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 and tissue-type plasminogen activator in human hepatic and endothelial cells. **Thrombosis and haemostasis**, 64: 412-419.
- GELEHRTER, T.D. & SZNYCER-LAZUK, R. 1986. Thrombin induction of plasminogen activator-inhibitor in cultured human endothelial cells. **Journal of clinical investigation**, 77: 165-169.
- GOTTO, A.M. 1986. Interactions of the major risk factors for coronary heart disease. **American journal of medicine**, 80: 48.
- GOUWS, E. & LANGENHOVEN, M.L. 1986. NRIND food composition tables. 2nd ed. Cape Town : South African Medical Research Council.
- GRANT, P.J., KRUITHOF, E.K.O., FELLE, C.P., FELBER, J.P. & BACHMANN, F. 1990. Short-term infusions of insulin, triacylglycerol and glucose do not cause acute increases in plasminogen activator inhibitor-1 concentrations in man. **Clinical science**, 79: 513-516.
- GRANT, P.J., RÜEGG, M. & MEDCALF, R.L. 1991. Basal expression and insulin-mediated induction of PAI-1 mRNA in HepG2 cells. **Fibrinolysis**, 5: 81-86.
- GRIS, J-C., SCHVED, J-F., FEUGEAS, O., AGUILAR-MARTINEZ, P., ARNAUD, A., SANCHEZ, N. & SARLAT, C. 1990. Impact of smoking, physical training, and weight reduction on FVII, PAI-1 and hemostatic markers in sedentary men. **Thrombosis and haemostasis**, 64: 516-520.
- GRIS, J-C., SCHVED, J-F., RAFFANEL, C., DUBOIS, A., RIBARD, D. & BALMES, J-L. 1991. Réponse anormale au test d'occlusion veineuse chez les patients atteints de colite cryptogénique. **Gastroenterol clin biol**, 15: 933-938.
- GUYTON, A.C. 1982. Textbook of medical physiology. Philadelphia : W.B. Saunders. 1074p.
- HAMSTEN, A., DE FAIRE, U., ISELIUS, L. & BLOMBÄCK, M. 1987b. Genetic and cultural inheritance of plasma fibrinogen concentration. **Lancet**, 2: 988-990.
- HAMSTEN, A., DE FAIRE, U., WALLDIUS, G., DAHLÉN, G., SZAMOSI, A., LANDOU, C., WIMAN, B. & BLOMBÄCK, M. 1987a. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. **Lancet**, 2: 3-9.
- HAMSTEN, A., WIMAN, B., DE FAIRE, U. & BLOMBÄCK, M. 1985. Increased levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. **New England journal of medicine**, 313: 1557-1563.
- HANSS, M. & COLLEN, D. 1987. Secretion of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor by cultured human endothelial cells: modulation by thrombin, endotoxin, and histamine. **Journal of laboratory and clinical medicine**, 109: 97-104.
- HAVERKATE, F. 1990. Epidemiology and fibrinolysis. **Fibrinolysis**, 4 suppl. 2: 49-50.

- HEEB, M.J., ESPANA, F., GEIGER, M., COLLEN, D., STUMP, D.C. & GRIFFIN, J.H. 1987. Immunological identity of heparin-dependent plasma and urinary protein C inhibitor and plasminogen activator inhibitor-3. *The journal of biological chemistry*, 262: 15813-15816.
- HEINRICH, J., DIRKES-KERSTING, A., SCHULTE, H. & ASSMANN, G. 1992. Effects of age, menopause and human growth hormone on variables of fibrinolysis. *Fibrinolysis*, 6 suppl. 3: 33-35.
- HEKMAN, C.M. & LOSKUTOFF, D.J. 1985. Endothelial cells produce a latent inhibitor of plasminogen activators that can be activated by denaturants. *The journal of biological chemistry*, 260: 11581-11587.
- HEKMAN, C.M. & LOSKUTOFF, D.J. 1988a. Kinetic analysis of the interaction between plasminogen activator inhibitor 1 and both urokinase and tissue plasminogen activator. *Archives of biochemistry and biophysics*, 262: 199-210.
- HEKMAN, C.M. & LOSKUTOFF, D.J. 1988b. Bovine plasminogen activator inhibitor 1: Specificity, determinations and comparison of the active, latent and guanidine-activated forms. *Biochemistry*, 27: 2911-2918.
- HOYLAERTS, M., RIJKEN, D.C., LIJNEN, H.R. & COLLEN, D. 1982. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *The journal of biological chemistry*, 257: 2912-2919.
- HUISVELD, I.A., LEENEN, R., VD KOOY, K., HOSPERS, J.E.H., SEIDELL, J.C., DEURENBERG, P., KOPPESCHAAR, H.P.F., MOSTERD, W.L. & BOUMA, B.N. 1990. Body composition and weight reduction in relation to antigen and activity of plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in overweight individuals. *Fibrinolysis*, 4 suppl. 2: 84-85.
- IGNOTZ, R.A. & MASSAGUÉ, J. 1986. Transforming growth factor- $\beta$  stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *The journal of biological chemistry*, 261: 4337-4345.
- INMAN, R.D. & HARPEL, P.C. 1986.  $\alpha_2$ -Plasmin inhibitor-plasmin complexes in synovial fluid. *Journal of rheumatology*, 13: 535-537.
- JIAO, Y., MONASTERIO, J. & LI, J.F. 1992. Lipoprotein(a) interactions to several fibrinolytic factors and their plasma level changes due to age in healthy, coronary heart disease and stroke subjects. *Fibrinolysis*, 6 suppl. 3: 58-62.
- JOHNSON, O., MELLBRING, G. & NILSSON, T. 1984. Defective fibrinolysis in survivors of myocardial infarction. *International journal of cardiology*, 6: 380-382.
- JOOSTE, P.L., GOUWS, E., BENADÉ, A.J.S. & ROSSOUW, J.E. 1990. Diet and serum lipids of black migrant labourers exposed to a western urban environment. *South African journal of food science and nutrition*, 2: 85-87.
- JUHAN-VAGUE, I. & VAGUE, P. 1991. Hypofibrinolysis and insulin-resistance. *Diabete & metabolisme*, 17: 96-100.
- JUHAN-VAGUE, I., ALESSI, M.C. & VAGUE, P. 1991. Increased plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. *Diabetologia*, 34: 457-462.

- JUHAN-VAGUE, I., ALESSI, M.C., RACCAH, D., AILLAUD, M.F., BILLEREY, M., ANSALDI, J., PHILIP-JOET, C. & VAGUE, P. 1992. Daytime fluctuations of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in populations with high PAI-1 levels. **Thrombosis and haemostasis**, 67: 78-82.
- JUHAN-VAGUE, I., MOERMAN, B., DE COCK, F., AILLAUD, M.F. & COLLEN, D. 1984. Plasma levels of a specific inhibitor of tissue-type plasminogen activator (and urokinase) in normal and pathological conditions. **Thrombosis research**, 33: 523-530.
- JUHAN-VAGUE, I., ROUL, C., ALESSI, M.C., ARDISSONE, J.P., HEIM, M. & VAGUE, P. 1989. Increased plasminogen activator inhibitor activity in non insulin dependent diabetic patients - relationship with plasma insulin. **Thrombosis and haemostasis**, 61: 370-373.
- JUHAN-VAGUE, I., VALADIER, J., ALESSI, M.C., AILLAUD, M.F., ANSALDI, J., PHILIP-JOET, C., HOLVOET, P., SERRADIMIGNI, A. & COLLEN, D. 1987. Deficient t-PA release and elevated PA inhibitor levels in patients with spontaneous or recurrent deep venous thrombosis. **Thrombosis and haemostasis**, 57: 67-72.
- KANNEL, W.B., D'AGOSTINO, R.B., WILSON, P.W.F., BELANGER, A.J. & GAGNON, D.R. 1990. Diabetes, fibrinogen, and risk of cardiovascular disease: the Framingham experience. **American heart journal**, 120: 672-676.
- KANNEL, W.B., DAWBER, T.R. & MCGEE, D.L. 1980. Perspectives on systolic hypertension: the Framingham Study. **Circulation**, 61: 1179.
- KANNEL, W.B., WOLF, P.A., CASTELLI, W.P. & D'AGOSTINO, R.B. 1987. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham study. **Journal of the American Medical Association**, 258: 1183-1186.
- KAPLAN, L.A. & PESCE, A.J. 1989. Clinical chemistry. Theory, analysis and correlation. St. Louis : CV Mosby.
- KAWANO, T., MORIMOTO, K. & UEMURA, Y. 1968. Urokinase inhibitor in human placenta. **Nature**, 217: 253-254.
- KISIEL, W., CANFIELD, W.H., ERICSSON, L.H. & DAVIE, E.W. 1977. Anticoagulant properties of bovine plasma protein C following activation by thrombin. **Biochemistry**, 16: 5824-5831.
- KLUFT, C., POTTER VAN LOON, B.J. & DE MAAT, M.P.M. 1992. Insulin resistance and changes in haemostatic variables. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 11-16.
- KLUFT, C., VERHEIJEN, J.H., JIE, A.F.H., RIJKEN, D.C., PRESTON, F.E., SUE-LING, H.M., JESPERSON, J. & AASEN, A.O. 1985. The postoperative fibrinolytic shutdown: a rapidly reverting acute phase pattern for the fast-acting inhibitor of tissue-type plasminogen activator after trauma. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, 45: 601-610.
- KNUDSEN, B.S., HARPEL, P.C. & NACHMAN, R.L. 1987. Plasminogen activator inhibitor is associated with the extracellular matrix of cultured bovine smooth muscle cells. **Journal of clinical investigation**, 80: 1082-1089.

- KOOISTRA, T., BOSMA, P.J., TÖNS, H.A.M., VAN DEN BERG, A.P., MEYER, P. & PRINCEN, H.M.G. 1989. Plasminogen activator inhibitor 1: Biosynthesis and mRNA level are increased by insulin in cultured human hepatocytes. **Thrombosis and haemostasis**, 62: 723-728.
- KOOISTRA, T., SPRENGERS, E.D. & VAN HINSBERGH, V.W.M. 1986. Rapid inactivation of the plasminogen-activator inhibitor upon secretion from cultured human endothelial cells. **Biochemical journal**, 239: 497-503.
- KORNINGER, C. & COLLEN, D. 1981. Neutralization of human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator in human plasma: no evidence for a specific inhibitor. **Thrombosis and haemostasis**, 46: 662-665.
- KORSAN-BENGSTEN, K., WILHELMSSEN, L. & TIBBLIN, G. 1972. Blood coagulation and fibrinolysis in a random sample of 788 men 54 years old. II. Relations of the variables to "risk factors" for myocardial infarction. **Thrombosis diathesis et haemorrhage**, 28: 99-108.
- KOSTNER, G.M., AVOGARO, P., GAZZOLATO, G., MARTH, E., BITTOLO-BON, G. & QUNICI, G.B. 1981. Lipoprotein(a) and the risk for myocardial infarction. **Atherosclerosis**, 38: 51-61.
- KRUITHOF, E.K.O., NICOLOSA, G. & BACHMANN, F. 1987a. Plasminogen activator inhibitor 1: development of a radioimmunoassay and observations on its plasma concentration during venous occlusion and after platelet aggregation. **Blood**, 70: 1645-1653.
- KRUITHOF, E.K.O., TRAN-THANG, C., BACHMANN, F. 1986b. Studies on the release of a plasminogen activator inhibitor by human platelets. **Thrombosis and haemostasis**, 55: 201-205.
- KRUITHOF, E.K.O., TRAN-THANG, C., GUDINCHET, A., HAUERT, J., NICOLOSO, G., GENTON, C., WELTI, H. & BACHMANN, F. 1987b. Fibrinolysis in pregnancy: a study of plasminogen activator inhibitors. **Blood**, 69: 460-466.
- KRUITHOF, E.K.O., TRAN-THANG, C., RANSJIN, A. & BACHMANN, F. 1984. Demonstration of a fast-acting inhibitor of plasminogen activators in human plasma. **Blood**, 64: 907-913.
- KRUITHOF, E.K.O., VASSALLI, J-D., SCHLEUNING, W-D., MATTALIANO, R.J. & BACHMANN, F. 1986a. Purification and characterization of a plasminogen activator inhibitor from the histiocytic lymphoma cell line U-937. **The journal of biological chemistry**, 261: 11207-11213.
- LA ROSA, J.C., HUNNINGHAKE, D., BUSH, D., CRIQUI, M.H., GETZ, G.S., GOTTO, A.M., GRUNDY, S.M., RAKITA, L., ROBERTSON, R.M., WEISFELDT, M.L., CLEEMAN, J.I., WILSON, P.W., CLARKSON, T.B., HAY, J.W. & GOODMAN, D.S. 1990. The cholesterol facts. A joint statement by the American Heart Association and the National Heart, Lung and Blood Institute. **Circulation**, 81: 1721-1733.
- LAIHO, M., SAKSELA, O., ANDREASEN, P.A. & KESKI-OJA, J. 1986. Enhanced production and extracellular deposition of the endothelial-type plasminogen activator inhibitor in cultured human lung fibroblasts by transforming growth factor- $\beta$ . **The journal of cell biology**, 103: 2403-2410.

- LAMBERS, J.W.J., CAMMENGA, M., KÖNIG, B.W., MERTENS, K., PANNEKOEK, H. & VAN MOURIK, J.A. 1987. Activation of human endothelial cell-type plasminogen activator inhibitor (PAI-1) by negatively charged phospholipids. **The journal of biological chemistry**, 262: 17492-17496.
- LANDIN, K., TENGBORN, L., CHMIELEWSKA, J., VON SCHENCK, H. & SMITH, U. 1991. The acute effect of insulin on tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor in man. **Thrombosis and haemostasis**, 65: 130-133.
- LANG, P.D. & SCHNETTLER, G. 1985. *Arteriosklerose, Grundlagen - Diagnostik - Therapie*. Cologne: Deutscher Ärzte Verlag.
- LASKOWSKI, M. & KATO, I. 1980. Protein inhibitors of proteinases. **Annual reviews in biochemistry**, 49: 593-626.
- LATRON, Y., CHAUTAN, M., ANFOSSO, F., ALESSI, M.C., NALBONNE, G., LAFONT, H. & JUHAN-VAGUE, I. 1991. Stimulating effect of oxidized low density lipoproteins on plasminogen activator inhibitor 1 synthesis by endothelial cells. **Arteriosclerosis and thrombosis**, 11: 1821-1829.
- LAWRENCE, D.A. & LOSKUTOFF, D.J. 1986. Inactivation of plasminogen activator inhibitor by oxidants. **Biochemistry**, 25: 6351-6355.
- LEE, A.J., SMITH, W.C.S., LOWE, G.D.O. & TUNSTALL-PEDOE, H. 1990. Plasma fibrinogen and coronary risk factors: The Scottish heart health study. **Journal of clinical epidemiology**, 43: 913-919.
- LEGNANI, C., PALARETI, G., POGGI, M., BIAGI, R., LUDOVICI, S., PARENTI, M., BABINI, A.C. & COCCHERI, S. 1992. Slimming after very low calorie diet (VLCD) in obese woman significantly reduces PAI-1 and factor VII but not fibrinogen levels. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 8.
- LEVIN, E.G. 1986. Quantitation and properties of the active and latent plasminogen activator inhibitors in cultures of human endothelial cells. **Blood**, 67: 1309-1313.
- LEVIN, E.G. & SANTELL, L. 1987a. Conversion of the active to latent plasminogen activator inhibitor from human endothelial cells. **Blood**, 70: 1090-1098.
- LEVIN, E.G. & SANTELL, L. 1987b. Association of a plasminogen activator inhibitor (PAI-1) with growth substratum and membrane of human endothelial cells. **The journal of cell biology**, 105: 2543-1549.
- LIJNEN, H.R. & COLLEN, D. 1990. Physical exercise and fibrinolysis. **Hermes (Leuven)**, XXI: 327-339.
- LIJNEN, H.R. & COLLEN, D. 1992. Lipoproteins and fibrinolysis. (*In* Stein, O., Eisenberg, S. & Stein, Y eds. *Atherosclerosis IX. Proceedings of the ninth international symposium on atherosclerosis*. Tel Aviv : R&L Creative Communications. p. 539-543.)
- LOSKUTOFF, D.J. & EDGINGTON, T.S. 1981. An inhibitor of plasminogen activator in rabbit endothelial cells. **The journal of biological chemistry**, 256: 4142-4145.

LOSKUTOFF, D.J., ROEGNER, K., ERICKSON, L.A., SCHLEEF, R.R., HUTTENLOCHER, A., COLEMAN, P.L. & GELEHRTER, T.D. 1986. The dexamethasone-induced inhibitor of plasminogen activator in hepatoma cells is antigenically-related to an inhibitor produced by bovine aortic endothelial cells. **Thrombosis and haemostasis**, 55: 8-11.

LOSKUTOFF, D.J., SAWDEY, M. & MIMURO, J. 1989. Type 1 plasminogen activator inhibitor. **Progress in hemostasis and thrombosis**, 9: 87-115.

LUND, L.R., RICCIO, A., ANDREASEN, P.A., NIELSEN, L.S., KRISTENSEN, P., LAIHO, M., SAKSELA, O., BLASI, F. & DANO, K. 1987. Transforming growth factor- $\beta$  is a strong and fast acting positive regulator of the level of type-1 plasminogen activator inhibitor mRNA in WI-38 human lung fibroblasts. **EMBO journal**, 6: 1281-1286.

MARCKMANN, P., SANDSTRÖM, B. & JESPERSEN, J. 1992a. Fasting blood coagulation and fibrinolysis of young adults unchanged by reduction in dietary fat content. **Arteriosclerosis and thrombosis**, 12: 201-205.

MARCKMANN, P., SANDSTRÖM, B. & JESPERSEN, J. 1992b. Plasma fibrinolytic capacity raised by dietary change from western to low-fat high-fiber diet. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 8.

MARLAR, R.A., KLEISS, A.J. & GRIFFIN, J.H. 1982. Mechanism of action of human activated protein C, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. **Blood**, 59: 1067-1072.

MARON, D.J., FAIR, J.M., HASKELL, W.L. & THE STANFORD CORONARY RISK INTERVENTION PROJECT INVESTIGATORS AND STAFF. 1991. Saturated fat intake and insulin resistance in men with coronary artery disease. **Circulation**, 84: 2020-2027.

MARTEL-PELLETIER, J., ZAFARULLAH, M., KODAMA, S. & PELLETIER, J-P. 1991. *In vitro* effects of interleukin 1 on the synthesis of metalloproteases, TIMP, plasminogen activators and inhibitors in human articular cartilage. **Journal of rheumatology**, 18: 80-84.

MEADE, T.W. 1984. Clotting factors and ischaemic heart disease: the epidemiological evidence. (In Meade, T.W., ed. *Anticoagulants and myocardial infarction: a reappraisal*. New York : Wiley. p.91-111.)

MEADE, T.W. & NORTH, W.R.S. 1977. Population-based distributions of haemostatic variables. **British medical bulletin**, 3: 283-288.

MEADE, T.W., BROZOVIC, M., CHAKRABARTI, R., HOWARTH, D.J., NORTH, W.R.S. & STIRLING, Y. 1976. An epidemiological study of the haemostatic and other effects of oral contraceptives. **British journal of haematology**, 34: 353-364.

MEADE, T.W., CHAKRABARTI, R., HAINES, A.P., NORTH, W.R.S. & STIRLING, Y. 1979. Characteristics affecting fibrinolytic activity and plasma fibrinogen concentrations. **British medical journal**, 1: 153-156.

MEADE, T.W., COOPER, J., MILLER, G.J., HOWARTH, D.J. & STIRLING, Y. 1991. Antithrombin III and arterial disease. **Lancet**, 337: 850-851.

- MEADE, T.W., MELLOWS, S., BROZOVIC, M., MILLER, G.J., CHAKRABARTI, R., NORTH, W.R.S., HAINES, A.P., STIRLING, Y., IMESON, J.D. & THOMPSON, S.G. 1986a. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*, ii: 533-537.
- MEADE, T.W., NORTH, W.R.S., CHAKRABARTI, R., STIRLING, Y., HAINES, A.P., THOMPSON, S.G. & BROZOVIC, M. 1980. Haemostatic function and cardiovascular death: early results of a prospective study. *Lancet*, i: 1050-1054.
- MEADE, T.W., STIRLING, Y., THOMPSON, S.G., VICKERS, M.V., WOOLF, L., AJDUKIEWICZ, A.B., STEWART, G., DAVIDSON, J.F., WALKER, I.D., DOUGLAS, A.S., RICHARDSON, I.M., WEIR, R.D., AROMAA, A., IMPIVAARA, O., MAATELA, J. & HLADOVEC, J. 1986b. An international and interregional comparison of haemostatic variables in the study of ischaemic heart disease. *International journal of epidemiology*, 15: 331-336.
- MEHRABIAN, M., PETER, J.B., BARNARD, R.J. & LUSIS, A.J. 1990. Dietary regulation of fibrinolytic factors. *Atherosclerosis*, 84: 25-32.
- MELIN, B., CHERQUI, G., BLIVET, M.J., CARON, M., LASCOLS, O., CAPEAU, J. & PICARD, J. 1990. Dual effect of Metformin in cultured rat hepatocytes: potentiation of insulin action and prevention of insulin-induced resistance. *Metabolism*, 39: 1089-1095.
- MERSKEY, C., GORDON, H. & LACKNER, H., SCHRIRE, V., KAPLAN, B.J., SOUGIN-MIBASHAN, NOSSEL, H.L. & MOODIE, A. 1960. Blood coagulation and fibrinolysis in relation to coronary heart disease. A comparative study of normal white men, white men with overt coronary heart disease, and normal Bantu men. *British medical journal*, i: 219-227.
- METHA, J., MEHTA, P., LAWSON, D. & SALDEEN, T. 1987. Plasminogen activator inhibitor levels in coronary artery disease: correlation with age and serum triglyceride concentrations. *Journal of the American College of Cardiology*, 9: 263-268.
- MICHEL, J.B. & ÇUERTERMOUS, T. 1989. Modulation of mRNA levels for urinary- and tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitors 1 and 2 in human fibroblasts by interleukin 1. *The journal of immunology*, 143: 890-895.
- MILLER, G.J., MARTIN, J.C., WEBSTER, J., WILKES, H., MILLER, N.E., WILKINSON, W.H. & MEADE, T.W. 1986. Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity - a predictor of cardiovascular mortality. *Atherosclerosis*, 60: 269-277.i
- MIMURO, J. & LOSKUTOFF, D.J. 1987. Effect of transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) on the fibrinolytic system of cultured bovine aortic endothelial cells (BAE's). *Thrombosis and haemostasis*, 58: 447.
- MIMURO, J., SCHLEEF, R.R. & LOSKUTOFF, D.J. 1987. Extracellular matrix of cultured bovine aortic endothelial cells contains functionally active type 1 plasminogen activator inhibitor. *Blood*, 70: 721-728.
- MOLLER, L. & KRISTENSEN, T.S. 1991. Plasma fibrinogen and ischemic heart disease risk factors. *Arteriosclerosis and thrombosis*, 11: 344-350.

- MORRISON, D.C. & ULEVITCH, R.J. 1978. The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. **American journal of pathology**, 93: 527-617.
- MUSSONI, L., PINTUCCI, G., ROMANO, G., DE BENEDETTI, F., MASSA, M. & MARTINI, A. 1990. Decreased fibrinolytic activity in juvenile chronic arthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, 49: 973-975.
- NACHMAN, R.L., HAJJAR, K.A., SILVERSTEIN, R.L. & DINARELLO, C.A. 1986. Interleukin 1 induces endothelial cell synthesis of plasminogen activator inhibitor. **Journal of experimental medicine**, 163: 1595-1600.
- NAWROTH, P.P. & STERN, D.M. 1986. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. **Journal of experimental medicine**, 163: 740-745.
- NILSSON, I.M., LJUNGNER, H. & TENGBORN, L. 1985. Two different mechanisms in patients with venous thrombosis and defective fibrinolysis: low concentration of plasminogen activator or increased concentration of plasminogen activator inhibitor. **British medical journal**, 290: 1453-1456.
- NILSSON, T., WALLÉN, P. & MELLBRING, G. 1984. In vivo metabolism of human tissue-type plasminogen activator. **Scandinavian journal of haematology**, 33: 49-53.
- NY, T., BJERSING, L., HSUEH, A.J.W. & LOSKUTOFF, D.J. 1985. Cultured granulosa cells produce two plasminogen activators and an antiactivator, each regulated differently by gonadotropins. **Endocrinology**, 116: 1666-1668.
- NY, T., LIU, Y-X., OHLSSON, M., JONES, P.B.C. & HSUEH, A.J.W. 1987. Regulation of tissue-type plasminogen activator activity and messenger RNA levels by gonadotropin-releasing hormone in cultured rat granulosa cells and cumulus-oocyte complexes. **The journal of biological chemistry**, 262: 11790-11793.
- NY, T., SAWDEY, M., LAWRENCE, D.A., MILLAN, J.L. & LOSKUTOFF, D.J. 1986. Cloning and sequence of a cDNA coding for the human  $\beta$ -migrating endothelia-cell-type plasminogen activator inhibitor. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 83: 6776-6780.
- O'CONNELL, M.L., CANIPARI, R. & STRICKLAND, S. 1987. Hormonal regulation of tissue plasminogen activator secretion and mRNA levels in rat granulosa cells. **The journal of biological chemistry**, 262: 2339-2344.
- ORD, J.M., OWENSBY, D.A., BILLADELLO, J.J. & SOBEL, B.E. 1990. Determinants of clearance of tissue-type plasminogen activator and their pharmacological implications. **Fibrinolysis**, 4: 203-209.
- OWENSBY, D.A., SOBEL, B.E. & SCHWARTZ, A.L. 1988. Receptor-mediated endocytosis of tissue-type plasminogen activator by the human hepatoma cell line HepG2. **The journal of biological chemistry**, 263: 10587-10594.
- PARAMO, J.A., ALFARO, M.J. & ROCHA, E. 1985c. Postoperative changes in the plasmatic levels of tissue-type plasminogen activator and its fast acting inhibitor - relationship to deep vein thrombosis and influence of prophylaxis. **Thrombosis and haemostasis**, 54: 713-716.
- PARAMO, J.A., COLUCCI, M., COLLEN, D. & VAN DE WERF, F. 1985b. Plasminogen activator inhibitor in the blood of patients with coronary artery disease. **British medical journal**, 291: 573-574.

PARAMO, J.A., DE BOER, A., COLUCCI, M., JONKER, J.J.C. & COLLEN, D. 1985a. Plasminogen activator inhibitor (PA-inhibitor) activity in the blood of patients with deep vein thrombosis. **Thrombosis and haemostasis**, 54: 725.

PATTHY, L. 1985. Evolution of the proteases of blood coagulation and fibrinolysis by assembly from modules. **Cell**, 41: 657-663.

PENNICA, D., HOLMES, W.E., KOHR, W.J., HARKINS, R.N., VEHAR, G.A., WARD, C.A., BENNETT, W.F., YELVERTON, E., SEEBURG, P.H., HEYNEKER, H.L., GOEDDEL, D.V. & COLLEN, D. 1983. Cloning and expression of human tissue-type plasminogen activator cDNA in *E. coli*. **Nature**, 301: 214-221.

PERALDI, M-N., RONDEAU, E., MEDCALF, R.L., HAGEGE, J., LACAVE, R., DELARUE, F., SCHLEUNING, W-D. & SRAER, J-D. 1992. Cell-specific regulation of plasminogen activator inhibitor 1 and tissue type plasminogen activator release by human kidney mesangial cells. **Biochimica et biophysica acta**, 1134: 189-196.

PHILIPS, M., JUUL, A. & THORSEN, S. 1984. Human endothelial cells produce a plasminogen activator inhibitor and a tissue-type plasminogen activator-inhibitor complex. **Biochimica et biophysica acta**, 802: 99-110.

PILLEMER, E., SCHLEFF, R., LOSKUTOFF, D., HIGGINS, D. & LEVITT, L. 1987. Bleeding diathesis with decreased functional activity of plasminogen activator inhibitor (PAI-1). **Blood**, 70 suppl. 1: 378.

PÖLLÄNEN, J., SAKSELA, O., SALONEN, E-M., ANDREASEN, P., NIELSEN, L., DANO, K. & VAHERI, A. 1987. Distinct localizations of urokinase-type plasminogen activator and its type 1 inhibitor under cultured human fibroblast and sarcoma cells. **The journal of cell biology**, 104: 1085-1096.

POTTER VAN LOON, B.J., DE BART, A.C.W., RADDER, J.K., FROLICH, M., KLUFT, C. & MEIDERS, A.E. 1990. Short-term infusions of insulin, triacylglycerol and glucose do not result in elevation in plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in humans. **Fibrinolysis**, 4: 93-94.

PRINS, M.H. & HIRSH, J. 1991. A critical review of the relationship between impaired fibrinolysis and myocardial infarction. **American heart journal**, 122: 545-551.

QIZILBASH, N., JONES, L., WARLOW, C. & MANN, J. 1991. Fibrinogen and lipid concentrations as risk factors for transient ischaemic attacks and minor ischaemic strokes. **British medical journal**, 303: 605-609.

RÅNBY, M., ERIKSSON, E., TENGBORN, L., JONSSON-BERG, A-K. & RISBERG, B. 1990. Fibrinolytic activity in blood characterized by well-defined biochemical parameters; pro-urokinase is released upon venous occlusion. **Applied cardiovascular biology**, 1: 1209-1230.

RÅNBY, M. & SUNDELL, I.B. 1992. Dietary fiber supplementation, a way to decrease PAI-1 activity. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 41.

REICH, R., MISKIN, R. & TSAFRIRI, A. 1986. Intrafollicular distribution of plasminogen activators and their hormonal regulation *in vitro*. **Endocrinology**, 119: 1588-1593.

- REILLY, C.F. & McFALL, R.C. 1991. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor- $\beta$  regulate plasminogen activator inhibitor-1 synthesis in vascular smooth muscle cells. *The journal of biological chemistry*, 266: 9419-9427.
- RHEINWALD, J.G., JORGENSEN, J.L., HAHN, W.C., TERPSTRA, A.J., O'CONNELL, T.M. & PLUMMER, K.K. 1987. Mesosecrin: A secreted glycoprotein produced in abundance by human mesothelial, endothelial and kidney epithelial cells in culture. *Journal of cell biology*, 104: 263-275.
- RIJKEN, D.C. 1988. Relationships between structure and function of tissue-type plasminogen activator. *Klinische Wochenschrift*, 66: 33-39.
- RISBERG, B., HANSSON, G.K., ERIKSSON, E. & WIMAN, B. 1987. Immunohistochemical localization of plasminogen activator inhibitor (PAI) in tissue. *Thrombosis and haemostasis*, 58: 446.
- ROBERTS, A.B., SPORN, M.B., ASSOIAN, R.K., SMITH, J.M., ROCHE, N.S., WAKEFIELD, L.M., HEINE, U.I., LIOTTA, L.A., FALANGA, V., KEHRL, J.H. & FAUCI, A.S. 1986. Transforming growth factor type-beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis *in vivo* and stimulation of collagen formation *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 83: 4167-4171.
- ROCHA, E., SAINZ, R., PARAMO, J.A., CHORDA, C., SARRA, J. & RIFON, J. 1992. Fibrinolysis variables as risk factors for recurrent myocardial infarction. *Fibrinolysis*, 6 suppl. 3: 43.
- ROSSOUW, J.E., JOOSTE, P.L., STEYN, K. & BENADÉ, A.J.S. 1985. Serum total and high-density lipoprotein cholesterol - reference values obtained in the Coronary Risk Factor Study baseline survey. *South African medical journal*, 67: 533-538.
- ROSSOUW, J.E., STEYN, K., BERGER, G.M.B., *et al.* 1988. Action limits for serum total cholesterol. A statement for the medical profession by an *ad hoc* committee of the Heart Foundation of Southern Africa. *South African medical journal*, 73: 693-700.
- RUMLEY, A., LOWE, G.D.O., LEE, A.J. & TUNSTALL-PEDOE, H. 1992. Effects of age, sex and menopause on fibrinolytic variables. *Fibrinolysis*, 6 suppl. 3: 73.
- RYDZEWSKI, A., SAKATA, K., KOBAYASHI, A., YAMAZAKI, N., URANO, T., TAKADA, Y. & TAKADA, A. 1990. Changes in plasminogen activator inhibitor 1 and tissue-type plasminogen activator during exercise in patients with coronary artery disease. *Haemostasis*, 20: 305-312.
- SAKATA, Y., CURRIDEN, S.A., LAWRENCE, D.A., GRIFFIN, J.H. & LOSKUTOFF, D.J. 1985. Activated protein C stimulates the fibrinolytic activity of cultured endothelial cells and decreases antiactivator activity. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 82: 1121-1125.
- SAKATA, Y., LOSKUTOFF, D.J., GLADSON, C.L., HEKMAN, C.M. & GRIFFIN, J.H. 1986. Mechanism of protein C-dependent clot lysis: role of plasminogen activator inhibitor. *Blood*, 68: 1218-1223.

- SAKATA, Y., OKADA, M., NORO, A. & MATSUDA, M. 1988. Interaction of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 on the surface of endothelial cells. **The journal of biological chemistry**, 263; 1960-1969.
- SAKSELA, O., MOSCATELLI, D. & RIFKIN, D.B. 1987. The opposing effects of basic fibroblast growth factor and transforming growth factor beta on the regulation of plasminogen activator activity in capillary endothelial cells. **The journal of cell biology**, 105: 957-963.
- SAWAYA, R., RAMO, O.J., GLAS-GREENWALD, P. & WU, S.Z. 1991. Plasma fibrinolytic profile in patients with brain tumors. **Thrombosis and haemostasis**, 65: 15-19.
- SCHLEEF, R.R., BEVILACQUA, M.P., SAWDEY, M., GIMBRONE, M.A. & LOSKUTOFF, D.J. 1988. Cytokine activation of vascular endothelium. Effects on tissue-type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor. **The journal of biological chemistry**, 263: 5797-5803.
- SCHNEIDER, D.J. & SOBEL, B.E. 1991. Augmentation of synthesis of plasminogen activator inhibitor type 1 by insulin and insulin-like growth factor type 1: implications for vascular disease in hyperinsulinemic states. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 88: 9959-9963.
- SCOTT, R.W. & BAKER, J.B. 1983. Purification of human protease nexin. **The journal of biological chemistry**, 258: 10439-10444.
- SIEGERT, G., BERGMANN, S. & JAROSS, W. 1992. Influence of age, gender and lipoprotein metabolism parameters on the activity of plasminogen activator inhibitor and the fibrinogen concentration. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 47-51.
- SIMON, D.I., FLESS, G.M., SCANU, A.M. & LOSCALZO, J. 1991. Tissue-type plasminogen activator bind to and is inhibited by surface-bound lipoprotein(a) and low-density lipoprotein. **Biochemistry**, 30: 6671-6677.
- SIMPSON, A.J., BOOTH, N.A., MOORE, N.R. & BENNETT, B. 1991. Distribution of plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in tissues. **Journal of clinical pathology**, 44: 139-143.
- SIMPSON, H.C.R., MANN, J.I., CHAKRABARTI, R., IMESON, J.D., STIRLING, Y, TOZER, M, WOOLF, L & MEADE, T.W., 1982. Effect of high fibre diet on haemostatic variables in diabetes. **British medical journal**, 284: 1608.
- SMITH, E.B. 1986. Fibrinogen, fibrin and fibrin degradation products in relation to atherosclerosis. **Clinical haematology**, 15: 355-370.
- SORENSEN, J.V., LASSEN, M.R., BORRIS, L.C., JORGENSEN, P.S., SCHOTT, P., WEBER, S., MURPHY, R. & WALENGA, J. 1990. Postoperative deep vein thrombosis and plasma levels of tissue plasminogen activator inhibitor. **Thrombosis research**, 60: 247-251.
- SPORN, M.B., ROBERTS, A.B., WAKEFIELD, L.M. & DE CROMBRUGGHE, B. 1987. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. **The journal of cell biology**, 105: 1039-1045.
- SPRENGERS, E.D. 1986. A sensitive assay, specific for endothelial cell type plasminogen activator inhibitor in blood plasma. **Thrombosis and haemostasis**, 55: 74-77.

SPRENGERS, E.D., AKKERMAN, J.W.N. & JANSEN, B.G. 1986b. Blood platelet plasminogen activator inhibitor: two different pools of endothelial cell type plasminogen activator inhibitor in human blood. **Thrombosis and haemostasis**, 55: 325-329.

SPRENGERS, E.D. & KLUFT, C. 1987. Plasminogen activator inhibitors. **Blood**, 69: 381-387.

SPRENGERS, E.D., PRINCEN, H.M.G., KOOISTRA, T. & VAN HINSBERGH, V.W.M. 1985. Inhibition of plasminogen activators by conditioned medium of human hepatocytes and hepatoma cell line HepG2. **Journal of laboratory and clinical medicine**, 105: 751-758.

SPRENGERS, E.D., VAN HINSBERGH, V.W.M. & JANSEN, B.G. 1986a. The active and inactive plasminogen activator inhibitor from human endothelial cell conditioned medium are immunologically and functionally related to each other. **Biochimica et biophysica acta**, 883: 233-241.6

STEGNAR, M. & PENTEK, M. 1992. Age-related changes in the basal level of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 55-57.

STEGNAR, M., PETERNEL, P., KEBER, D. & VENE, N. 1991. Poor fibrinolytic response to venous occlusion by different criteria in patients with deep vein thrombosis. **Thrombosis research**, 64: 445-453.

STEINBERG, W.J., BALFE, D.L. & KÜSTNER, H.G.V. 1988. Decline in the ischaemic heart disease mortality rates of South Africans, 1968-1985. **South African medical journal**, 74: 547-550.

STEYN, K., JOOSTE, P.L., BOURNE, L., FOURIE, J., BADENHORST, C.J., BOURNE, D.E., LANGENHOVEN, M.L., LOMBARD, C.J., TRUTER, H., KATZENELLENBOGEN, J., MARIAS, M. & OELOFSE, A. 1991. Risk factors for coronary heart disease in the black population of the Cape Peninsula. **South African medical journal**, 79: 480-485.

STIKO-RAHM, A., WIMAN, B., HAMSTEN, A. & NILSSON, J. 1990. Secretion of plasminogen activator inhibitor-1 from cultured human umbilical vein endothelial cells is induced by very low density lipoprotein. **Arteriosclerosis**, 10: 1067-1073.

STONE, M.C. & THORP, J.M. 1985. Plasma fibrinogen - a major coronary risk factor. **Journal of the Royal College of General Practitioners**, 35: 565-569.

STOUT, R.W. & WALLACE-OWEN, J. 1979. Insulin and atheroma. **Lancet**, i: 1078-1080.

STRICKLAND, S. & BEERS, W.H. 1976. Studies on the role of plasminogen activation in ovulation. **The journal of biological chemistry**, 251: 5694-5702.

STUMP, D.C., THIENPONT, M. & COLLEN, D. 1986. Purification and characterization of a novel inhibitor of urokinase from human urine. Quantitation and preliminary characterization in plasma. **The journal of biological chemistry**, 261: 12759-12766.

SUNDELL, I.B., DAHLGREN, S., RÅNBY, M., LUNDIN, E., STENLING, R. & NILSSON, T.K. 1989a. Reduction of elevated plasminogen activator inhibitor levels during modest weight loss. **Fibrinolysis**, 3: 51-53.

- SUNDELL, I.B., NILSSON, T.K., HALLMANS, G., HELLSTEN, G. & DAHLÉN, G.H. 1989b. Interrelationship between plasma levels of plasminogen activator inhibitor, tissue plasminogen activator, lipoprotein(a), and established cardiovascular risk factors in a North Swedish population. *Atherosclerosis*, 80: 9-16.
- SUNDELL, I.B., NILSSON, T.K., RÅNBY, M., HALLMANS, G. & HELLSTEN, G. 1989c. Fibrinolytic variables are related to age, sex, blood pressure, and body build measurements: a cross-sectional study in Norsjö, Sweden. *Journal of clinical epidemiology*, 42: 719-723.
- SUZUKI, K., NISHIOKA, J. & HASHIMOTO, S. 1983. Protein C inhibitor. Purification from human plasma and characterization. *The journal of biological chemistry*, 258: 163-168.
- THALACKER, F.W. & NILSEN-HAMILTON, M. 1987. Specific induction of secreted proteins by transforming growth factor- $\beta$  and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. Relationship with an inhibitor of plasminogen activator. *The journal of biological chemistry*, 262: 2283-2290.
- THORSEN, S., GLAS-GREENWALT, P. & ASTRUP, T. 1972. Differences in the binding to fibrin of urokinase and tissue plasminogen activator. *Thrombosis diathesis et haemorrhage*, 28: 65-74.
- THORSEN, S. & PHILIPS, M. 1984. Isolation of tissue-type plasminogen activator-inhibitor complexes from human plasma. Evidence for a rapid plasminogen activator inhibitor. *Biochimica et biophysica acta*, 802: 111-118.
- TRANCHESI, B., MARANHAO, R., COBBAERT, C., VANHOVE, P. & VERSTRAETE, M. 1990. Lack of association between raised lipoprotein(a) and thrombolysis. *Lancet*, 336: 1587-1588.
- TRAVIS, J., OWEN, M., GEORGE, P., CARRELL, R., ROSENBERG, S., HALLEWELL, R.A. & BARR, P.J. 1985. Isolation and properties of recombinant DNA produced variants of human  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor. *The journal of biological chemistry*, 260: 4384-4389.
- TRUSWELL, A.S. 1987. Evolution of dietary recommendations, goals and guidelines. *American journal of clinical nutrition*, 45: 1060-1072.
- ULBRICHT, T.L.V. & SOUTHGATE, D.A.T. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338: 985-992.
- URDEN, G., HAMSTEN, A. & WIMAN, B. 1987. Comparison of plasminogen activator inhibitor activity and antigen in plasma sample. *Clinica chimica acta*, 169: 189-196.
- VAGUE, P., JUHAN-VAGUE, I., AILLAUD, M.F., BADIÉ, C., VIARD, R., ALESSI, M.C. & COLLEN, D. 1986. Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor level, plasma insulin level, and relative body weight in normal and obese subjects. *Metabolism*, 35: 250-253.
- VAGUE, P., JUHAN-VAGUE, I., ALESSI, M.C., BADIÉ, C. & VALADIÉ, J. 1987. Metformin decreases the high plasminogen activator inhibition capacity, plasma insulin and triglyceride levels in non-diabetic obese subjects. *Thrombosis and haemostasis*, 57: 326-328.

VAN HINSBERGH, V.W.M., BAUER, K.A., KOOISTRA, T., KLUFT, C., DOOIJEWAAARD, G., SHERMAN, M.L. & NIEUWENHUIZEN, W. 1990. Progress of fibrinolysis during tumor necrosis factor infusions in humans. Concomitant increase in tissue-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor type-1, and fibrin(ogen) degradation products. **Blood**, 76: 2284-2289.

VAN HINSBERGH, V.W.M., BERTINA, R.M., VAN WIJNGAARDEN, A., VAN TILBURG, N.H., EMEIS, J.J. & HAVERKATE, F. 1985. Activated protein C decreases plasminogen activator-inhibitor activity in endothelial cell-conditioned medium. **Blood**, 65: 444-451.

VAN HINSBERGH, V.W.M., SPRENGERS, E.D. & KOOISTRA, T. 1987. Effect of thrombin on the production of plasminogen activators and PA inhibitor-1 by human foreskin microvascular endothelial cells. **Thrombosis and haemostasis**, 57: 148-153.

VAN MOURIK, J.A., LAWRENCE, D.A. & LOSKUTOFF, D.J. 1984. Purification of an inhibitor of plasminogen activator (antiactivator) synthesized by endothelial cells. **The journal of biological chemistry**, 259: 14914-14921.

VANDER, A.J., SHERMAN, J.H. & LUCIANO, D.S. 1985. Human physiology, the mechanisms of body function. 4th ed. New York : McGraw-Hill. 715p.

VENTER, C.S., VORSTER, H.H., SILVIS, N., KRUGER, A., MIA, F., SEFTEL, H.S. & VERMAAK, W.J.H. 1991a. Determinants of plasma fibrinogen in South African communities. **Perfusion**, 4: 454.

VENTER, C.S., VORSTER, H.H. & VAN DER NEST, D.G. 1990. Comparison between physiological effects of konjac-glucomannan and propionate in baboons fed "Western" diets. **Journal of nutrition**, 120: 1046-1053.

VENTER, C.S., VORSTER, H.H., VAN DER NEST, D.G. & WIGHT, A.W. 1991b. Effects of konjac-glucomannan and propionate on plasma fibrinogen and serum and liver lipids in Zucker rats. **South African journal of clinical nutrition**, 4: 6-11.

VERHEIJEN, J.H., CHANG, G.T.G & KLUFT, C. 1984. Evidence for the occurrence of a fast-acting inhibitor for tissue-type plasminogen activator in human plasma. **Thrombosis and haemostasis**, 51: 392-395.

VERMAAK, W.J.H., UBBINK, J.B., DELPORT, R., BECKER, P.J., BISSBORT, S.H. & UNGERER, J.P.J. 1991. Ethnic immunity to coronary heart disease? **Atherosclerosis**, 89: 155-162.

VERSTRAETE, M. 1991. Biology and chemistry of thrombosis. (*In* Haber, E. & Braunwald, E., eds. Thrombolysis. Basic contributions and clinical progress. St. Louis : Mosby-Year. p.3-16.)

VERSTRAETE, M. & VERHAEGHE, R. 1991. The physiological mechanism of blood coagulation and fibrinolysis. **Advances in contraception**, 7 suppl 3: 244-258.

VON CLAUSS, A. 1957. Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur bestimmung des Fibrinogens. **Acta haematologica**, 17: 237-246.

VORSTER, H.H., BENADÉ, A.J.S., BARNARD, H.C., LOCKE, M.M., SILVIS, N., VENTER, C.S., SMUTS, C.M., ENGELBRECHT, G.P. & MARIAS, M.P. 1992. Egg intake does not change plasma lipoprotein and coagulation profiles. **American journal of clinical nutrition**, 55: 400-410.

VORSTER, H.H., SILVIS, N., VENTER, C.S., VAN RYSSSEN, J.J., HUISMAN, H., VAN EEDEN, T.S. & WALKER, A.R.P. 1987. Serum cholesterol, lipoproteins, and plasma coagulation factors in South African blacks on a high-egg but low-fat intake. **American journal of clinical nutrition**, 46: 52-57.

VORSTER, H.H. & VENTER, C.S. 1992. Why fibrinogen should be measured as part of the coronary heart disease risk profile. Aanvaar vir publikasie in **South African medical journal**.

VORSTER, H.H., VENTER, C.S., SILVIS, N., VAN EEDEN, T.S., HUISMAN, H.W. & WALKER A.R.P. 1988. Dietary influences of haemostasis may affect risk for coronary heart disease. **South African journal of science**, 84: 289-293.

VUKOVICH, T., PROIDL, S., KNÖBL, P., TEUFELSBAUER, H., SCHNACK, C. & SCHERNTHANER, G. 1992. The effect of insulin treatment on the balance between tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in type 2 diabetic patients. **Thrombosis and haemostasis**, 68: 253-256.

VUORINEN-MARKKOLA, H., PUHAKAINEN, L. & YKI-JÄRVINEN, H. 1992. No evidence for short-term regulation of plasminogen activator inhibitor activity by insulin in man. **Thrombosis and haemostasis**, 67: 117-120.

WALKER, A.R.P. & WALKER, B.F. 1978. High-density-lipoprotein cholesterol in African children and adults in a population free of coronary heart disease. **British medical journal**, 2: 1336-1338.

WALKER, A.R.P. & WALKER, B.F. 1985. Coronary disease in blacks in underdeveloped populations. **American heart journal**, 109: 1410-1411.

WALKER, I.D., DAVIDSON, J.F. & HUTTON, I. 1976. "Fibrinolytic potential", the response to a 5 minute venous occlusion test. **Thrombosis research**, 8: 629-638.

WATT, F.M. 1986. The extracellular matrix and cell shape. **Trends in biochemical science**, 11: 482-485.

WEISS, S.J. & REGIANI, S. 1984. Neutrophils degrade subendothelial matrices in the presence of alpha-1-proteinase inhibitor. **Journal of clinical investigation**, 73: 1297-1303.

WEITZ, I.J., LESLIE, B. & GINSBERG, J. 1991. Soluble fibrin degradation products potentiate tissue plasminogen activator-induced fibrinogen proteolysis. **Journal of clinical investigation**, 87: 1082-1090.

WIECZOREK, I., LUDLAM, C.A. & MacGREGOR, I.R. 1992. Age dependent changes in the fibrinolytic system are well established in healthy middle aged subjects. **Fibrinolysis**, 6 suppl. 3: 44-46.

WILHELMSSEN, L., SVÄRDSUDD, K., KORSAN-BENGSTEN, K., LARSSON, B., WELIN, L. & TIBBLIN, G. 1984. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. **New England journal of medicine**, 311: 501-505.

- WILLIAMS, J.F. & OLEFSKY, J.M. 1990. Defective insulin receptor function in down-regulated HepG2 cells. **Endocrinology**, 127: 1706-1717.
- WIMAN, B., ALMQUIST, Å., SIGURDARDOTTIR, O. & LINDAHL, T. 1988b. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI) is bound to vitronectin in plasma. **FEBS letters**, 242: 125-128.
- WIMAN, B. & CHMIELEWSKA, J. 1985. A novel fast inhibitor of tissue plasminogen activator in plasma, which may be of great pathophysiological significance. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, 177: 43-47.
- WIMAN, B., CHMIELEWSKA, J. & RÅNBY, M. 1984. Inactivation of tissue plasminogen activator in plasma. Demonstration of a complex with a new rapid inhibitor. **The journal of biological chemistry**, 259: 3644-3647.
- WIMAN, B. & COLLEN, D. 1978. Molecular mechanism of physiological fibrinolysis. **Nature**, 272: 549-550.
- WIMAN, B., LINDAHL, T. & ALMQVIST, Å. 1988a. Evidence for a discrete binding protein of plasminogen activator inhibitor in plasma. **Thrombosis and haemostasis**, 59: 392-395.
- WIMAN, B., LJUNGBERG, B., CHMIELEWSKA, J., URDÉN, G., BLOMÅCK, M. & JOHNSON, H. 1985. The role of the fibrinolytic system in deep vein thrombosis. **Journal of clinical and laboratory medicine**, 105: 265-270.
- WROE, S.J., SANDERCOCK, P., BAMFORD, J., DENNIS, M., SLATTERY, J. & WARLOW, C. 1992. Diurnal variation in incidence of stroke: Oxfordshire community stroke project. **British medical journal**, 304: 155-157.
- WYNDHAM, C.H. 1978. Ischaemic heart disease mortality rates in white South Africans compared with other populations. **South African medical journal**, 54: 595-601.
- YONG, K., COHEN, H., KHWAJA, A., JONES, H.M. & LINCH, D.C. 1991. Lack of effect of granulocyte-macrophage and granulocyte colony-stimulating factors on cultured human endothelial cells. **Blood**, 77: 1675-1680.
- ZWAAL, R.F.A. 1978. Membrane and lipid involvement in blood coagulation. **Biochimica et biophysica acta**, 515: 163-205.