

DIE BESTUDERING VAN DIE MECHANISME VAN HARTSPIERKON=
TRAKSIE MET BEHULP VAN KALIUM-KONTRAKTUUR

Nicolaas Jacobus Allers

Verhandeling voorgelê ter gedeeltelike nakoming van
die vereistes vir die graad Magister Scientia (Fisiologie)
aan die Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys.

Promotor: Dr. J.J. van der Walt

Potchefstroom
1972

INHOUDSOPGAWE

I WAARNEMING EN VERKLARING VAN DIE MEGANISME

HOOFSTUK 1	INLEIDING	
1.1	Motivering en doel van ondersoek	1
1.2	Fisiologiese aspekte van spier= kontraksie	2
1.2.1	Kontraksie en kontraktuur	2
1.2.2	Eksitasie-kontraksie-koppeling	6
1.2.2.1	Aksiepotensiaal en T-buise	6
1.2.2.2	Die sarkoplasmiese retikulum	8
1.2.2.3	Die sarkolemma	12
1.2.3	Die meganisme van kontraksie by hartspeer en skeletspier van soogdiere, paddas en voëls	19
HOOFSTUK 2	METODE	25
HOOFSTUK 3	BESPREKING VAN DIE RESULTATE	32
3.1	Die verskillende fase van ka= liumkontraktuur	32
3.2	Die invloed van verandering in die ekstrasellulêre kaliumkon= sentrasie op kalium-kontraktuur	35
3.3	Die invloed van ekstrasellulêre natriumkonsentrasie op kalium- kontraktuur	39

3.3.1	Die verandering in die ekstrasel= lulêre kaliumkonsentrasie by verskillende konstante ekstrasel= lulêre natriumkonsentrasie	39
3.3.2	Die invloed van verandering in die uitwendige natriumkonsen= trasie op kaliumkontraktuur wat deur 'n konstante verandering in die ekstrasellulêre kalium- konsentrasie opgewek word	45
3.4	Die invloed van lantaan (LaCl_3) en 0 mM ekstrasellulêre kal= sium op kalium-kontraktuur	48
3.4.1	Die invloed van 0 mM ekstra= sellulêre kalsium op kalium- kontraktuur	49
3.4.2	Die invloed van lantaan op kalium-kontraktuur	52
3.5	Kontraktuurewewig as 'n funk= sie van die ekstrasellulêre kalium- en natriumkonsentrasie	55
3.5.1	Die invloed van 'n trapsgewyse verhoging van die kaliumkon= sentrasie op kalium-kontraktuur	56
3.5.2.	Die invloed van 'n trapsge= wyse verlaging in die ekstrasel= lulêre natriumkonsentrasie op kalium-kontraktuur	62

3.6	Samevatting	67
-----	-------------	----

II DIE INVLOED VAN ADRENALIEN EN KAFEÏEN OP DIE MEGANISME

HOOFSTUK 4	INLEIDING	69
HOOFSTUK 5	BESPREKING VAN DIE RESULTATE	73
5.1	Om die invloed van adrenalien op kontraktuur na te gaan	73
5.2	Om die invloed van kafeïen op kontraktuur na te gaan.	79
5.3	Samevatting	85
HOOFSTUK 6	SAMEVATTING, PROBLEEMSTELLING EN VERDERE NAVORSING	87
HOOFSTUK 7	SUMMARY	98
	LITERATUURVERWYSINGS	100
	BEDANKINGS	105

WAARNEMING EN VERKLARING VAN MEGANISME

HOOFSTUK 1

1. INLEIDING

1.1 MOTIVERING EN DOEL VAN ONDERSOEK

Die doel van die ondersoek is om die meganisme van hartspierkontraksie en veral die invloed van kalsium en natrium daarop, na te gaan. Die invloed van kalsium is grootliks bekend, maar wat natrium betref, word daar nog baie gegis. Aangesien die hart funksioneel 'n sleutelposisie in die liggaam beklee en die voortbestaan van die individu afhanklik is van die ononderbroke effektiewe werking daarvan, is dit van belang om die basiese meganisme van hartspierkontraksie te ondersoek. Met hierdie ondersoek is daar nie net gepoog om die meganisme van hartspierkontraksie op te klaar nie, maar ook om 'n model waarmee patologiese toestande van die hart bestudeer kan word, daar te stel. Die bruikbaarheid van hierdie model is getoets deur die invloed van sekere farmakologiese stowwe soos adrenalien en kafeïen op die meganisme na te gaan.

As uitgangspunt van die ondersoek is eksperimentele resultate van mej. J.L. Tait gebruik (55). Hierdie resultate het aangetoon dat met depolarisasie kalium-kontraktuur bestaande uit twee fases ontstaan,

terwyl 'n derde fase tydens repolarisasie ontstaan. Die resultate het egter min lig op die verklaring en meganisme van bg. waarnemings gewerp.

1.2 FISILOGIESE ASPEKTE VAN SPIERKONTRAKSIE

1.2.1 KONTRAKSIE EN KONTRAKTUUR

Kontraksie is 'n normale fisiologiese verskynsel. Daar kan tussen twee tipes kontraksies onderskei word, nl. isotoniese en isometriese kontraksie. 'n Spierkontraksie is isometries as daar geen verkorting van die spier plaasvind nie, maar wel 'n spanningsontwikkeling. Tydens isometriese kontraksie is daar wel 'n ooreenskuiwing van die kontraktiese proteïene, maar vanweë die serie-elastiese elemente word geen uiterlike verkorting waargeneem nie. Tydens isotoniese kontraksie vind daar wel 'n verkorting van die spier plaas, maar die spanning oor die spier bly konstant. 'n Nadeel van beide isotoniese en isometriese kontraksie om spierfunksie te bestudeer, is dat a.g.v. die serie-elastiese elemente en die snelheid waarteen beweging van die kontraktiese proteïene plaasvind, die waargenome spanningsontwikkeling altyd kleiner is as die werklike spanningsontwikkeling op die dwarsbrûe. Hierdie probleem kan vermy word deur skeletspier te tetaniseer. Wat hartspier betref, is dit egter nie moontlik om die spier te tetaniseer nie.

In teenstelling met kontraksie kan kontraktuur 'n normale fisiologiese of 'n nie-fisiologiese verskynsel wees. Kontraktuur word nie alleen eksperimenteel opgewek nie, maar dit is ook 'n normale fisiologiese reaksie van sekere spiere tydens buitengewone spier=vermoeienis (22, 48). Laasgenoemde kontraktuur ontstaan omdat A.T.P. opgebruik raak. Kontraktuur word egter meestal nie as 'n normale fisiologiese proses aangetref nie. Daar vind wel 'n volgehoue spiersametrekkingsproses plaas soos in die geval van tetanus, maar tetanus ontstaan as gevolg van voortgeleidende aksiepotensiale. Dit verskil dus van kontraktuur daarin dat kontraktuur nie voortgeleidende is nie (19, 48).

Kontraktuur kan soos volg gedefinieer word:

Dit is die verskynsel waarin die spier 'n volgehoue, omkeerbare kontraksie met die vrystelling van hitte en die vorming van melksuur vertoon. Daar is egter geen voortgeleidende aksiepotensiale soos in die geval van tetanus aanwesig nie (19, 48). Kontraktuur besit dus dieselfde eienskappe as kontraksie behalwe dat dit nie geleidend is nie. Die studie van kontraktuur is maklik reproduseerbaar en waarneembaar en maak dit gevolglik moontlik om meer van die meganismes van kontraksie, veral die eksitasie-kontraksie-koppeling, te wete te kom. Die depolarisasiegedeelte van die aksiepotensiaal wat kontraksie teweegbring, vind binne 'n fraksie van

'n millisekonde plaas. Dit is 'n regeneratiewe proses wat dus nie op 'n sinvolle manier ondersoek en beheer kan word nie. Aangesien die spanningsontwikkeling en verslapping by kontraktuur relatief stadig plaasvind, speel die serie-elastiese elemente hier geen rol nie en kan die maksimum spanningsontwikkeling op die dwarsbrûge waargeneem word.

Kontraktuur kan eksperimenteel op verskillende maniere opgewek word. Slegs twee van die belangrikste metodes asook hul voordele en nadele word bespreek:

1) *Spanningsklemming*: In spanningsklemming word die membraanpotensiaal op enige willekeurige vlak m.b.v. ingewikkelde elektroniese stroombane geklem. Die groot voordeel van spanningsklemming lê daarin dat die klemming op 'n sekere depolarisasievlak vinnig en noukeurig kan geskied. Spanningsklemming is egter nie van so groot praktiese waarde by die hartspier soos in die geval van senuweevesels nie. By hartspier gaan dit om 'n gekompliseerde sisteem waarby verskillende membrane en interstiële ruimtes betrokke is. Univorme spanningsklemming is dus baie moeilik by hartspier (49). Met spanningsklemming het verskeie outeurs (2) verskillende strome of komponente wat hulle gekoppel het aan spesifieke ioonflukse deur die selmembraan waargeneem. Johnson en Lieberman (49) kritiseer egter hierdie interpretasie aangesien univorme span=

ningsklemming volgens hulle byna nie verwesenlik kan word nie.

ii) *Depolarisasie deurmiddel van verhoging in die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie:* 'n Verhoging in die ekstrasellulêre kalium het 'n depolariserende invloed op die selmembraan. Namate die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie styg, neem die depolarisasie toe. By 'n sekere waarde van depolarisasie begin spanning ontstaan (19, 11, 15, 48). Daar bestaan 'n logaritmiëse verband tussen die uitwendige kaliumkonsentrasie en die membraanpotensiaal (15).

In teenstelling met spanningsklemming is depolarisasie met hoë kalium 'n baie eenvoudige eksperimentele prosedure. 'n Nadeel verbonde aan hierdie metode is dat verandering van een depolarisasievlak na 'n ander depolarisasievlak egter nie so vinnig kan geskied as in die geval van spanningsklemming nie. Ook word kalium-kontraktuur deur 'n hoë onfisiologiese kaliumkonsentrasie opgewek. Teoreties kan daar egter aanvaar word dat daar geen kalium-influks na die binnekant van die spiersel tydens kalium-kontraktuur sal plaasvind nie. Die rede hiervoor is dat daar ook aan die binnekant van die spiersel 'n hoë kaliumkonsentrasie (155 mM) teenwoordig is.

1.2.2 EKSITASIE-KONTRAKSIE-KOPPELING

1.2.2.1 AKSIEPOTENSIAAL EN T-BUISE

Die sleutel tot eksitasie van spiervesels is die aksiepotensiaal. Die aksiepotensiaal sluit 'n algehele depolarisasie van die selmembraan in asook 'n omkering van die membraanpotensiaal van die rustende -80 mV waarde na + 20 mV. Die aksiepotensiaal in die hart ontstaan as gevolg van 'n toename in die membraankonduktansie vir natriumione gevolg deur 'n afname in die weerstand vir kaliumione (57). 'n Belangrike verskil tussen die senu en die hart is dat daar by die hart eers 'n oombliklike afname in kaliumkonduktansie is, voordat daar 'n toename wat vir repolarisasie verantwoordelik is, plaasvind. Onmiddellik na die aksiepotensiaal plaasgevind het, is die kaliumkonduktasie hoër as die rustende waarde en vind daar 'n geleidelike afname wat die diastoliese depolarisasiefase van die aksiepotensiaal veroorsaak, plaas (57). Depolarisasie word opgevolg deur repolarisasie waartydens die membraanpotensiaal na die rustende waarde terugkeer. Omdat die membraankonduktansie weer terugkeer na normaal word dit algemeen aanvaar dat dit die potensiaalverandering van die aksiepotensiaal is wat aanleiding gee tot die eksitasie-kontraksie-koppeling en nie loonflukse nie.

Die eksitasie-kontraksie-koppeling sluit die volgende in: Die aksiepotensiaal versprei oor die sarkolemma van die spiervesels; dit beweeg ook die sarkolemma invouings binne in die sogenaamde T-buise af in die rigting van die sarkoplasmiese retikulum. Waar die T-buise met die sarkoplasmiese retikulum aan weerskante daarvan die triade vorm, gee die elektriese aktivering aanleiding tot die vrystelling van kalsium. Daar vind waarskynlik 'n plaaslike vloeï van stroom vanaf die T-buise na die sarkoplasmiese retikulum plaas. Die vrygestelde kalsiumione diffundeer na die kontraktiele elemente en aktiveer dit om kontraksie teweeg te bring (24). Die elektriese verandering van die membraan is die aanvanklike sneller wat die proses van eksitasie-kontraksie-koppeling begin. Dit laat op sy beurt weer die aktiewe toestand van die kontraktiele sisteem ontstaan. Spierverslapping ontstaan as gevolg van die heropname van die vrygestelde kalsium deur die sarkoplasmiese retikulum.

Wat veral van belang is, is die volgende:

1) Die aksiepotensiaal is die enigste gedeelte van die eksitasie-kontraksie-koppeling meganisme wat intrinsiek gelei word.

ii) Die daarstelling van die T-buissisteem bewerkstellig 'n verbinding van die sarkolemma met die binnekant van die spiervesel. Die aksiepoten=

siaal kan dus vinnig van die buitekant van die spier=vesel, waar dit sy ontstaan het, na die binnekant ge=transporteer word.

iii) Die hele aksiepotensiaal-siklus is van korte duur sodat die hele kontraksie-verslappingsproses baie kort is en in kort rukbewegings voorkom.

1.2.2.2 DIE SARKOPLASMIESE RETIKULUM

Vir die meeste soorte spier word algemeen aanvaar dat kalsium tydens die finale fase van die eksitasie-kontraksie-koppeling deur die sarkoplasmiese retikulum in die sarkoplasma vrygestel word en dat hierdie vrygestelde kalsium die kontraktiele proteïene aktiveer. Dat die sarkoplasmiese retikulum die vermoë besit om kalsium op te neem en vry te stel is aangetoon deur mikrosome uit spierweefsel m.b.v. sentrifugering by 40,000 g te isoleer. Kalsiumopname deur die mikrosome vind plaas direk na byvoeging van A.T.P. of oksalaat terwyl kalsiumvrystelling bewerkstellig word m.b.v. E.D.T.A. (59, '19, 27). Indien geïsoleerde sarkoplasmiese retikulum elektries geprikkel word, is aangetoon dat kalsium vrygestel word (54). Die kalsiumvrystellingsproses deur die sarkoplasmiese retikulum is egter 'n tydsafhanklike proses (24, 53). Die kalsiumvrystellingstempo is in padder skeletspiere gemeet deur van 'n kalsiumbindings-kleurstof, murexide, gebruik te maak. 'n Paar msek. nadat die spier ge=

prikkel is, is daar eers 'n verkleuring waargeneem en die graad van verkleuring het geleidelik toegeneem tot 50 - 75 msek. nadat die stimulus toegedien is (53). Alhoewel die bindingskonstante van kalsium met die kleurstof laag is ($4 \times 10^2 - M^{-1}$), bewys dit nogtans dat die kalsiumvrystelling deur die sarkoplasmiese retikulum 'n tydsafhanklike proses is.

Die vrygestelde kalsiumione diffundeer na die kontraktiele proteïene waar dit die kontraktiele elemente aktiveer en spiersametrekking veroorsaak. Die mate waarin die kontraktiele elemente geaktiveer sal word, sal afhang van die hoeveelheid kalsium vrygestel deur die sarkoplasmiese retikulum d.w.s. die vrye kalsiumioonkonsentrasie in die sarkoplasma. Hellman et. al. (58) was die eerste persone wat met membraanlose spiervesels (skinned muscle fibres) aangetoon het dat die isometriese spanningsontwikkeling deur hierdie tipe vesels 'n funksie van die vrye kalsiumioonkonsentrasie is. Daar is nl. 'n sigmoïede verband gevind indien die isometriese spanningsontwikkeling grafies teenoor die vrye kalsiumioonkonsentrasie uit gesit word.

Hellman et. al. (58) gee die drempelwaardekonsentrasie waar spanning begin ontwikkel as $1,0 \times 10^{-8} M$ aan terwyl die maksimum spanning tussen $3,2 \times 10^{-8} M$ tot $3,2 \times 10^{-7} M$ bereik is. Hierdie membraanlose spiervesels is lewende spiervesels waarvan die membraan (sarkolemma) verwyder is.

Spierverslapping word bewerkstellig deur die opname van kalsium deur die sarkoplasmiese retikulum. Vir spierverslapping breek die gebonde kalsiumione weg van die kontraktiele proteïene as gevolg van 'n verlagings in die konsentrasie van vrye kalsiumione in die sarkoplasma. Die spier verslap volkome sodra die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie onder die meganiese drempelwaarde daal. Spierverslapping sal dus bepaal word deur:

- i) Die tempo van kalsiumopname deur die sarkoplasmiese retikulum.
- ii) Die diffusiesnelheid van die kalsiumione in die sarkoplasma na die sarkoplasmiese retikulum.
- iii) Die tydsduur wat die kalsiumione neem om van die kontraktiele proteïene weg te breek (24).

Volgens Ebashi (24) vind kalsiumopname deur die sarkoplasmiese retikulum in die volgende twee stappe plaas:

1. Kalsiumione bind eers met spesifieke punte op die membraan van die sarkoplasmiese retikulum. Hierdie proses is die kritiese stap in spierverslapping.
2. 'n Gedeelte van hierdie gebonde kalsium word dan in die lumen van die sarkoplasmiese retikulum getransporeer. Die hoeveelheid kalsium wat op hierdie wyse in die sarkoplasmiese retikulum sal akkumuleer, sal van die reeds bestaande vrye kalsiumioonkonsentrasie in die lumen afhang.

Die binding van kalsium aan die sarkoplasmiese retikulum is energie-afhanklik sodat A.T.P. in hierdie proses benodig word. In die afwesigheid van A.T.P. verbind magnesiumione met die sarkoplasmiese retikulum; in die aanwesigheid van A.T.P. verminder die gebonde magnesium en neem die binding van kalsium toe. Die kalsium verplaas dus waarskynlik die gebonde magnesium. 'n Moontlike verklaring hiervoor is dat die bindingsplekke op die sarkoplasmiese retikulum in die afwesigheid van A.T.P. 'n groter affiniteit vir magnesiumione as vir kalsiumione het. Die byvoeging van A.T.P. het een of ander konformasieverandering van die bindingsplek tot gevolg wat veroorsaak dat dit 'n groter affiniteit vir kalsium- as vir magnesiumione (24, 26) ontwikkel.

Die tempo van kalsiumopname deur die sarkoplasmiese retikulum word deur die volgende bepaal:

i) Die bindingskapasiteit, d.w.s. die aantal beskikbare bindingsplekke op die sarkoplasmiese retikulum en

ii) Die bindingsnelheidskonstante, d.w.s. die snelheid waarteen die kalsium aan hierdie punte bind.

Die bindingsnelheidskonstante is as $1270 \text{ M}^{-1} \text{ sek}^{-1}$ vir rooi skeletspier en as $2\,400 \text{ M}^{-1} \text{ sek}^{-1}$ vir hartspier bepaal (25). Die maksimale kalsiumakkumulasie deur kardiaale sarkoplasmiese retikulum in die

afwesigheid van oksalaat is as $15 - 20 \mu \text{ mole/g}$ proteïen gemeet. Vir skeletspier was dit tussen $120 - 140 \mu \text{ mole/g}$ proteïen (27).

1.2.2.3 DIE SARKOLEMMA

Die moontlikheid van vloei van kalsium deur die selmembraan bestaan omdat aangetoon is dat die selmembraan wel vir kalsium deurlaatbaar is. Hierdie deurlaatbaarheid vir kalsium is direk met radioisotope en indirek met behulp van elektro-fisiologiese metodes aangetoon.

Die grootte en rigting van vloei deur die selmembraan word bepaal deur die potensiaalgradiënt oor die membraan, die konsentrasiegradiënt oor die membraan en deur die grootte van die membraandeurlaatbaarheid vir kalsium. Dit is bekend dat die kalsium-ewewigspotensiaal (V_{Ca}) in die omgewing van $+ 60 \text{ mV}$ is (57). Die potensiaalgradiënt vir kalsium tydens rus is dus ongeveer 140 mV ($V_r - V_{Ca}$). Die potensiaalgradiënt vir kalsium is sodanig gerig dat daar 'n kalsiuminfluks sal plaasvind. Wat die konsentrasiegradiënt betref, is die kalsiumkonsentrasie aan die buitekant van die sel ongeveer 1.8 mM terwyl dit aan die binnekant in die omgewing van 10^{-7} M is. As gevolg van hierdie konsentrasieverskil oor die selmembraan sal daar ook 'n kalsiuminfluks plaasvind. Aangesien beide die konsentrasiegradiënt en

die potensiaalgradiënt 'n influks tot gevolg het, is dit duidelik dat die sisteem nie sonder meer in 'n termodinamiese ewewig verkeer nie.

Die verband tussen ekstrasellulêre kalsiumkonsentrasie en influks is deur Winegrad et. al. (1) met die atriums van marmotte nagegaan. Hulle het gevind dat as die ekstrasellulêre kalsiumkonsentrasie 1,25 mM is, dan is die rustende influks $0,016 \pm 0,003 \mu\text{M mol/cm}^2$ - sekonde; as die ekstrasellulêre kalsiumkonsentrasie daarenteen 3,75 mM is, dan is die rustende influks $0,048 \pm 0,009 \mu\text{M mole/cm}^2$ - sekonde. Daar bestaan 'n lineêre verband tussen die rustende kalsiuminfluks en die uitwendige kalsiumkonsentrasie (1).

In die aktiewe toestand is daar 'n potensiaalverandering oor die selmembraan waartydens die kalsiuminfluks ook van die konsentrasiegradiënt afhanklik is. 'n Potensiaalverandering oor die selmembraan kan teweeggebring word deur elektriese stimulasie, spanningsklemming of deur 'n verhoging in die uitwendige kaliumkonsentrasie. Al die huidige gegewens dui daarop dat depolarisasie die membraanpermeabiliteit vir kalsium verhoog en sodoende 'n verhoogde kalsiuminfluks deur die selmembraan bewerkstellig. Winegrad et. al. (1) het in die atriums van marmotte wat geprikkel word teen 6 prikkels per minuut, 'n akkumulasie van kalsium van $0,15 \pm 0,043 \mu\text{M}$

mole/ $\text{Ca}^{45}/\text{cm}^2$ / impuls gevind, terwyl 'n verhoging in die prikkeltempo na 15 prikkels per minuut 'n akkumulاسie van kalsium van $0,49 \pm 0,13 \mu\text{mole Ca}^{45}/\text{cm}^2$ / impuls teweeggebring het. Daar is in die ventrikels van die padder aangetoon dat die kalsiuminfluks per prikkeling onder optimum toestande ongeveer 1-2 $\mu\text{mole/L}$. van liggaamswater is (28, 29).

Met spanningsklemming by -40 mV kon Beeler en Reuter (2) 'n stadige komponent van die negatiewe stroom aantoon. Dit interpreteer hulle as 'n kalsiuminfluks deur die selmembraan. Hulle het met ventrikelspier van honde gevind dat met 'n verhoging in depolarisasie 'n oombliklike verhoging in die stadige komponente van die negatiewe stroom plaasvind, terwyl daar eers na etlike herhalings van die depolarisasie 'n verhoging in die kontraksiekrags bespeur kan word. Hulle het hierdie verskynsel geïnterpreteer deur aan te neem dat die kalsiumstoor eers tot 'n nuwe vlak gevul moet word voordat 'n toename in die kontraksiekrags waargeneem kan word. Johnson en Lieberman (49) kritiseer egter hierdie interpretasie. Volgens hulle kan hierdie stadige negatiewe komponent net sowel 'n natriumstroom of 'n gedeelte van 'n natriumstroom wees.

'n Belangrike faktor wat die grootte van die kalsiuminfluks sal bepaal, is die Na-Ca-antagonisme nl. 'n verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie sal 'n verhoogde kalsiuminfluks tot gevolg hê (13).

Volgens Langer (3) sal beide 'n verlaging in die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie en 'n verhoging in die intrasellulêre natriumkonsentrasie 'n verhoogde kalsiuminfluks teweegbring.

Teoreties kan aanvaar word dat daar 'n kalsiumuitfluks moet wees om die voortdurende kalsiuminfluks teen te werk en sodoende spierverslapping te verseker. Net soos wat die potensiaalgradiënt en die konsentrasiegradiënt oor die selmembraan die invloed van kalsium teweegbring, verhinder dit die passiewe uitvloeï van kalsium. Die uitvloeï van kalsium is dus 'n aktiewe proses.

Hierdie uitfluks is veral aangetoon met radio-aktiewe Ca^{45} waar die spierweefsel eers vooraf met radio-aktiewe Ca^{45} opgelaaï is en die kalsiumuitfluks dan gemeet is (1, 2). Winegrad et. al. (1) het met behulp van radio-aktiewe Ca^{45} gevind dat nieteenstaande 'n verhoogde kalsiuminfluks tydens kontraksie van die atria van marmot wat langer as 'n uur geprikkel (1050 sametrekkings) is, daar geen finale kalsiumopname was nie. Hierdie onvermoë om kalsium ten spyte van 'n verhoogde kalsiuminfluks te akkumuleer dui op 'n parallelle verlies van kalsium. Die kalsiuminfluks is dus gelykstaande aan die kalsiumuitfluks vir die ewewigstoestande. Die kalsiumuitfluks wat met kalsiuminfluks gepaard gaan, dui dus op die moontlike bestaan van 'n homeostatiese meganisme wat funksioneer om 'n relatiewe konstante

intracellulêre kalsiumkonsentrasie te handhaaf.

Reuter et. al. (47) het gevind dat die kalsiumuitfluks van die hartspleer van marmot wat vooraf met radio-aktiewe Ca^{45} opgelaa is, grootliks afhanklik is van die ioonsamestelling van die eksterne medium. In 'n natriumvrye oplossing word die netto kalsiumuitfluks gehinbeer met die gevolg dat daar 'n verhoogde sellulêre opname van kalsium plaasvind. Volgens hierdie outers hang die kalsiumuitfluks ook grootliks van die $\frac{[\text{Ca}^{2+}]}{[\text{Na}^+]^2}$ - verhouding af. Vergelykend met die kontrole effluks in 1,8 mM uitwendige kalsiumkonsentrasie verlaag die kalsiumeffluks na 70% in 'n kalsiumvrye oplossing; na 20% in 'n kalsiumvrye, natriumvrye oplossing en na 65% in 'n kalsiumbevattende, natriumvrye oplossing.

Reuter et. al. (47) het ook gevind dat die kalsiumuitfluks afhanklik is van die omgewingstemperatuur - 'n temperatuurverlaging verlaag die kalsiumuitfluks. Die kalsiumuitfluks verlaag van 1 na $0,65 \pm 0,005$ met afkoeling van 35°C en 25°C en na $0,29 \pm 0,008$ indien die temperatuur vanaf 35°C na 3°C verlaag word.

Dit is vandag 'n algemeen aanvaarde fisiologiese verskynsel dat 'n verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie sowel as 'n verhoging van die uitwendige kalsiumkonsentrasie beide 'n positiewe inotropiese

effek op die hart het. Willbrandt en Koller (9) was die eerste outeurs wat in 1948 aangetoon het dat die kontraksiespanning van die hart bepaal word deur die verhouding van die kalsiumkonsentrasie tot die vierkant van die natriumkonsentrasie in Ringeroplossing nl. $\frac{[Ca^{2+}]}{[Na^+]^2}$. Hierdie waarneming is in 1957 deur Niedergerke en Luttgau (5, 17) bevestig. Hulle het aangeneem dat kalsium en natrium kompeteer vir dieselfde anioongroepe R op die seloppervlakte om 'n aktiewe kalsiumkompleks (CaR) of 'n onaktiewe natriumkompleks (NaR) te vorm.



Word die totale aantal anioongroepe as 'n eenheid beskou en word aangeneem dat hierdie groepe of deur kalsium of natrium beslaan word, lei die wet van massa-aksie tot die volgende:

$$\frac{[Ca^{2+}]}{k[Na^+]^2} = \frac{[CaR]}{1 - [CaR]}$$

waar k die ewewigskonste van die reaksie is. Die Ca-Na-antagonisme geld nie deurgaans vir alle soorte spierweefsels nie (6, 7, 8, 10). Met ventrikels van paddahart is gevind dat met 100 mM kalium-kontrakture die Ca-Na-antagonisme wel geld vir beide die piekspanning wat tydens die eerste 20-30 sek. waargeneem word, sowel as vir die konstante platospannings

(5). Vir vinnige skeletspier is daar gevind dat 'n vermindering in die uitwendige natriumkonsentrasie 'n geringe invloed het (11). Daar is selfs verskille tussen atriale en ventrikulêre spier van harte van soogdier t.o.v. die Ca-Na-antagonisme gevind (8). Daar is gevind dat die Ca-Na-antagonisme vir die atria en ventrikel van harte van soogdier geld, maar dat die verhouding $[Ca^{2+}] u / [Na^+] u^2$ nie vir hierdie ventrikulêre spier geld nie. Dit blyk dus dat die Ca-Na-antagonisme geld vir stadige skeletspier (10, 12), die ventrikels van paddahart (5, 13) en die ventrikels en atriums van soogdiere (8) maar dat dit afwesig is by vinnige skeletspier (11, 12).

Volgens verskeie outeurs (10, 8, 7) wil dit voorkom asof die oorsaak hiervoor aan die hand van ultrastrukturele morfologiese verskille tussen die verskillende soorte spierweefsel gesoek kan word. Daar is gevind dat die sarkoplasmiese retikulum sisteem by stadige skeletspier baie swak ontwikkel is in vergelyking met vinnige skeletspier (10). Nou ontstaan die vraag of vinnige skeletspier waar die sarkoplasmiese retikulum goed ontwikkel is, nie hoofsaaklik van hierdie sisteem gebruik maak om 'n verhoging in die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie te weeg te bring nie. Stadige skeletspier, ventrikels van paddahart en atriale en ventrikulêre spierweefsel van harte van soogdier waar die sarkoplasmiese retikulum sisteem swak ontwikkel is, word miskien verplig om van die sarkolemma gebruik te maak as 'n

roete om die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie te verhoog. Hierdie soort spierweefsel sal dus van die Ca-Na-antagonisme afhanklik wees.

Daar is ook gevind dat die antagonisme tussen kalsium en natrium as 'n funksie vir die ontwikkeling van spanning kwantitatief van die frekwensie van kontraksie (55) afhang. Daar is verder gevind dat die inhiberende invloed van natrium met 'n verhoging in die kontraksie frekwensie verminder en dat die krag van kontraksie van papillêre spier van marmot deur die $[Ca^{2+}]_u / [Na^+]_u^2$ - verhouding alleenlik in die frekwensiegebied tussen 0,5 en 1,0 /seconde bepaal word. Hierdie verband waar spanningsontwikkeling kwantitatief afhanklik is van die frekwensie van kontraksie is deur Winegrad et. al. (1) met radio-aktiewe Ca^{45} aangetoon.

Die belangrikheid van die Ca-Na-antagonisme lê dus daarin opgesluit dat dit die kalsiuminfluks en -uitfluks deur die sarkolemma beheer en sodoende die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie bepaal. Die Ca-Na-antagonisme kan dus in werklikheid as 'n beheermeganisme van spierkontraktiliteit beskou word.

1.2.3 DIE MEGANISME VAN KONTRAKSIE BY HARTSPIER EN SKELETSPIER VAN SOOGDIERE, PADDAS EN VOËLS

In die onderstaande bespreking is 'n vergelykende opsomming gedoen tussen vinnige skeletspier en

stadige skeletspier wat betref hul kontraktiese eienskappe en hul morfologiese bou. Hiervolgens is gepoog om hartsier volgens hierdie riglyn onder een van die twee groepe te klassifiseer.

Wanneer vinnige skeletspierweefsel in 'n hoë KCl-oplossing geplaas word, ontwikkel dit baie goue kontraktoerspanning wat sy maksimum binne 5-10 sekondes bereik om dan 'n plato te vorm waarna dit in die volgende minuut spontaan verslap (12). Die duur van hierdie platolengte is afhanklik van die uitwendige kalsiumkonsentrasie nl. 'n trapsgewyse verlaging in die uitwendige kalsiumkonsentrasie van 4 mM na 2 mM bring 'n verkorting van die platolengte mee sonder enige afname in plathoogte. 'n Afname in die finale plathoogte van spanningsontwikkeling kan eers waargeneem word indien die uitwendige kalsiumkonsentrasie onderkant .2 mM verlaag word (12).

Indien stadige skeletspierweefsel daarenteen in 'n hoë KCl-oplossing geplaas word, ontwikkel dit stadig kontraktoerspanning om dan 'n plato te vorm. Dit behou hierdie plato solank as die hoë KCl daarop inwerk (12). Indien die kontraktoeroplossing vervang word met normale Ringeroplossing, bly die bestaande spanning vir 10-20 sekondes voortbestaan voordat daar 'n vinnige en volkome verslapping plaasvind. Vinnige skeletspier (fasiese spierweefsel) verslap spontaan ten spyte van 'n volgehoue depolarisasie.

risasie terwyl stadige skeletspier (toniese spierweefsel) eers verslap as repolarisasie plaasvind (12, 10, 8). By toniese spierweefsel is gevind dat indien die uitwendige kalsiumkonsentrasie stapsgewyse vanaf ,25 mM na 2 mM en dan na 4 mM verhoog word, daar 'n verhoging in die plathoogte plaasvind (12). Hierdie effek van 'n verhoging in kalsium kan ook verkry word deur die uitwendige natriumkonsentrasie te verlaag. Die Ca-Na-antagonisme geld dus wel vir stadige skeletspier in teenstelling met vinnige skeletspier waar daar geen afname in kontraktuurhoogte met 'n geleidelike vermindering in die uitwendige kalsiumkonsentrasie vanaf 4 mM na ,2 mM gevind is nie. Sally Page (10) het gevind dat indien die anterior latissimus spier (stadige skeletspier) van die kuiken onderwerp word aan 'n 150 mM - KCl-oplossing dit binne 15-30 sekondes 'n vinnige eerste fase ontwikkel, opgevolg word deur 'n tweede meer volgehoue stadige fase. Beide die eerste vinnige fase en die tweede stadige fase van kontraktuur verlaag indien die uitwendige kalsiumkonsentrasie verlaag word. Indien die uitwendige kalsiumkonsentrasie vanaf 5 mM na 0 mM verlaag word, vind daar binne 'n paar minute 'n verlaging in die tweede fase na die basislyn plaas terwyl daar eers na ongeveer 2 uur 'n afname in die eerste vinnige fase plaasvind. In teenstelling hiermee het Irwin et. al. (18) gevind dat indien die uitwendige kalsiumkonsentrasie by stadige skeletspier van die padde na 0 verlaag word,

dit baie stadig kontraktuurspanning verloor en van 3-4 uur neem om tot die basislyn terug te keer.

Daar bestaan groot morfologiese verskille tussen stadige en vinnige spierweefsel. Fasiese spiervesels is ryklik voorsien van sarkoplasmiese retikulum in teenstelling met toniese spiervesels (10, 16, 6 en 19). Sally Page (10) het gevind dat daar slegs een triade of diade per sarkomeer in die anterior latissimus spier (stadige skeletspier) van die kuiken voorkom, terwyl die posterior latissimus spier (vinnige spierweefsel) 8 triades per sarkomeer besit. Volgens 'n oorsig in 'n artikel van Smith (14) is die sarkoplasmiese retikulum en die T-buissisteem baie swakker ontwikkel in stadige skeletspier en sommige invertebrate gladde spier as in vinnige skeletspier. Volgens Smith bestaan daar 'n verband tussen die spoed van kontraksie en die graad van ontwikkeling van die sarkoplasmiese retikulumsisteem by spierweefsel. By stadige spierweefsel waar die sarkoplasmiese retikulum feitlik afwesig is, wil dit voorkom asof die vloei van kalsium deur die selmembraan en diffusie van hierdie kalsium na die kontraktiele sisteem 'n verklaring is vir hierdie spierweefsel se afhanklikheid vir aktiwiteit. Ander minder belangrike morfologiese verskille is dat die Z-lyn van stadige spierweefsel onreëlmatig en ongelyk in voorkoms is, terwyl dit by vinnige spierweefsel relatief reguit voorkom. Ook die M-lyn in die middel

van die A-band is afwesig in die geval van stadige spiervesels maar nie in vinnige spiervesels nie (6).

Hartspier vertoon 'n baie noue ooreenkoms met stadige skeletspier beide wat betref die invloed van ioon= veranderinge op kontraktuur en ook morfologiese ooreenkomste.

'n Verhoging in die uitwendige kaliumkonsentrasie of depolarisasie veroorsaak 'n volgehoue kontrak= tuurspanning by hartspier soortgelyk aan die van stadige spierweefsel (15, 13 en 16). Net soos in die geval van stadige spierweefsel is die platowaarde van hoë KCl-kontraktuur by hartspier ook grootliks afhanklik van die Ca-Na-verhouding (15, 13). Ook vertoon hartspier en stadige spierweefsel morfologiese ooreenkoms wat betref hul sarkoplasmiese rangskik= king, aangesien beide 'n reduksie in die sarkoplas= miese sisteem in vergelyking met vinnige skeletspier vertoon (14, 19). Vir alle praktiese doeleindes kan hartspier en stadige spierweefsel saam gegroepeer word.

Oorsigtelik kan bogenoemde gegewens dus soos volg saam= gevat word om die hoofverskille tussen (i) vinnige spierweefsel; (ii) stadige spierweefsel en hart= spier na vore te bring nl.:

1) 'n Verhoging van die uitwendige kaliumkon= sentrasie of depolarisasie veroorsaak 'n fasiese

kontraktuur by vinnige spiervesels terwyl dit 'n volgehoue kontraktuur by hartspier en stadige spiervesels vertoon.

ii) Indien die uitwendige kalsiumkonsentrasie verhoog word, neem die duur van die platolengte van fasiese kontrakture toe, maar die finale platohoogte bly onveranderd; terwyl by toniese spierweefsel en hartspier daar 'n toename in die finale platohoogte plaasvind.

'n Verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie het dan ook feitlik geen invloed op vinnige spiervesels nie, terwyl dit in die hart en stadige spiervesels die effek van kalsium bevoordeel. *Dit dui dus daarop dat die Ca-Na-antagonisme wel vir stadige en hartspier geld, maar nie vir vinnige spierweefsel nie.*

iii) Morfologiese stem hartspier en stadige spierweefsel ooreen in die sin dat hulle relatief min sarkoplasmiese retikulum in vergelyking met vinnige spierweefsel besit.

HOOFSTUK 2

METODE

Vir die eksperimente in hierdie werkstuk is daar gebruik gemaak van papillêre en trabekulêre spiertjies van sowel die linker en regter ventrikels van harte van marmotte. Die marmotte gebruik, het 'n gemiddelde massa van ongeveer 0,75 Kg gehad en hulle ouderdom het gewissel tussen 5 en 7 maande. Van al die spierpreparate gebruik, was 60% papillêre spiertjies van die regter ventrikel; 17% trabekulêre spiertjies van die regter ventrikel en 23% trabekulêre spiertjies van die linker ventrikel. Die papillêre spiertjies het gewissel tussen 0,1 mm en 0,8 mm waarvan 76% tussen 0,3 en 0,5 mm was, terwyl 75% van al die trabekulêre spiertjies dunner as 0,3 mm was.

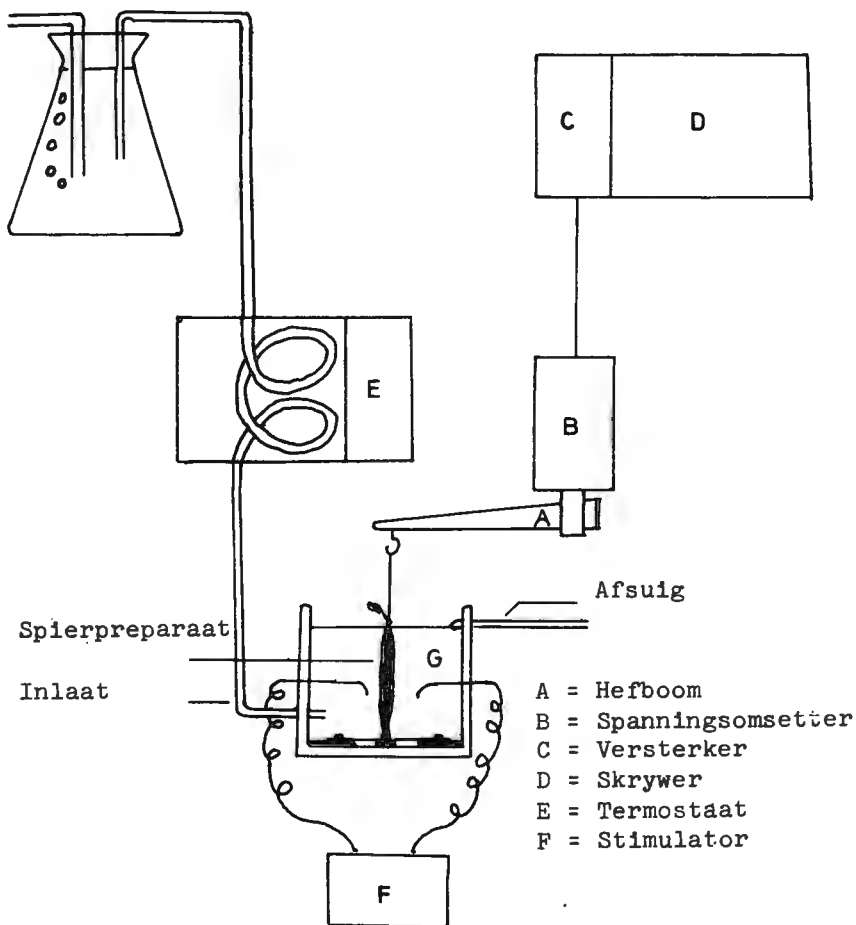
Die proefdier word gedood deur dit agter die nek met 'n plank te slaan en dan die a. karotis deur te sny sodat die dier hom dood bloei. Die borskas word dan vinnig oopgesny; die hart verwyder en in 'n perfusiebad geplaas. Hierdie hele proses duur gemiddeld tussen 1 en 2 minute. Tydens die uitdissektering van die spierpreparaat word die hart met warm (37°C), suurstofversadigde Tyrode geperfuseer. Die uitdissektering van 'n papillêre spiertjie het soos volg plaasgevind:

Die ventrikelwand is versigtig losgesny en oopge= flap sodat die papillêre en trabekulêre spiertjies blootgelê is. 'n Dunnerige papillêre spiertjie is m.b.v. 'n stereo-mikroskoop gesoek. Somtyds is 2-4 harte van marmotte gebruik voordat 'n geskik= te spiertjie gevind is. Die cordae tendinae van die papillêre spiertjie word deurgesny en 'n fyn sykous= draadjie daaraan vasgeheg. Die spiertjie word ef= fens uitgerek en versigtig van die ventrikelwand losgesny totdat dit slegs deur 'n klein spierstro= kie aan die ventrikelwand vasgeheg is. Die spier= preparaat word vir 10-20 minute in hierdie uitge= rekte posisie gelaat sodat die deurgesnyde vesels kan herstel en ook om te verhoed dat dit in kon= traktuur gaan.

Die spiertjie word dan geheel en al losgesny van die ventrikelwand en na 'n tweede perfusiebadjie oorgeplaas. Die end waar die spiertjie van die ventrikelwand losgesny is, is in 'n klein vlek= vrye staalknyper aan die onderkant van die perfu= siebad vasgeknyp. Die tendon is met behulp van die sykousdraadjie wat daaraan vasgeheg is, aan 'n Statham isometriesse spanningsomsetter verbind sodat die spiertjie in 'n vertikale posisie verkeer het. Die omsetter was op 'n mikromanupulator ge= monteer sodat die spiertjie uitgerek kon word en die voorspanning op die spiertjie ingestel kon word. Die omsetter is weer op sy beurt gekoppel aan 'n

versterker wat die sein aan die skrywer oordra. In die meeste eksperimente gedoen, is 'n Watanabe potensiometriese skrywer met 'n maksimum sensitiviteit van 0,04 mV/cm gebruik. Aan weerskante van die spierpreparaat was daar prikkelelektrodes in 'n vertikale posisie gemonteer waarmee die spierpreparaat teen 'n tempo van 60/minuut geprikkel is. Die uitdissekering en montering van die spierpreparaat het met behulp van 'n stereo-mikroskoop geskied.

Voordat daar egter begin is met die prikkeling van die spierpreparaat is die basislyn in die onuitgekte posisie geregistreer. Hierna is die spierpreparaat versigtig met behulp van die mikromanupulator uitgerek sodat daar 'n voorspanning wat gewissel het tussen $\pm 100 - \pm 200$ mg op die spiertjie geplaas is. Die prikkeling is vir ongeveer 15-30 minute volgehou totdat daar stabiliteit in die basislyn sowel as die kontrakshoogte bereik is, waarna die prikkeling gestaak is en met die eksperiment begin is. 'n Sketsmatiese voorstelling van die opstelling van die apparaat word in figuur A uitgebeeld.



Figuur A 'n Sketsmatiese voorstelling van die op-
 stelling van die apparaat.

Die spierpreparaat is voortdurend geperfuseer. Die inlaat was aan die sykant van die perfusiebad regoor die spier en die uitlaat aan die ander kant aan die bokant van die spier. Die vloeistofvlak is konstant gehou deur die vloeistof met 'n suigpomp weg te suig. Die perfusiesnelheid is deurgaans konstant gehou en die gemiddelde perfusiesnelheid was 7cc/min. Die volume van die perfusiebad was ongeveer 2.5 cc.

Suiwer mediese suurstof is teen 'n konstante snelheid deur alle perfusievloeistowwe geborrel voordat dit deur die perfusiebad gevloei het. Voordat die perfusievloeistof in die perfusiebadjie gevloei het is dit met behulp van 'n termostaat-sisteem tot 37°C verhit.

In alle perfusievloeistowwe wat 'n verlaagde natriumkonsentrasie bevat, is die natrium deur 'n ekwivalente hoeveelheid Tris Cl vervang ten einde osmolariteit te handhaaf. Die Tris Cl het ook as buffer gedien. Die Tris Cl-buffer is soos volg aangemaak: Die afgewegde hoeveelheid Tris Cl wat genoeg is om 1M aan te maak, is in 800 cc water opgelos en effens verhit. Hierna is die opgeloste Tris Cl se pH met behulp van 'n pH-meter tot 7.4 ingestel. Gekonsentreerde soutsuur is gebruik om die pH na 7.4 te verlaag. Die pH-instelling het by 37°C geskied. Hierna is die Tris Cl verder tot 1 L opgemaak. 1 gm/L D⁺-glukose is by alle perfusie=

vloeistowwe gevoeg om in die voedingsbehoefte van die spierpreparaat te voorsien. Die ioonsamestelling van die Tyrode oplossing waarin die spier verkeer het voordat daar met die eksperiment begin is, was die volgende:

1,8 mM Ca; 0,5 mM Mg; 138 mM Na; 5,4 mM K en 12 mM Tris Cl

In alle eksperimente behalwe waar kontrole-registrasies van normale kontrakasies geregistreer is, is daar by 'n verlaagde natrium gewerk. Om in die osmolariteit vir die verlaging in natrium te kompenseer, is die natrium deur 'n ekwivalente hoeveelheid Tris Cl vervang, d.w.s. die Tris Cl is verhoog. In perfusievloeistowwe waar daar 'n verhoging in die kaliumkonsentrasie was, is die Tris Cl ooreenkomstig verlaag. In alle perfusievloeistowwe is sorg gedra dat die konsentrasie van natrium, kalium en Tris Cl saam 155,4 mM beloop het. Vir die verandering van natriumchloried en kaliumchloried deur Tris Cl is aangeneem dat 'n iso-osmotiese toestand vir ekwimolêre vervangings bestaan.

Aan die einde van elke eksperiment is die spierpreparaat eers weer in normale Tyrode geprikkel om seker te maak dat die spier nie beskadig is tydens die eksperiment nie. Daar is ook gekontroleer of die basislyn (referensie spanning) van die sisteem nie met die verloop van die eksperiment verskuif

het nie deur 'n registrasie op te neem waar die spier
heeltemal verslap is.

HOOFSTUK 3

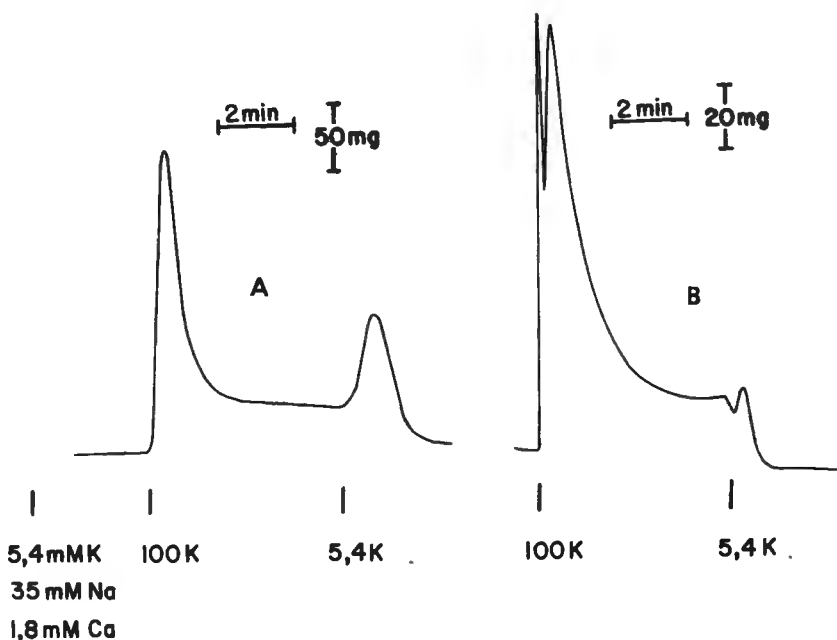
BESPREKING VAN DIE RESULTATE

3.1 DIE VERSKILLENDE FASES VAN KALIUM-KONTRAKTUUR

In hierdie ondersoek is daar gebruik gemaak van kalium-kontraktuur. Die algemeenste vorm van kalium-kontraktuur bestaan uit 3 fases (figuur 1(b)).

Met kaliumdepolarisasie ontwikkel die spierpreparaat vinnig spanning gedurende die eerste 10-15 sekondes waarna dit gedurende die volgende 15-60 sekondes spontaan verslap. 'n Tweede spanningsontwikkeling wat ook spontaan verslap om af te plat tot 'n platowaarde word hierna waargeneem. Met terugskakeling na die kontrole-oplossing waartydens repolarisasie van die spierpreparaat plaasvind, ontwikkel dit weer spanning om die derde fase te vorm en verslap dan spontaan na die basislyn terug.

Uit 'n groot gedeelte van die eksperimente met kalium-kontraktuur was die tweede fase - waar dit na die eerste vinnige komponent van kontraktuur tot 'n platowaarde afnaam - egter afwesig (figuur 1(a)). Ook hier was die derde fase aanwesig met terugkering na die kontrole-oplossing, dus met repolarisasie.



Figuur 1 Die verskillende fases van kalium-kontraktuur. Fig. 1(a) Papillêre spier van regter ventrikel met deursnit van 0.3 mm; Fig. 1(b) Papillêre spier van linker ventrikel met deursnit van 0.5 mm

Uit algemene waarnemings wat oor 'n groot aantal eksperimente gedoen is, is daar opgemerk dat skeiding van die eerste en tweede fase baie moeilik is. Hierdie skeiding is ook uiters gevoelig vir veranderinge in die uitwendige ioonsamestelling, veral die uitwendige natriumkonsentrasie. Daar is gevind dat die tweede fase slegs na vore tree indien

daar by uitwendige natriumkonsentrasies laer as 50 mM gewerk word. Somering van die eerste en tweede fase het meestal plaasgevind sodat dit onmoontlik was om die amplitudes van hierdie fases afsonderlik te bepaal. Selfs in eksperimente soos figuur 1(b) het herhaling dikwels nie dieselfde grootte vir fase een en twee gegee nie. Die verskyning van die derde fase wat gepaard gaan met repolarisasie was soms nie teenwoordig nie. Dit het dit veral gelyk of die verskyning van hierdie fase afhanklik is van 'n sekere minimum kaliumkonsentrasie.

Page (10) het met stadige skeletspier van kuiken en Niedergerke (13) met ventrikels van paddahart, beide met kalium-kontraktuur, 'n eerste aanvanklik vinnige fase wat opgevolg word deur 'n tweede meer uitgesproke platofase, aangetref. Page (10) het ook gevind dat veral die tweede meer volgehoue fase afhanklik is van veranderinge in die uitwendige kalium-, magnesium- en kalsiumkonsentrasie. Hierdie vinnige eerste komponent van kontraktuurspanningsontwikkeling is ook aanwesig by atriumspier van mar= mot (20, 8); ventrikels van paddahart (5, 15, 17); atriale spier van kalf (8) en by vinnige skeletspier (7, 21).

In teenstelling met Page (10) het verskeie outeurs egter gevind dat die eerste aanvanklik vinnige komponent van kalium-kontraktuur by stadige skeletspier afwesig is (7). Wat die derde betref, het

Beeler et. al. (22) en Leoly (23) ook 'n addisionele spanningsontwikkeling of derde fase waargeneem tydens die repolarisasiegedeelte van spanningsklemming.

Uit hierdie literaturopsomming blyk dit dus dat die meeste navorsers onder min of meer identiese eksperimentele omstandighede vir vinnige skeletspier en vir hartspier van padderstroom en soogdier kontraktuurregistrasies verkry het wat min of meer ooreenstem met figuur 1(a), die derde fase uitgesonder. In die literatuur word daar ook egter geen eenduidige verklaring vir die meganismes wat die fases tot gevolg het, aangedui nie.

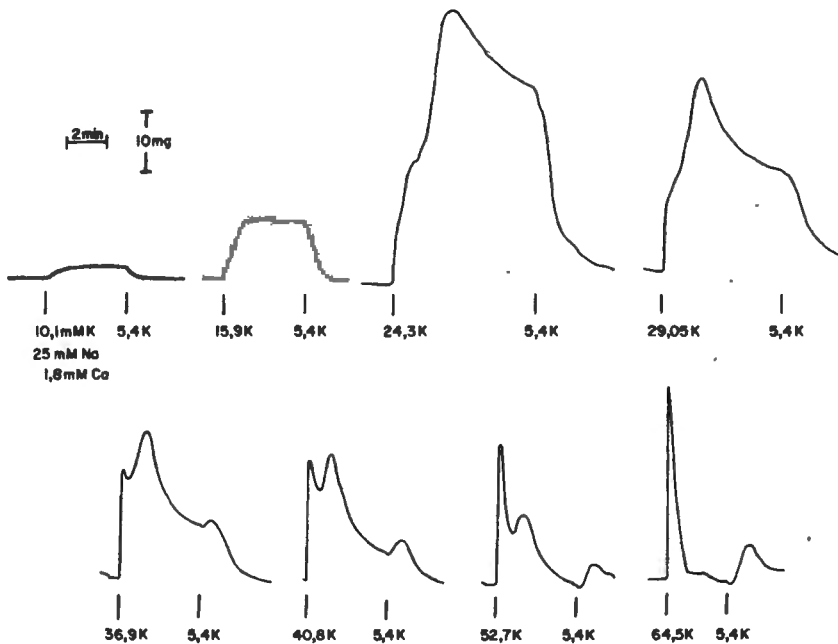
3.2 DIE INVLOED VAN VERANDERING IN DIE EKSTRASEL- LULERE KALIUMKONSENTRASIE OP KALIUM-KONTRAKTUUR

Die eksperimentele prosedure in bogenoemde reeks eksperimente was as volg:

Nadat die spierpreparaat vir 'n tyd lank in normale Tyrode geprikkel is, is daar oorgeskakel na 'n kontrole-oplossing wat 'n lae natrium- en normale kalium- en kalsiumkonsentrasie bevat het. In die loop van hierdie eksperiment is tekens na elke kontraktuur weer terug geskakel na hierdie kontrole-oplossing. Feitlik onmiddellik na oorskakeling neem die kontraktiliteit van die spierpreparaat toe. Na ongeveer 2-4 minute na oorskakeling word die prikkeling gestaak.

Wat veral opvallend is, was dat by oorskakelings van Tyrode na kontrole-oplossings wat minder as 50 mM natrium bevat, daar gewoonlik 'n effense spanning ontwikkel wat na 'n aantal minute verval. Nadat die spierpreparaat vir ongeveer 10-15 minute by die kontrole-oplossing gehou is sodat die natriumkonsentrasie in alle ekstrasellulêre ruimtes tot 'n konstante waarde kon daal, is die spierpreparaat telkens gedepolariseer deur die uitwendige kaliumkonsentrasie te verhoog. Die tydsduur van elke kaliumkontraktuur het gewissel tussen 4-10 minute waarna daar telkens weer teruggekeer is na die kontrole-oplossing vir ongeveer 4-8 minute sodat daar volkome repolarisasie en verslapping van die spierpreparaat na die basislyn kon plaasvind. 'n Tipiese voorbeeld van 'n registrasie van so 'n eksperiment kan in figuur 2 gesien word.

In hierdie eksperiment is die natriumkonsentrasie na 25 mM verlaag. Uit die boonste gedeelte van die figuur kan gesien word dat met 'n verhoging in die kaliumkonsentrasie tot ongeveer 29.05 mM die kontraktuur nog 'n eenvoudige vorm het. As die stygende been van die kontraktuur beskou word, kan daar al klaar 'n eerste vinnige komponent gevolg deur 'n meer stadige komponent onderskei word. Die onderste gedeelte van die figuur is meer betekenisvol aangesien die verskillende komponente van kaliumkontraktuur nou meer geskei raak van



Figuur 2 Die invloed van verandering in die ekstra-sellulêre kaliumkonsentrasie op kaliumkontraktuur. Papillêre spier van die regter ventrikel met 'n deursnit van 0.4 mm.

mekaar en die fases soos onder 3.1 beskryf, nou hul verskyning maak.

Uit hierdie registrasie kan die volgende gevolgtrekkings gemaak word:

i) Met 'n verhoging in die uitwendige kaliumkonsentrasie neem die hoogte van die eerste fase progressief toe. Ook is daar 'n toename in die snelheid van beide die aktiveringsgedeelte sowel as die inaktiveringsgedeelte van die eerste fase.

ii) Namate die eerste fase met 'n verhoging in die kaliumkonsentrasie toeneem, neem die tweede fase geleidelik af sodat daar by ongeveer 64.5 mM ekstrasellulêre kalium geen sprake van 'n tweede fase meer is nie.

iii) Tesame met die verval van die tweede fase met 'n verhoging in die kaliumkonsentrasie, neem ook die platohoogte na die tweede fase af. Namate hierdie platohoogte afneem, neem die hoogte van die derde fase toe.

Dit wil dus voorkom asof die grootte van die derde fase afhanklik is van die verval van hierdie platohoogte. Dit is veral in hierdie platohoogte waarin daar belang gestel is. Uit hierdie reeks eksperimente het dit dan ook geblyk dat hierdie platohoogte grootliks afhanklik is van die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie. Hierdie platohoogte is baie stabiel in vergelyking met fase een en twee. Fase een en twee kan dikwels nie geskei word nie en someer dus. Met 'n herhaling van 'n spesifieke kontraktuurstap kon dikwels nie 'n konstante hoogte vir fase een en twee verkry word nie,

terwyl die hoogte van die platofase altyd reprodu= seerbaar was. In hierdie spesifieke figuur (Figuur 2) is die kalium-kontrakte egter nie lank genoeg volgehou sodat die platowaardes tot 'n konstante vlak afplat nie.

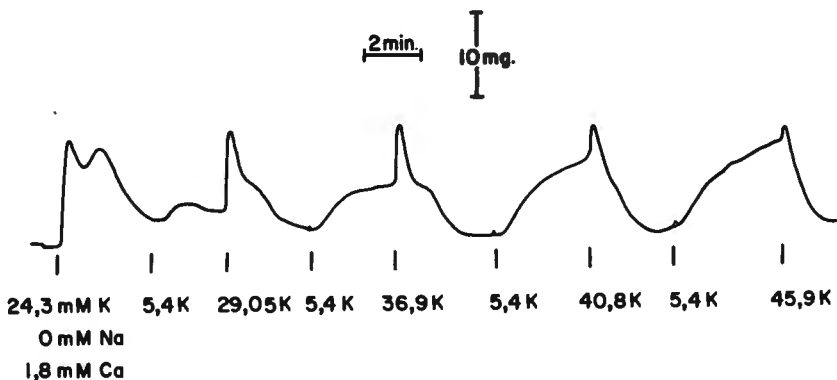
3.3 DIE INVLOED VAN EKSTRASELLULÊRE NATRIUMKONSEN= TRASIE OP KALIUM-KONTRAKTUUR

3.3.1 DIE VERANDERING IN DIE EKSTRASELLULÊRE KALIUM= KONSENTRASIE BY VERSKILLENDE KONSTANTE EKSTRA= SELULÊRE NATRIUMKONSENTRASIE

Om die invloed van die ekstrasellulêre natriumkonsen= trasie op kalium-kontrakteur na te gaan is eksperi= mente soortgelyk aan die beskryf onder 3.2. ook uit= gevoer by 0, 5, 10, 25, 50, 80, 110 en 150 mM natrium. Hierdie gegewens word in tabel 1 weergegee.

Die invloed van veranderinge in die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie op kontrakteur by natriumkonsen= trasies laer as 25 mM se gegewens kon egter nie in tabelvorm uitgesit word nie omrede die kalium-kontrak= tuur-patroon te gekompliseerd geraak het. Figuur 3 vertoon die resultaat wat by 0 mM natrium verkry is.

In figuur 3 is daar ook 'n eerste, tweede en derde fase aan die begin te onderskei, maar daar is 'n



Figuur 3 Die invloed van verandering in die uitwendige kaliumkonsentrasie op kalium-kontraktuur by 'n konstante 0 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie. Papillêre spier van regter ventrikel met 'n deursnit van 0.5 mm.

toename in die kontrole voorspanning op die spier by 5.4 mM ekstrasellulêre kalium. Hier het daar met repolarisasie of terugskakeling na die kontrole-oplossing 'n oploop in kontraktuurspanning plaasgevind. Indien die spierpreparaat nou in hierdie toestand met behulp van hoër kalium gedepolariseer word, het daar verslapping na die basislyn plaasgevind.

Hierdie omgekeerde van die normale toestand het veral sy ontstaan by kaliumkonsentrasies hoër as 20 mM begin vertoon.

By 25 mM en 50 mM ekstrasellulêre natrium het kontrakture soos fig. 1(b) daar uitgesien, terwyl die kontraktuurpatroon by ekstrasellulêre natriumkonsentrasies hoër as 50 mM soos fig. 1(a) daar uitgesien het. In tabel 1 word die gegewens van 19 eksperimente met verskillende spierpreparate wat by ekstrasellulêre natriumkonsentrasies hoër as 25 mM uitgevoer is, aangegee. In die tabel word die volgende aspekte aangedui.

- a) Die drempelwaarde: Dit is die kaliumkonsentrasie waar kontraktuur spanning vir die eerste keer waargeneem is.
- b) Die half-maksimale waarde: Dit is die kaliumkonsentrasie waar die kontraktuurspanning die helfte van die maksimale is.
- c) Die maksimale waarde: Dit is die kaliumkonsentrasie waar kontraktuurspanning maksimaal is. Die platowaardes is as maatstaf gebruik.
- d) Dit is die plathoogte van die kalium-kontraktuur by die grootste kaliumkonsentrasie beskikbaar. Hierdie plathoogte is as persentasie van die maksimum plathoogte uitgedruk. Die waarde van hierdie konsentrasie word tussen hakkes aangedui.

TABEL 1

a) KALIUMKONSENTRASIES VIR DREMPELWAARDES

Na ⁺	25 mM Na	50 mM Na	80 mM Na	110 mM Na	150 mM Na
	7,3 mM K	15,9 mM K	24,3 mM K	30,4 mM K	35,4 mM K
	7,3 mM K	15,9 mM K	24,3 mM K	30,4 mM K	—
	10,1 mM K	15,9 mM K	32,4 mM K	30,4 mM K	
	10,1 mM K	15,9 mM K	24,3 mM K	30,4 mM K	
		10 mM K			
Gem.	8,7 mM K	14,7 mM K	26,3 mM K	30,4 mM K	35,4 mM K

b) KALIUMKONSENTRASIES VIR MAKSIMALE WAARDES

Na ⁺	25 mM Na	50 mM Na	80 mM Na	110 mM Na	150 mM Na
	20 mM K	29,05mM K	32,4 mM K	40,8 mM K	45,4 mM K
	20 mM K	36,9 mM K	36,9 mM K	38,7 mM K	45,4 mM K
	24,3 mM K	29,05mM K	40,8 mM K	40,8 mM K	
	24,3 mM K	29,05mM K	36,9 mM K	35,4 mM K	
		24,3 mM K			
	22,2 mM K	29,6 mM K	36,8 mM K	38,6 mM K	45,4 mM K

c) KALIUMKONSENTRASIES VIR HALF-MAKSIMALE WAARDES

Na ⁺	25 mM Na	50 mM Na	80 mM Na	110 mM Na	150 mM Na
	12 mM K	25 mM K	28 mM K	33 mM K	38 mM K
	13 mM K	30 mM K	30 mM K	32 mM K	36 mM K
	18 mM K	23 mM K	35 mM K	34 mM K	
	16 mM K	23 mM K	32 mM K	32 mM K	
		18 mM K			
	14,7 mM K	22,2 mM K	31,3 mM K	32,8 mM K	37 mM K

d) KONTRAKTUUR AS % VAN DIE MAKSIMUM BY DIE HOOGSTE BE-
SKIKBARE KALIUMKONSENTRASIE

Na ⁺	25 mM Na	50 mM Na	80 mM Na	110 mM Na	150 mM Na
	14% (52,7K)	43% (52,7K)	62% (40,8K)	-	66% (55,4K)
	71% (24,3K)	22% (52,7K)	-	77% (40,8K)	50% (55,4K)
	12% (52,7K)	58% (52,7K)	60% (52,7K)	100% (45,9K)	
	16% (40,8K)	45% (52,7K)	60% (64,5K)	66% (40,8K)	
		-			

TABEL 1 Die invloed van ekstrasellulêre natrium op ver-
skillende aspekte van kalium-kontraktuur.
Hierdie tabel is 'n samevatting van 19 ekspe-
rimente

Uit bogenoemde tabel blyk dit dus duidelik dat as by 'n hoër ekstrasellulêre natriumkonsentrasie gewerk word, verskuif die drempelwaarde, die half-maksimale en die maksimale waarde na 'n hoër kaliumkonsentrasie. So verskuif die drempelwaarde van ongeveer 8,7 na 35,4 mM kalium; die half-maksimale waarde respektiewelik van 14,7 na 37 mM kalium en die maksimale waarde van 22 na 45 mM kalium indien die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie vanaf 25 mM na 150 mM verhoog word. In alle gevalle behalwe in een eksperiment is daar ook 'n duidelike afname in die platohoogte by hoër kaliumkonsentrasies (Tabel 1(d)). In die eksperimente by 150 mM natrium het die perfusievloeistof hipertonies geword met 'n verhoging in die kaliumkonsentrasie. By ekstrasellulêre natriumkonsentrasies laer as 50 mM nl. by 25 mM en 50 mM is daar 3 fases tydens kalium-kontrakteure geregistreer.

Verskeie outeurs het die drempelwaarde vir die ontwikkeling van kalium-kontrakteur by 'n normale ekstrasellulêre natriumkonsentrasie vasgestel. Hodgkin en Horowics (11) gee die gemiddelde drempelwaarde vir hartspeer van padda as 20-30 mM kalium aan, terwyl Page dit as 15 mM vir die stadige skeletspier van kuiken aangee. Uit die tabel word die drempelwaarde by 'n normale ekstrasellulêre natriumkonsentrasie as 35,4 mM kalium aangegee. Dit blyk hieruit ook dat die drempelwaarde grootliks afhanklik

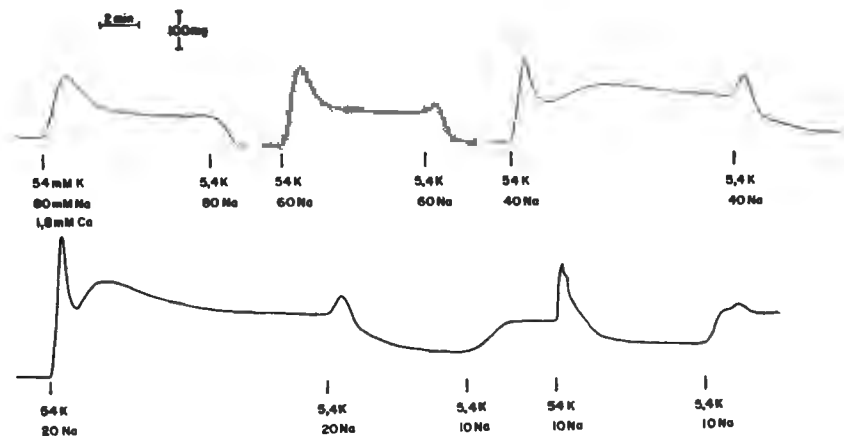
is van die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie.

3.3.2 DIE INVLOED VAN VERANDERING IN DIE UITWENDIGE NATRIUMKONSENTRASIE OP KALIUM-KONTRAKTURE WAT DEUR 'N KONSTANTE VERANDERING IN DIE EKSTRASEL- LULÊRE KALIUMKONSENTRASIE OPGEWEEK WORD

In die vorige reeks eksperimente is die invloed van verandering in die uitwendige kaliumkonsentrasie op kalium-kontraktuur by verskillende konstante ekstrasellulêre natriumkonsentrasies nagegaan. In die huidige reeks eksperimente is die invloed van verandering in die uitwendige natriumkonsentrasie op kalium-kontraktuur wat opgewek is deur 'n verandering in die kaliumkonsentrasie vanaf 5,4 mM na 54 mM, nagegaan.

Nadat die normale prosedure van prikkeling van die spierpreparaat vir 'n tyd lank in normale Tyrode gevolg is, is daar oorgeskakel na 'n kontrole-oplossing wat 'n verlaagde natriumkonsentrasie bevat. Nadat die preparaat vir 5-10 minute in die kontrole-oplossing gehou is, is die uitwendige kaliumkonsentrasie na 54 mM verhoog. Hierdie depolarisasie is vir ongeveer 7-15 minute gehandhaaf waarna daar teruggekeer is na die kontrole-oplossing sodat repolarisasie en verslapping kon plaasvind. Hierdie proses is by verskillende verlaagde ekstrasellulêre natriumkonsentrasies herhaal.

Daar is dus konstante kalium-depolarisasies bewerkstellig maar telkens by 'n verlaagde ekstrasellulêre natriumkonsentrasie en na elke kalium-depolarisasie is daar eers weer teruggekeer na die kontrole-oplossing. Die invloed van konstante depolarisasies is by die volgende verlaagde ekstrasellulêre natriumkonsentrasies nagegaan: 80 mM; 60 mM; 40 mM; 20 mM; 10 mM en 0 mM. 'n Tipiese voorbeeld van so 'n eksperiment word in figuur 4 weergegee.



Figuur 4 Die invloed van verandering in die uitwendige natriumkonsentrasie op kalium-kontrakte wat deur 'n konstante verhoging in die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie opgewek word. Papillêre spier van regter ventrikel met 'n deursnit van 0.5 mm.

Uit figuur 4 kan gesien word dat met 'n 54 mM kalium-depolarisasie by 'n 80 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie, kontraktuurspanning vinnig ontwikkel gedurende die eerste minuut waarna daar verslapping tot 'n konstante platowaarde plaasvind. Uit figuur 4 en ook ander registrasies kan die volgende waargeneem word:

i) Die hoogte van die eerste vinnige komponent wat gedurende die eerste minuut tot stand kom, neem progressief toe namate die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie verlaag word.

ii) Die finale platohoogtes wat na ongeveer 6-12 minute tydens kalium-depolarisasies gemeet is, neem ook progressief toe namate die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie tot 20 mM verlaag word, maar met verdere verlaging neem hierdie hoogtes af.

iii) Met 'n verlaging in die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie na 40 mM en 20 mM vind daar tydens kalium-depolarisasie net na die eerste vinnige komponent van kontraktuur 'n meer uitgesproke stadige tweede fase of komponent wat afplat tot die platowaarde, plaas.

iv) Vanaf 'n verlaging in die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie onderkant 60 mM, begin daar met terugkering na die kontrole-oplossing 'n derde fase ontstaan.

Niedergerke (13) het met die ventrikels van paddahart gevind dat 100 mM kalium-kontraktuur uit 'n vinnige eerste fase bestaan wat opgevolg word deur 'n tweede meer uitgesproke platofase. Hy vind verder dat beide hierdie twee fases toeneem met 'n verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie. Die grootste toename in spanning is waargeneem indien die uitwendige natriumkonsentrasie onderkant 25% van die normale konsentrasie verlaag is.

3.4 DIE INVLOED VAN LANTAAN (LaCl_3) EN 0 mM EKSTRA-SELLULÊRE KALSIUM OP KALIUM-KONTRAKTUUR

Uit eksperimente waarmee die invloed van veranderinge in die uitwendige natrium- en kaliumkonsentrasies op kalium-kontraktuur nagegaan is, het dit duidelik geblyk dat daar verskillende komponente of fases in kalium-kontraktuur teenwoordig is. Om vas te stel wat die oorsprong van elke komponent is, is 'n reeks eksperimente met La_3Cl en 0 mM kalsium uitgevoer.

Daar is uitgegaan van die veronderstelling dat die verskillende komponente waarskynlik hul oorsprong as gevolg van 'n kalsiumvrystelling uit die sarkoplasmiese retikulum of 'n veranderde kalsiuminfluks deur die sarkolemma het. Deur een van hierdie twee moontlikhede uit te skakel, sal daar dus 'n verval van sommige van die komponente moet plaasvind. Op hierdie wyse kan die verskillende fases of komponente

dan moontlik geïdentifiseer word. Aangesien eliminasië van die sarkoplasmiese retikulum moeilik verwesenlik kan word, is die kalsiuminfluks deur die sarkolemma uitgeskakel. Dit is gedoen deur:

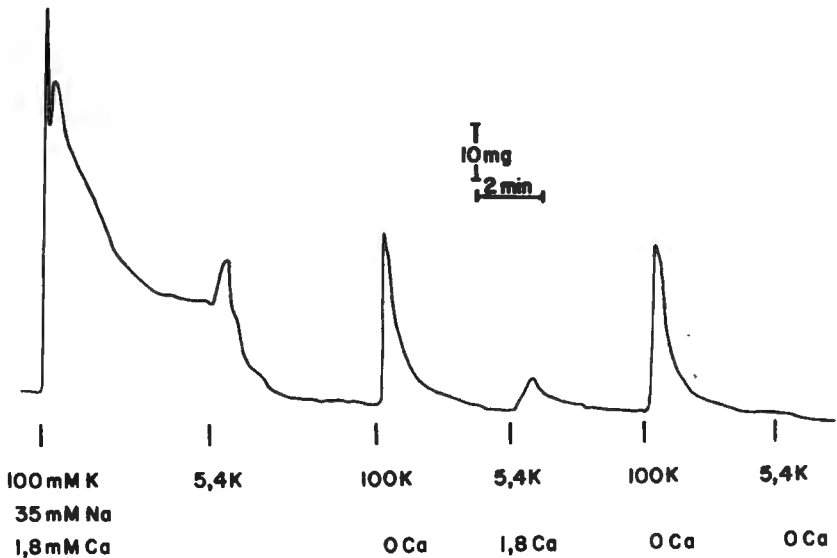
i) Die gebruikmaking van 0 mM uitwendige kalsium waar geen kalsiuminfluks moontlik is nie en

ii) Die kalsiuminfluks en effluks te blokkeer deur middel van lantaan (50, 51, 52).

3.4.1 DIE INVLOED VAN 0 mM EKSTRASELLULÊRE KALSIUM OP KALIUM-KONTRAKTUUR

Kalium-kontraktuur is deur middel van 100 mM kalium by 'n 35 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie en 'n 1,8 mM ekstrasellulêre kalsium gedoen. Hierdie kalium-kontraktuur is vir 3 of 4 keer herhaal sodat daar sekerheid oor die reproduseerbaarheid van die kontraktuurpatroon was. Hierna is die kaliumkonsentrasie en die kalsiumkonsentrasie gelyktydig verander na 100 mM en 0 mM respektiewelik. Onder hierdie toestand verval die tweede fase feitlik geheel en al en verslapping van die spierpreparaat vind tot by die kontrolevlak plaas (fig. 5). Die normale platowaarde verval dus by 0 mM ekstrasellulêre kalsium. Indien van hierdie toestand teruggekeer word na die 5,4 mM K, 1,8 mM Ca, 35 mM Na kontrole-oplossing vind daar 'n vergrote derde fase plaas. Indien daar egter teruggekeer word na 'n

kontrole-oplossing wat 0 mM kalsium bevat, was daar geen derde fase teenwoordig nie (fig. 5 en 6).



Figuur 5 Die invloed van 0 mM ekstrasellulêre kalsium op kalium-kontraktuur. In die laaste gedeelte van die figuur is die invloed van 0 mM ekstrasellulêre kalsium ook op die derde fase nagegaan. Trabekulêre spier van regter ventrikel met 'n deursnit van 0,3 mm.

Uit eksperimentele resultate wat plaaslik verkry is,

is daar ook gevind dat 'n vooraf blootstelling van slegs 2 minute met 'n kalsiumvrye⁴kontrole-oplossing nodig was om kalium-kontraktuur 100% te inhibeer. Dit vergelyk goed met resultate van Frank (60) wat by stadige skeletspier van padda 'n 96% inhibisie van kontraktuurspanning gevind het met slegs 1 minuut vooraf blootstelling met 'n kalsiumvrye kontrole-oplossing. In beide gevalle was daar egter 'n baie lae ekstrasellulêre natriumkonsentrasie teenwoordig. Luttgau (12) het by vinnige skeletspier gevind dat met 'n verandering van Ringer-oplossing (1,8 mM Ca) na 'n kalsiumvrye Ringer-oplossing daar 5-30 minute nodig was voordat die spierweefsel sy kapasiteit verloor om kontraktuurspanning tydens kalium-depolarisasie te ontwikkel. Hy vind verder dat met oorskakeling na 'n kalsiumvrye Ringer-oplossing daar 'n skielike val van 10 mV in die rustende mem=braanpotensiaal plaasvind gevolg deur 'n verdere afname teen 'n snelheid van ongeveer 1 mV/min.

Wat veral opvallend was uit eksperimentele resultate wat plaaslik by 0 mM ekstrasellulêre kalsium gedoen is, was dat die herstel van die verskillende kom=ponente van kalium-kontraktuur na blootstelling aan 0 mM ekstrasellulêre kalsium relatief goed was. Hierdie gegewens word in tabel 2 weergegee:

a	b	c Eerste fase	d Tweede fase	e Platofase
17 min.	6 min.	57%	65%	100%
5.2 min.	8.7 min.	127%	100%	127%
4 min.	4 min.	100%	77%	100%
3 min.	4 min.	100%	-	100%

Tabel 2 Die herstel van die verskillende fases van kalium-kontraktuur na blootstelling van die spierpreparaat aan 0 mM ekstrasellulêre kalsium. Kolom (a) is die tydseur in minute wat die spierpreparaat aan 0 mM ekstrasellulêre kalsium blootgestel is; (b) die herstelperiode by normale 1,8 mM ekstrasellulêre kalsium terwyl (c), (d) en (e) die hoogtes van die verskillende fases van kalium-kontraktuur na die herstelperiode is. Hierdie hoogtes is uitgedruk in persentasie van die hoogtes van die verskillende fases voor blootstelling van die spierpreparaat aan 0 mM ekstrasellulêre kalsium

Uit tabel 2 blyk dit duidelik dat die herstel van die verskillende komponente van kalium-kontraktuur na blootstelling aan 0 mM ekstrasellulêre kalsium relatief vinnig en volledig was. Hierdie aspek kom ook duidelik na vore in figuur 6. In figuur 6 volg die onderste gedeelte van die figuur direk na die boonste gedeelte.

3.4.2. DIE INVLOED VAN LANTAAN OP KALIUM-KONTRAKTUUR

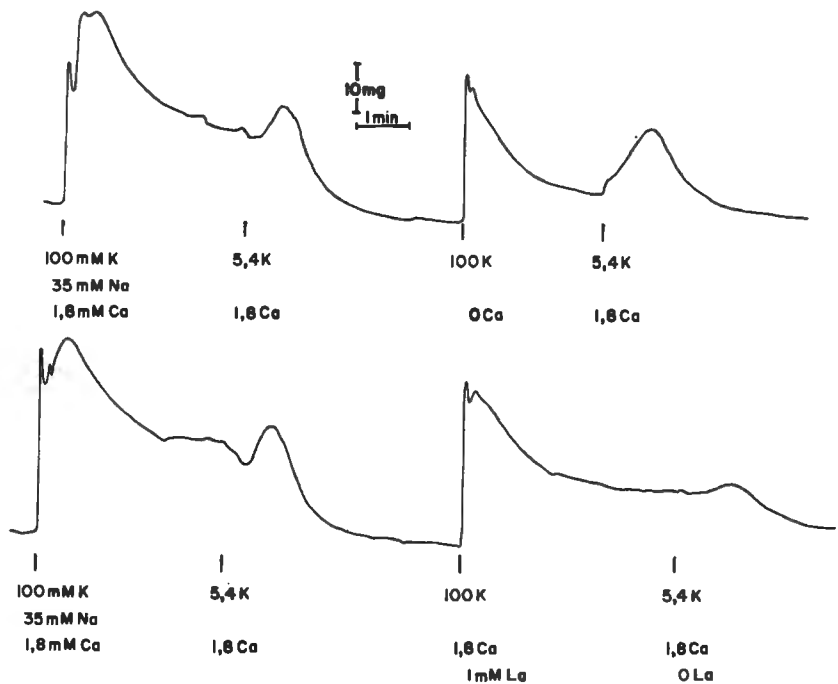
Van Breemen et. al. (30) het aangetoon dat die tri-

valente katioon, lantaan, 'n baie groter affiniteit as kalsium vir kalsiumbindingsplekke het. Volgens hierdie outeur sal lantaan dus die kalsium op die seloppervlak van die sarkolemma verplaas en sodoende die influks en effluks van kalsium deur die membraan blokkeer. Hy het gevind dat by die spierweefsel van die aorta wat met ^{45}Ca opgelaa is, daar 'n 50% reduksie in die ^{45}Ca -effluks in die teenwoordigheid van 2 mM La^{3+} is. Dieselfde outeur het ^{45}Ca in die akson van die reuse inkvis ingespuut en gevind dat in die teenwoordigheid van 5 mM La^{3+} die effluks met 87% geïnhibeer word.

Palmer et. al. (50) het gevind dat in rustende sowel as in atria van konyn wat geprikkel word, die Ca^{45} -opname grootliks deur 5 mM lantaan onderdruk word. Lantaan onderdruk dus beide die kalsiuminfluks sowel as die kalsiumuitfluks (30, 50, 51, 52).

Die eksperimentele prosedure in die reeks eksperimente wat plaaslik uitgevoer is, was dieselfde as die onder 3.4.1. 'n Paar 100 mM kalium-kontrakture is by 35 mM Na, 1,8 mM Ca ekstrasellulêr gedoen om sekerheid oor die reproduseerbaarheid van die kontraktuurpatroon te verkry. Hierna is 'n 100 mM kaliumkonsentrasie en 'n 1 mM LaCl_3 -konsentrasie gelyktydig toegedien. 'n Verval in die tweede fase asook 'n verslapping na 'n laere platovlak as voorheen word waargeneem. Met terugskakeling na die kontrole-oplossing waarby daar geen lantaan is,

vind daar geen derde fase plaas nie (fig. 6).



Figuur 6 'n Vergelyking tussen die invloed van 0 mM ekstrasellule kalsium (bo) en 1 mM LaCl_3 (onder) op kalium-kontraktuur. Trabekulêre spier van linker ventrikel met deursnit van 0,3 mm.

Uit bogenoemde resultate blyk dit duidelik dat in die teenwoordigheid van 0 mM ekstrasellulêre kalsium en

lantaan die tweede fase en die platofase van kalium-kontrakture wegval. Die resultate met LaCl_3 verkry, is soortgelyk aan dié verkry met 0 mM ekstrasellulêre kalsium behalwe dat dit miskien minder uitgesproke is. Dit blyk dus dat die tweede fase en die platofase van kalium-kontraktuur sy oorsprong van buite die sel het nl. 'n resulterende kalsiuminfluks deur die sarkolemma. Tydens repolarisasie in die teenwoordigheid van 0 mM ekstrasellulêre kalsium verval die derde fase ook wat daarop dui dat die derde fase ook sy ontstaan te danke het aan 'n resulterende kalsiuminfluks deur die selmembran. Die eerste vinnige komponent of fase het sy oorsprong waarskynlik intrasellulêr nl. as gevolg van 'n kalsiumvrystelling deur die sarkoplasmiese retikulum. Op die huidige stadium is dit nie moontlik om te onderskei of die resulterende influks van kalsium ontstaan omdat die influkskomponent toeneem of omdat die efflukskomponent afneem nie.

3.5 KONTRAKTUUREWEWIG AS 'N FUNKSIE VAN DIE EKSTRA- SELLULÊRE KALIUM EN NATRIUMKONSENTRASIE

Soos reeds onder 3.1 beskryf plat die twee soorte kalium-kontrakture wat in hierdie werkstuk beskryf is, af tot 'n platowaarde. Hierdie platowaarde van kalium-kontraktuur is van belang en wel om die volgende redes:

i) Die platowaarde is goed reproduseerbaar in vergelyking met die eerste en tweede fases. Mer herhaling van kalium-kontrakte was die hoogtes van die eerste en tweede fases baie wisselvallig terwyl die plathoogte altyd 'n konstante waarde gehandhaaf het.

ii) Die oorsprong van die platokomponent is reeds vasgestel. Onder 3.4. het dit geblyk dat die tweede fase en platokomponent sy oorsprong buite die sel het nl. dat die tweede fase ontstaan as gevolg van 'n resulterende kalsiuminfluks deur die selmembran en dat daar tydens die platokomponent 'n ewewigstoestand bereik is tussen die kalsiuminfluks en kalsiumuitfluks.

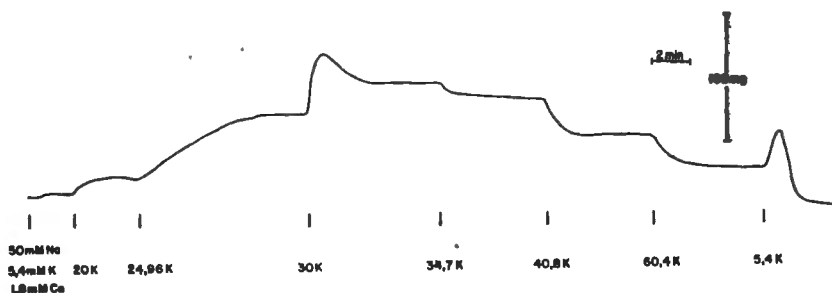
iii) Uit vorige eksperimente het die duidelik geword dat hierdie platowaarde afhanklik is van die uitwendige kalium- en natriumkonsentrasie.

3.5.1 DIE INVLOED VAN 'N TRAPSGEWYSE VERHOOGING VAN DIE KALIUMKONSENTRASIE OP KALIUM-KONTRAKTUUR

Die eerste fase ontstaan heelwaarskynlik as gevolg van die skielike groot verandering in die depolarisasiewaarde wat 'n kalsiumvrystelling uit die kalsiumstore veroorsaak. In hierdie reeks eksperimente is daar gepoog om die eerste fase uit te skakel deur die verandering in die depolarisasiewaarde meer geleidelik en in kleiner stappe te laat geskied. Daar behoort sodoende waarskynlik daar in geslaag te word om slegs die platogedeelte van

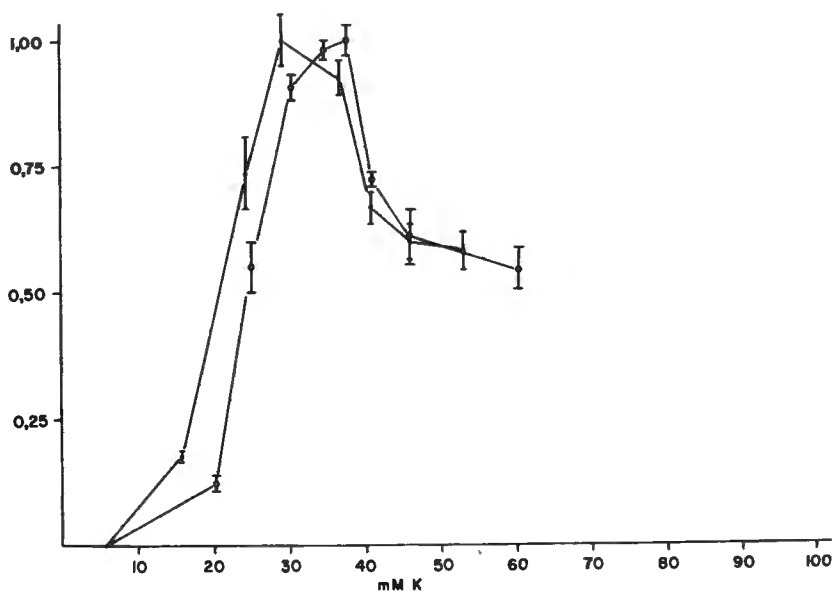
kalium-kontraktuur te registreer.

Nadat die spierpreparaat 'n rukkie in normale Tyrode geprikkel is, is daar oorgeskakel na 'n kontrole-oplossing met 'n lae natrium - (50 mM), normale kalium- en normale kalsiumkonsentrasie. Nadat die spierpreparaat vir ongeveer 10-15 minute by die kontrole-oplossing gehou is, is die spierpreparaat telkens in klein stappies gedepolariseer deur die uitwendige kaliumkonsentrasie telkens 'n klein bietjie te verhoog. Elke depolarisasie is volgehou totdat 'n stabiele platowaarde bereik is. Hierna is die kaliumkonsentrasie ietwat meer verhoog. 'n Tipiese registrasie van so 'n eksperiment word in figuur 7 geïllustreer.



Figuur 7 Die invloed van 'n trapsgewyse verhoging in die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie op kalium-kontraktuur. Papillêre spier van regter ventrikel met 'n deursnee van 0,35 mm

'n Grafiese voorstelling van hierdie platowaardes as 'n funksie van die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie word in figuur 8 aangetoon (● simbole). Die plato=waardes van kalium-kontraktuur soos onder 3.2 be=skryf word ook in fig. 8 aangetoon (• simbole). Beide groepe eksperimente wat deur die twee grafieke in figuur 8 uitgebeeld word, is by 50 mM ekstrasel=lulêre natrium uitgevoer.



Figuur 8 Die invloed van ekstrasellulêre kalium (X-as) op genormaliseerde platowaardes (Y-as) van kalium-kontraktuur. Simbole: • vir verhoging in die kaliumkonsentrasie vanaf 5,4 mM (5 eksperimente); ● vir 'n trapsgewyse verhoging in die kaliumkonsentrasie. (12 eksperimente)

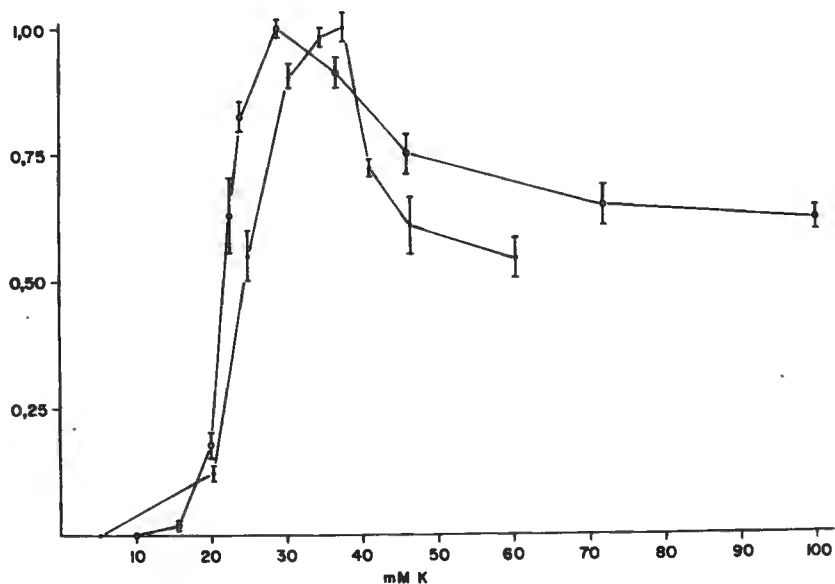
Die twee grafieke in figuur 8 toon 'n baie noue verwantskap met mekaar en val feitlik saam ten spyte van die verskil in eksperimentele prosedures wat gevolg is. Die rede vir die effense verskil van die twee grafieke kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat die tydsduur van die twee soorte eksperimente grootliks verskil. Die tydsduur van die eksperiment onder 3.5.1 uitgevoer, was ongeveer die helfte van die tydsduur van die eksperiment onder 3.2 uitgevoer. In eksperimente onder 3.2 is kalium-kontrakture ook nie genoeg tyd gegun om behoorlik tot 'n konstante platowaarde af te plat nie. Die waardes in hierdie geval geneem, is dus 'n klein bietjie groter as wat dit in werklikheid moes gewees het. Dit verklaar dan ook die effense verskuiwing na links van die grafiek wat saamgestel is uit hierdie platowaardes (•simbole van figuur 8). Met inagneming van die verskille in eksperimentele prosedures is daar genoegsame ooreenstemming in die resultate om te kan aanvoer dat die platowaardes onder 3.2 verkry niks anders is as die platowaardes wat onder 3.5.1 beskryf is nie. Uit die gesamentlike figuur van die twee grafieke blyk dit dus dat kontraktuurspanning begin by 'n ± 10 mM ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie en sy maksimum bereik by ± 30 mM ekstrasellulêre kalium. Met 'n verdere verhoging in die ekstrasellulêre kalium was daar 'n afname in die kontraktuurspanning. Soos reeds vermeld ontstaan die platokomponent as gevolg van 'n resulterende

kalsiuminfluks deur die sarkolemma (3.4). Die kalsiuminfluks word weer bepaal deur die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium d.w.s. die verband tussen die kalsiuminfluks en die kalsiumuitfluks. Die terme in figuur 8 van die grafiek waar die paltahoogtes dus as 'n funksie van die ekstraselulêre kaliumkonsentrasie uiteengesit is, kan dus respektiewelik vervang word met kalsiuminfluks of effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium as 'n funksie van die membraanpotensiaal.

Hieruit blyk dit dus dat die kalsiuminfluks deur die sarkolemma toeneem namate die ekstraselulêre kaliumkonsentrasie tot 'n sekere plekwaarde verhoog word. Hierna vind daar 'n afname plaas. Die membraanpermeabiliteit vir kalsium is dus 'n funksie van die ekstraselulêre kaliumkonsentrasie d.w.s. die membraanpotensiaal.

Bogenoemde eksperimente is by 'n konstante 50 mM ekstraselulêre natriumkonsentrasie uitgevoer. Soortgelyke eksperimente soos hierbo beskryf is ook by 'n konstante 35 mM ekstraselulêre natriumkonsentrasie uitgevoer om die invloed van natrium op hierdie tipe eksperimente na te gaan. Die platowaardes van hierdie eksperimente by 35 mM ekstraselulêre natrium is net soos die platowaardes van die eksperimente by 50 mM ekstraselulêre natrium ook grafies uiteengesit as 'n funksie van die ekstraselulêre kaliumkonsentrasie (figuur 9).

Die $\odot$ simbole in figuur 9 verteenwoordig die eksperimente by 35 mM ekstrasellulêre natrium uitgevoer, terwyl die $\bullet$ simbole die eksperimente by 50 mM ekstrasellulêre natrium uitgevoer verteenwoordig.



Figuur 9 Die invloed van natrium op die genormaliseerde platowaardes van kalium-kontraktuur (Y-as) as 'n funksie van 'n trapsgewyse verhoging in die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie (X-as). Simbole: $\odot$ vir 35 mM Na (17 eksperimente); $\bullet$ vir 50 mM Na (12 eksperimente)

Uit figuur 9 kan gesien word dat die twee grafieke dieselfde karakteristieke patroon besit behalwe vir

die verskuiwing na links in die grafiek van die eksperimente wat by 35 mM natrium gedoen is. By 'n 35 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie begin kontraktuur dus by 'n laer kaliumkonsentrasie ontwikkel, d.w.s. by 'n kleiner depolarisasiewaarde. 'n Verlagings in die uitwendige natriumkonsentrasie verhoog dus die membraanpermeabiliteit vir kalsium.

In figuur 8 en 9 is die platowaardes genormaliseer en wel om die volgende redes:

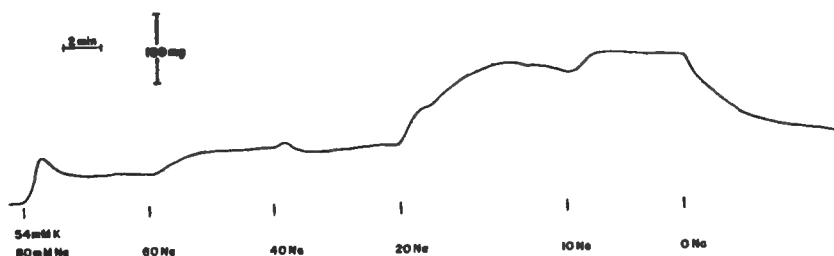
- i) Verskillende dikte spierpreparate is gebruik.
- ii) In die figure is slegs in die algemene vorm van die grafieke, die drempelwaardes van kontraktuurspannings, die maksimale kontraktuurspannings en verskuiwings van die grafieke belang gestel.
- iii) In figuur 9 is daar 'n vergelyking getref tussen die platowaardes wat by verskillende ekstrasellulêre natriumkonsentrasie verkry is. Daar is in die algemeen gevind dat kontraktuur in grootte toeneem namate by laer ekstrasellulêre natriumkonsentrasies gewerk word.

3.5.2 DIE INVLOED VAN 'N TRAPSGEWYSE VERLAGING IN DIE EKSTRASELLULÊRE NATRIUMKONSENTRASIE OP KALIUM-KONTRAKTUUR

In hierdie reeks eksperimente is die invloed van 'n trapsgewyse verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie by konstante depolarisievlak nagegaan. Die

konstante depolarisievlak is deur 'n volgehoue konstante verhoging in die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie teweeggebring. Hierdie soort eksperimente word gedoen omdat dit geblyk het dat 'n verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie die membraanpermeabiliteit vir kalsium verhoog (3.5.1).

Die spierpreparaat is vir 'n tydlank in normale Tyrode geprikkel. Hierna is oorgeskakel na 'n kontroleoplossing wat 'n lae natrium-(80 mM), normale kalium- en normale kalsiumkonsentrasie bevat. Die spierpreparaat is vir ongeveer 10-15 minute by die kontroleoplossing gelaat. Gevolglik is die spierpreparaat gedepolariseer deur die kaliumkonsentrasie na 54 mM te verhoog. (figuur 10). Die spierpreparaat gaan in kontraktuur en bereik 'n platovlak. Hierna word die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie verder verlaag, maar die depolarisasievlak word nog steeds gehandhaaf, m.a.w. die kaliumkonsentrasie (54 mM) is deurgans konstant gehou terwyl die natriumkonsentrasie telkens verlaag is, naamlik van 80 mM na 60 mM, 40 mM, 20 mM, 10 mM en 0 mM respektiewelik (fig. 10).



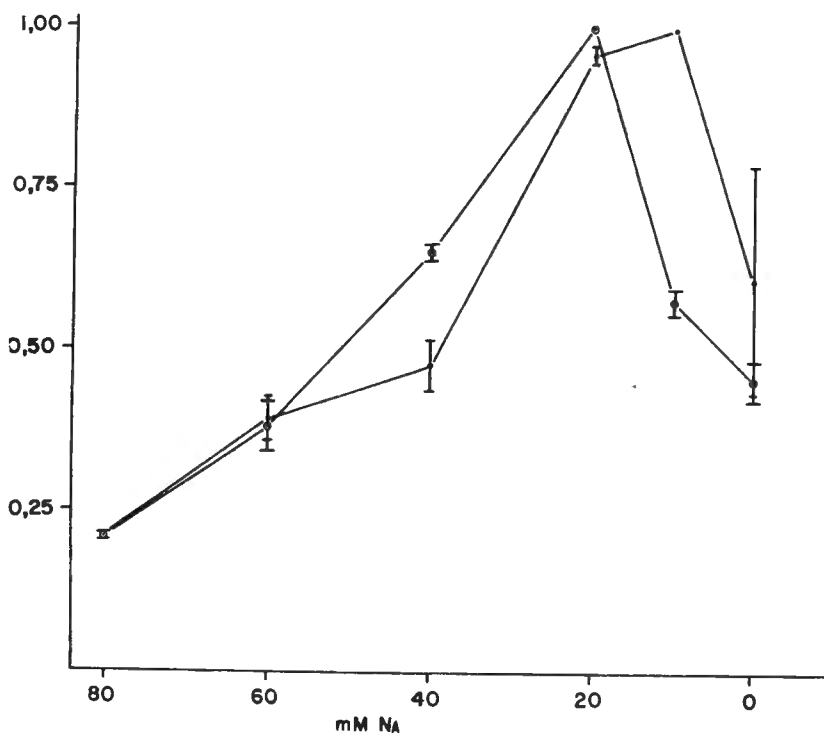
Figuur 10 Die invloed van 'n tragsgewyse verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie by 'n konstante depolarisasievlak wat teweeggebring is deur die uitwendige kaliumkonsentrasie na 54 mM te verhoog. Papillêre spier van regter ventrikel met 'n deursnee van 0,4 mM.

Indien hierdie platowaardes grafies as 'n funksie van die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie uiteengesit word, kan dit soos in figuur 11 (• simbole) voorgestel word. Hierdie soort eksperimente kom baie ooreen met die soos onder 3.3.2 beskryf. In die eksperimente onder 3.3.2 beskryf, is die invloed van konstante depolarisasies (54 mM K) ook by verlaagde ekstrasellulêre natriumkonsentrasie nagegaan. Na elke kalium-kontraktuur is daar egter eers weer

teruggekeer na die kontrole-oplossing sodat repolarisasie en spierverslapping kon plaasvind. Die platowaardes van hierdie kaliumkontrakte teenoor die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie word in figuur 11 (● simbole) grafies voorgestel. In beide eksperimente onder 3.3.2 en 3.5.2 beskryf, is die kaliumkonsentrasie na 54 mM verhoog om die depolarisasiewaarde te verander.

Ten spyte van die verskil in eksperimentele prosedures toon die twee grafieke in figuur 11 tog 'n noue verwantskap en kom hulle feitlik ooreen. Die rede vir die effense verskil tussen die twee grafieke kan weereens toegeskryf word aan die feit dat die tydsduur van die twee soorte eksperimente verskil. Die normale tydsduur van 'n eksperiment onder 3.3.2 beskryf, het gemiddeld van 120 tot 220 minute geduur, terwyl die onder 3.5.2 beskryf slegs van 40 tot 60 minute geduur het. Dit blyk egter duidelik dat die platowaardes onder 3.3.2 verkry, dieselfde is as die platowaardes wat onder 3.5.2. beskryf is en dat die platowaardes 'n funksie van die ekstrasellulêre natriumkonsentrasie is.

Soos reeds vermeld, is die plathoogte 'n aanduiding van die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium. In fig. 11 word aangetoon dat die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium of die resulterende kalsiuminfluks toeneem namate die uitwendige



Figuur 11 Die invloed van ekstrasellulêre natrium (X-as) op genormaliseerde platowaardes (Y-as) van kalium-kontraktuur. Simbole: $\circ$ vir eksperimente onder 3.3.2 beskryf (5 eksperimente); $\bullet$ vir eksperimente onder 3.5.2 beskryf (4 eksperimente)

natriumkonsentrasie tot ± 20 mM verlaag word. Indien die uitwendige natriumkonsentrasie laer as 20 mM verlaag word neem die resulterende kalsiuminfluks af. Dit gebeur heelwaarskynlik as gevolg van 'n toename in die kalsiumuitluks. Die toename in membraanpermeabiliteit na 'n verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie kan moontlik toege-

skryf word aan die Ca-Na-antagonisme

3.6 SAMEVATTING

Hoofstuk 3 kan soos volg saamgevat word:

Tydens depolarisasie met hoë kalium ontwikkel kontraktuur wat uit verskillende fases of komponente bestaan (3.1). Met behulp van 0 mM ekstrasellulêre kalsium en lantaan is die verskillende fases van kalium-kontraktuur geskei en geïdentifiseer (3.4).

Dit was dan ook in die platokomponent van kalium-kontraktuur waarin belang gestel is. Daar is verder gevind dat hierdie platokomponent afhanklik is van die uitwendige kaliumkonsentrasie (3.2 en 3.5.1) en die uitwendige natriumkonsentrasie (3.3. en 3.5.2). Aangesien die platokomponent sy ontstaan te danke het aan 'n resulterende kalsiuminfluks deur die selmembraan blyk dit dus dat hierdie resulterende kalsiuminfluks deur die selmembraan grootliks afhanklik is van die uitwendige kaliumkonsentrasie m.a.w. die membraanpotensiaal (3.2 en 3.5.1). Die resulterende kalsiuminfluks deur die selmembraan is ook afhanklik van die uitwendige natriumkonsentrasie (3.3 en 3.5.2). Aangesien die resulterende kalsiuminfluks of die effektiewe membraanpermeabiliteit 'n funksie is van die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie kan daar dus tot die slotsom

gekom word dat die intrasellulêre vrye kalsium=
konsentrasie bepaal sal word deur die uitwendige
kalium- en natriumkonsentrasie.

II DIE INVLOED VAN ADRENALIEN EN KAFEÏEN OP DIE ME- GANISME

HOOFSTUK 4

INLEIDING

Farmakologiese stowwe kan 'n positiewe of 'n negatiewe inotropiese effek op spierkontraktiliteit vertoon. Wat spierkontraksies betref, het beide adrenalien ('n katekolamien) en kafeïen ('n xantien) 'n positiewe inotropiese effek.

Daar is algemeen gevind dat adrenalien tydens prikkeling die kontraksiekrag verhoog maar 'n verlaaging in kontraktuurspanning teweegbring, opgewek deur 'n verhoogde uitwendige kaliumkonsentrasie (34, 35, 36, 37, 38), 'n verlaagde uitwendige natriumkonsentrasie (35) en 'n verhoogde uitwendige kalsiumkonsentrasie (39, 40). Normale fisiologiese konsentrasies van adrenalien is in enige spierpreparaat aanwesig (38). Daar is dan ook gevind dat in gevalle waar adrenalien afwesig was deur (i) 'n voorafgaande leegmaking van die adrenalienstore deur reserpien of (ii) 'n blokkering van adrenergiese reseptorpunte deur propranolol, daar groot kaliumkontrakture in vergelyking met kontrole kontrakture geregistreer is. Daar bestaan dus 'n paradoks nl. dat adrenalien 'n positiewe inotropiese effek op spierkontraksie

(tydens prikkeling) het, terwyl dit 'n negatiewe inotropiese effek op kontraktuur vertoon. Graham et. al. (35) verklaar hierdie paradoks deur aan te neem dat spierkontraksie deur 'n verhoogde kalsiumvrystelling uit die kalsiumstore veroorsaak word, terwyl kontraktuurspanning deur 'n verhoogde resulterende kalsiuminfluks deur die selmembraan veroorsaak word.

Aangesien adrenalin 'n positiewe inotropiese effek op hartkontraksie het, ontstaan die vraag onwillekeurig wat die werkingswyse van hierdie farmakologiese stof presies is. Veroorsaak adrenalin 'n verhoogde kalsiumvrystelling deur die sarkoplasmiese retikulum of het dit 'n verhoogde resulterende kalsiuminfluks deur die selmembraan tot gevolg? Uit die literatuur wil dit voorkom of laasgenoemde werkingsmeganisme die meeste aftrek geniet. Daar is gevind dat adrenalin beide die kalsiuminfluks en die kalsiumeffluks in die hartspier van soogdier wat geprikkel word verhoog (31). Dit wil egter voorkom of die effek van adrenalin grootliks van die membraanpotensiaal afhang. Daar is nl. aangetoon dat dit die kalsiuminfluks verhoog indien die membraanpotensiaal laag is, terwyl dit 'n verlaagde kalsiuminfluks veroorsaak indien die membraanpotensiaal hoog is (40). Laasgenoemde afleiding is gemaak uit resultate met paddahart waar aangetoon is dat adrenalin verslapping veroorsaak van

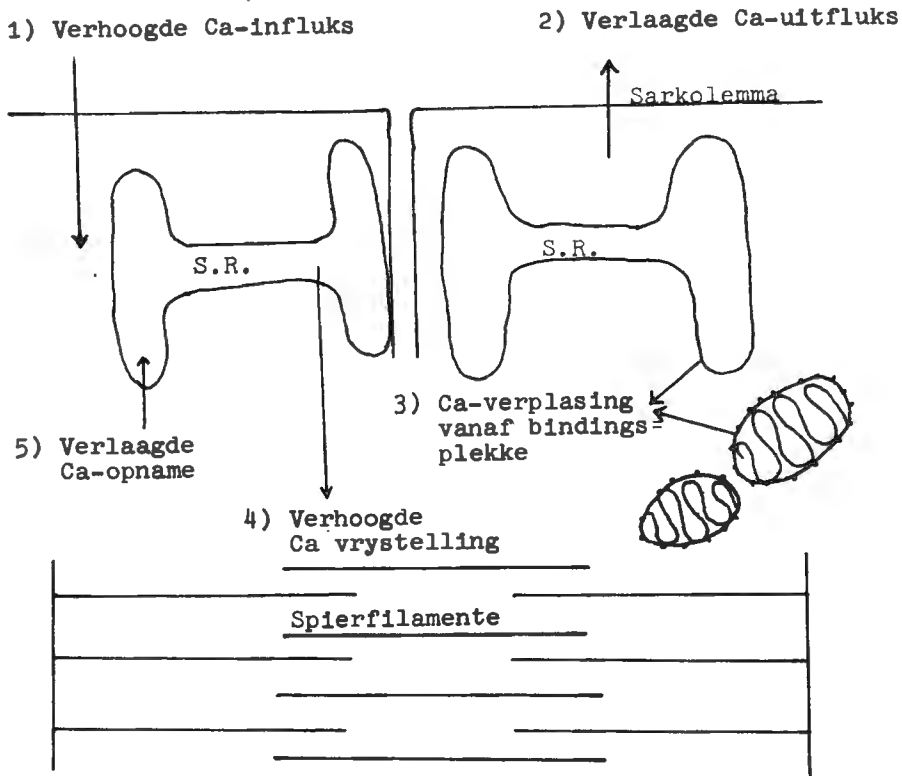
kontrakture teweeggebring deur 'n hoë kalsium, lae kalium uitwendige konsentrasie, terwyl dit 'n verhoging veroorsaak in kontraktuurspanning van kontrakture teweeggebring deur 'n hoë kalsium, hoë kalium uitwendige konsentrasie. Dit wil dus voorkom of die positiewe inotropiese aksie van katekolamienes veroorsaak word deur 'n verhoogde kalsiuminfluks tydens elke spiersametrekking, hoofsaaklik tydens die platofase van die aksiepotensiaal (40).

Kafeïen het 'n positiewe inotropiese effek op spierkontraksies (tydens prikkeling) sowel as op kontrakture (42, 43, 41, 44, 45, 46).

Oor die presiese werkingswyse van kafeïen bestaan daar ook nog groot onsekerheid. Volgens Nayler (46) veroorsaak kafeïen 'n verplasing van kalsium vanaf hulle bindingsplekke en veroorsaak dit soodoende 'n styging in die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie. By die hartspier van konyne is aangetoon dat kafeïen 'n verhoogde ^{45}Ca -influks veroorsaak, terwyl dit die ^{45}Ca -uitfluks verlaag.

Uit bogenoemde literatuuroorsig blyk dit dus dat adrenalin en kafeïen die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie verhoog. Dit verklaar die positiewe inotropiese effek van hierdie twee farmakologiese stowwe op hartspierkontraksie. In figuur B word 'n sketsmatiese voorstelling waarin die moontlike werkingswyse waarvolgens hierdie twee

farmakologiese stowwe die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie kan verhoog, aangegee.



Figuur B 'n Sketsmatiese voorstelling van die moontlike werkingswyses waarvolgens adrenalin en kafeen die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie verhoog

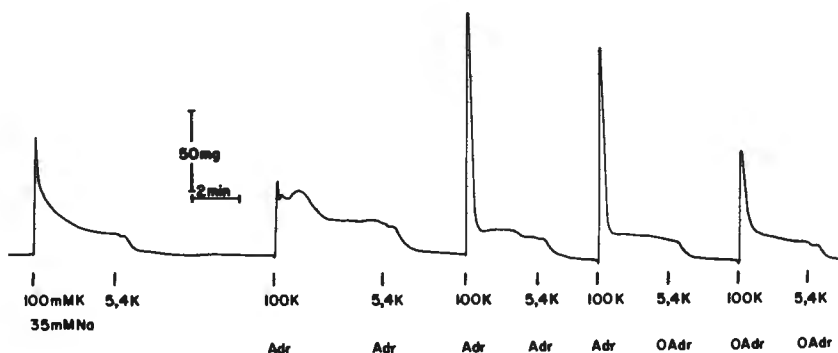
HOOFSTUK 5

BESPREKING VAN DIE RESULTATE

5.1 OM DIE INVLOED VAN ADRENALIEN OP KONTRAKTUUR NA TE GAAN

Om die invloed van adrenalien op kontraktuur na te gaan is daar van twee soorte eksperimentele prosedures gebruik gemaak

5.1.2 'n Paar kalium-kontrakture (100 mM K) is by 'n verlaagde 35 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie gedoen sodat daar sekerheid oor die stabiliteit van die kontraktuurpatroon verkry kon word. Na elke kalium-kontraktuur is daar eers weer vir 'n paar minute na die kontrole-oplossing (35 mM Na; 5,4 mM K en 1,8 mM Ca) teruggekeer sodat daar volkome repolarisasie en verslapping van die spierpreparaat kon plaasvind. Hierna is drie tot vier 100 mM-kaliumdepolarisasies sowel as repolarisasies in die teenwoordigheid van $1\mu\text{g/ml}$. adrenalien uitgevoer. 'n Registrasie van so 'n tipe eksperiment word in figuur 12 weergegee.



Figuur 12 Die invloed van adrenalien op kalium-kontraktuur. Trabekulêre spier van regter ventrikel met 'n deurenee van 0,3 mm.

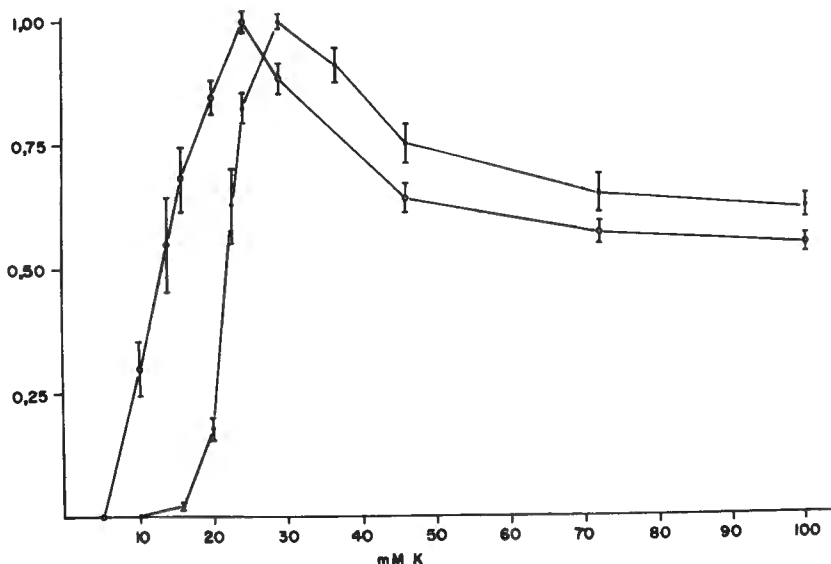
Tydens die eerste depolarisasie in die teenwoordigheid van adrenalien ontwikkel daar gewoonlik 'n uitgesproke tweede komponent of fase net na die eerste vinnige fase. Ook neem die platohoogte na hierdie nuut ontwikkelde tweede fase gewoonlik aansienlik toe. Wat veral opvallend was, is dat daar geen verandering in die eerste fase plaasgevind het nie. Met die tweede 100 mM-kaliumdepolarisasie in die teenwoordigheid van adrenalien vind daar 'n sterk uitgesproke eerste fase plaas, terwyl die oorspronklike platohoogte bereik word soos voor die

toediening van adrenalin. Dieselfde kontraktuurpatroon geld vir verdere depolarisasies in die teenwoordigheid van adrenalin. Met 'n 100 mM kaliumdepolarisasie hierna in die afwesigheid van adrenalin gedoen, word gevind dat die kontraktuurpatroon feitlik geheel en al herstel (figuur 12).

Die ontstaan van die tweede fases sowel as die vergroterde platohoogte tydens die eerste kaliumdepolarisasie in die teenwoordigheid van adrenalin dui op 'n verhoogde resulterende kalsiuminfluks deur die sarkolemma wat die kalsiumstore tot 'n nuwe vlak vul. Die feit dat 'n vergroting in die eerste fase eers met die tweede kaliumdepolarisasie plaasvind, weerspieël hierdie verband. Die herstel van die platohoogte tydens die tweede depolarisasie in die teenwoordigheid van die adrenalin dui daarop dat die oorspronklike resulterende kalsiuminfluks plaasvind. Dit kan verklaar word of deur 'n afname in die uitfluks of deur 'n toename in die effluks.

5.1.2 In 'n reeks eksperimente is die uitwendige kaliumkonsentrasie trapsgewys by 'n konstante uitwendige natriumkonsentrasie verhoog. (Vir beskrywing van die eksperimentele prosedure wat gevolg is, sien 3.5.1 en figuur 7.) Hierdie reeks eksperimente is by 'n 35 mM sowel as by 'n 50 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie gedoen en in beide gevalle sonder en in die teenwoordigheid van

1 $\mu\text{g/ml}$. adrenalin om die kwantitatiewe invloed van adrenalin op die eksitasie-kontraksie-koppeling waar te neem. Die resultate word in figure 13 en 14 grafies voorgestel.



Figuur 13 Die invloed van adrenalin op kalium-kontrak= tuur by 'n 35 mM ekstrasellulêre natrium= konsentrasie. X-as: Kaliumkonsentrasie; Y-as: Genormaliseerde platowaardes. Simbole: • sonder adrenalin (17 ekspe= rimente); ● in die teenwoordigheid van 1 $\mu\text{g/ml}$. adrenalin (12 eksperimente)

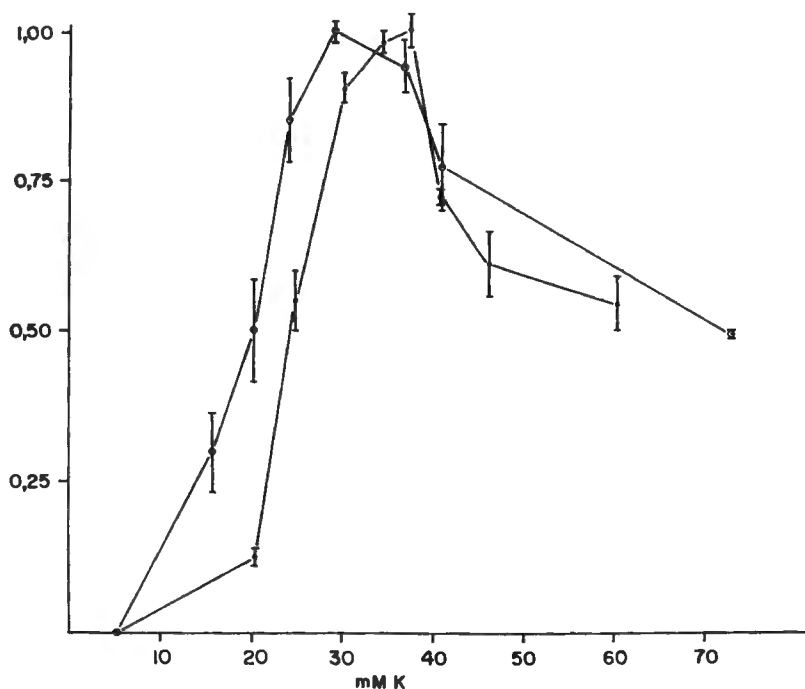
In die afwesigheid van adrenalin begin kontraktuur=

spanning by 'n 15,9 mM ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie ontstaan en bereik sy maksimum by 29,05 mM. Met adrenalien is gevind dat kontraktuurspanning alreeds by 'n $\pm$ 8 mM ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie ontstaan en sy maksimum by 24,3 mM bereik. Figuur 14 stel die resultate wat by 'n 50 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie verkry is grafies voor.

In die afwesigheid van adrenalien begin kontraktuurspanning alreeds by 'n 15,9 mM ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie ontstaan en bereik sy maksimum by 37,4 mM. In die teenwoordigheid van adrenalien begin kontraktuurspanning alreeds by 'n $\pm$ 7 mM ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie ontstaan en bereik sy maksimum by 29,05 mM. Adrenalien verskuif dus ook die kurwe na links.

'n Moontlike verklaring vir die verskuiwing van die kurwe na links deur adrenalien by beide 35 en 50 mM ekstrasellulêre natrium is die volgende:

Die teenwoordigheid van adrenalien verhoog die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie na 'n hoër vlak. Hierdie vlak lê nou veel nader aan die drempelwaarde van die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie ($10^{-7}M$) wat nodig is om die spierproteïene te aktiveer. 'n Baie kleiner depolarisasie waarde is dus nou nodig om dieselfde kontraktuurspanning teweeg te bring as wat in die afwesigheid van adrenalien nodig sou wees.



Figuur 14 Die invloed van adrenalien op kaliumkontraktuur by 'n 50 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie. X-as: Kaliumkonsentrasie (mM); Y-as: Genormaliseerde platowaardes. Simbole: • sonder adrenalien (12 eksperimente); ● in die teenwoordigheid van 1 µg/ml. adrenalien (4 eksperimente)

5.2 OM DIE INVLOED VAN KAFEÏEN OP KONTRAKTUUR NA TE GAAN

Om die invloed van kafeïen op kontraktuur na te gaan is daar van 3 soorte eksperimentele prosedure gebruik gemaak, nl.:

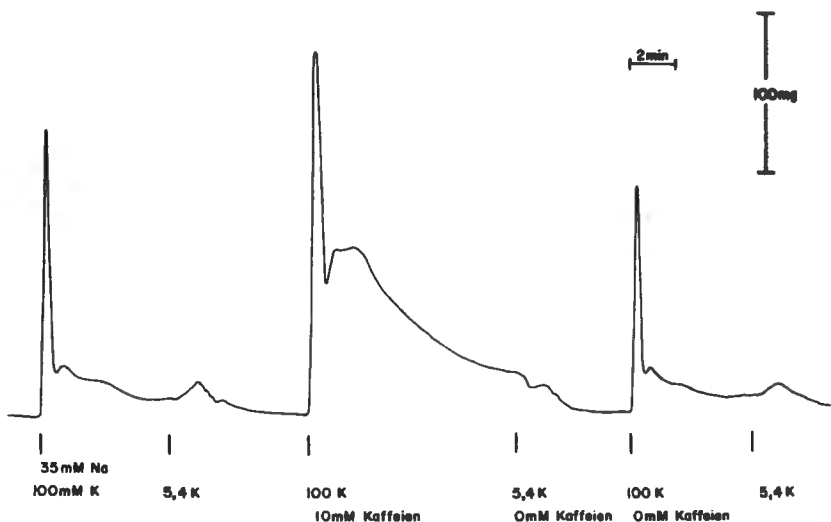
5.2.1 'n Paar kalium-kontrakture (100 mM K) is by 'n 35 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie herhaal totdat daar sekerheid oor die stabiliteit van die kontraktuurpatroon was. Na elke kaliumdepolarisasie is daar vir 'n paar minute na die kontroleoplossing (35 mM Na; 5,4 mM K en 1.8 mM Ca) teruggekeer sodat daar volkome repolarisasie van die spierpreparaat kon plaasvind. Hierna is 'n 100 mM-kaliumdepolarisasie in die teenwoordigheid van 10 mM kafeïene uitgevoer. Die volgende is waargeneem (figuur 15).

Die volgende is uit figuur 15 en ook uit ander soortgelyke resultate waargeneem:

i) Daar vind 'n effense vergroting in die eerste vinnige fase of komponent plaas.

ii) Die tweede fase en platokomponent raak ook sterk uitgesproke.

iii) Indien 'n normale 100 mM-kaliumkontraktuur in die afwesigheid van kafeïene uitgevoer word om die herstel van die spierpreparaat na onderwerping aan



Figuur 15 Die invloed van 10 mM Kafeïen op kalium-kontrakture. Papillêre spier van regter ventrikel met 'n deursnee van 0,5 mm.

kafeïene na te gaan, is daar gevind dat die herstel feitlik volkome is.

Ander interessante aspekte wat in hierdie groep eksperimente na vore gekom het, is die volgende: Indien 10 mM kafeïene vooraf toegedien word, d.w.s. tesame met die kontrole oplossing (5,4 mM K) vind daar 'n toename plaas in die rustende spanning wat met verloop van tyd egter weer met behulp van ossilasies terugverslap na die kontrolevlak. Lüttgau

et. al. (41) het in Ringeroplossing gevind dat kafeïen-kontrakture egter na 20-30 sek. weer begin verslap en dat verslapping in die vorm van 1-3 groot ossilasie plaasvind.

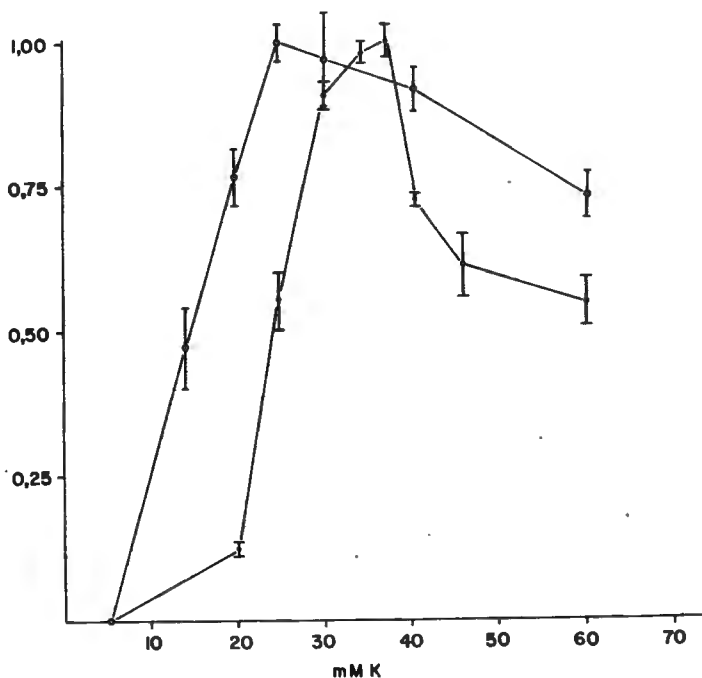
Indien daar egter vanaf hierdie verhoogde rustende spanningsvlak wat deur kafeïen teweeggebring is, 'n 100 mM-kaliumdepolarisasie uitgevoer word, vind daar slegs 'n vergrote eerste fase plaas. Die vergrote tweede fase en platokomponent wat teenwoordig is as kafeïene gelyktydig met 'n kaliumdepolarisasie toegedien word is heeltemal afwesig. Toediening van 1 mM kafeïen tydens sowel as voor 100 mM kalium depolarisasie het weinig invloed op die kaliumkontraktuurpatroon. Somtyds wou dit egter voorkom asof dit die eerste fase effens vergroot.

Die toename in rustende spanning sowel as die ontstaan van die vergrote tweede fase en platokomponent met toediening van 100 mM-kaliumdepolarisasie in die aanwesigheid van 10 mM kafeïen (sien bogenoemde bespreking) dui daarop dat kafeïen waarskynlik die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie verhoog. Die verval van hierdie verhoogde rustende spanning met verloop van tyd dui daarop dat hierdie verhoogde intrasellulêre kalsiumkonsentrasie weer gereguleer word, heel waarskynlik deur 'n verhoogde kalsiumopname deur die sarkoplasmiese retikulum.

5.2.2 In 'n tweede reeks eksperimente is die uitwendige kaliumkonsentrasie trapsgewyse by 'n konstante uitwendige natriumkonsentrasie verhoog. Vir die beskrywing van die eksperimentele prosedure wat gevolg is, sien 3.5.1 en fig. 7. Hierdie reeks eksperimente is by 'n 35 mM sowel as 'n 50 mM ekstraselulêre natriumkonsentrasie gedoen en in beide gevalle sonder en in die teenwoordigheid van kafeïen. Die resultate word grafies in figuur 16 voorgestel.

In die afwesigheid van kafeïen begin kontraktuurspanning by 'n $\pm 15,9$ mM ekstraselulêre kaliumkonsentrasie ontstaan en bereik sy maksimum by 37,4 mM. In die teenwoordigheid van 1 mM kafeïen begin kontraktuurspanning alreeds by 'n ± 6 mM ekstraselulêre kaliumkonsentrasie ontstaan en bereik sy maksimum by 24,3 mM. Kafeïen verskuif dus die kurwe na links.

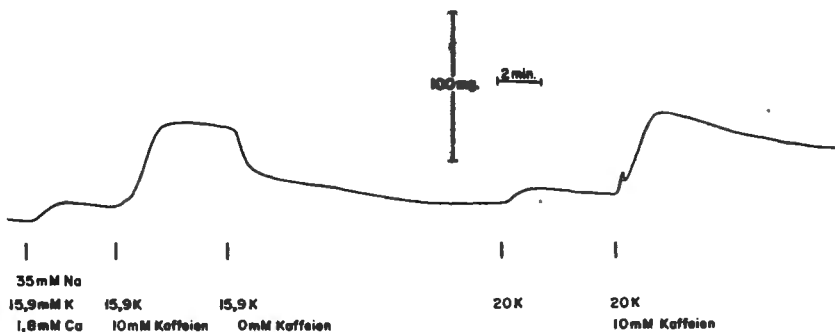
Die resultate van hierdie tipe eksperimente wat by 50 mM ekstraselulêre natrium sonder en in die teenwoordigheid van kafeïen uitgevoer is, is nie grafies voorgestel nie. Daar is egter gevind dat ook in hierdie geval 1 mM, 5 mM en 10 mM kafeïen die kurwe na links verskuif. Die verskuiwing van die kurwe na links deur kafeïen kan net soos in die geval van adrenalien verklaar word deur aan te neem dat kafeïen die intraselulêre kalsiumkonsentrasie verhoog. Daar kan egter nie



Figuur 16 Die invloed van kafeïen op kalium-kontraksie by 'n 35 mM ekstrasellulêre natriumkonsentrasie. X-as: Kaliumkonsentrasie (mM); Y-as: Genormaliseerde platowaardes. Simbole: • sonder kafeïen (12 eksperimente); ● in die teenwoordigheid van 1 mM kafeïen (7 eksperimente)

uitsluitel verkry word oor die vraag of die werkingsmeganisme waarvolgens kafeïen die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie verhoog, van dié van adrenalien verskil en of dit een en dieselfde werkingswyse is nie.

5.2.3 'n Reeks eksperimente waar die eksperimentele prosedure 'n noue verwantskap met die vorige eksperiment vertoon is ook gedoen. Nadat die spierpreparaat vir 'n tyd lank by die kontrole-oplossing (35 mM Na, 5,4 mM K en 1,8 mM Ca) gelaat is, is die eerste depolarisasie in die omgewing van 15,9 mM kalium ekstrasellulêr gedoen. Nadat die kontraktuurspanning 'n platowaarde bereik het, is daar oorgeskakel na 'n oplossing wat dieselfde konsentrasie kalium plus kafeïen bevat. 'n Verdere kontraktuurspanning ontwikkel nou as gevolg van die invloed van kafeïen. Nadat 'n nuwe platovlak bereik is, is daar teruggeskakel na die oorspronklike kaliumkonsentrasie sonder kafeïen waartydens daar verslapping na die vorige vlak plaasvind.



Figuur 17 Die invloed van 10 mM kafeïen op kaliumkontraktuur. Papillêre spier van regter ventrikel met 'n deursnee van 0.45 mm.

Die voordeel van hierdie tipe eksperiment lê daarin opgesluit dat die invloed van kafeïen direk by 'n sekere depolarisasievlak nagegaan kan word. Die teenkanting teen die tipe eksperiment is egter dat nadat die invloed van kafeïen by 'n sekere depolarisasievlak nagegaan is, daar met terugkering na die kontroleoplossing sonder kafeïen nie met sekerheid gesê kan word hoe lank dit sal duur voordat die kafeïen heeltemal uit die spierpreparaat sisteem verwyder is nie.

Uit bogenoemde eksperimente blyk dit dus duidelik dat kafeïen die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie verhoog. 'n Kleiner kaliumdepolarisasie is dus nou nodig om dieselfde kontraktuurspanning te weeg te bring as wat vir 'n groter depolarisasiewaarde in die afwesigheid van kafeïen nodig sou wees.

5.3 SAMEVATTING

In hoofstuk 5 is die invloed van adrenaliën en kafeïen veral op die platokomponent van kalium-kontraktuur nagegaan (5.1) en (5.2). Daar is gevind dat beide adrenaliën en kafeïen 'n verhoging in hierdie platokomponent teweegbring. Aangesien hierdie platokomponent indirek 'n funksie van die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie is, blyk dit dus dat beide

hierdie farmakologiese stowwe 'n verhoging in die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie teweegbring. Oor die presiese werkingswyse waarvolgens hierdie twee farmakologiese stowwe 'n verhoging in die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie teweegbring, kon egter nie uitsluitel verkry word nie.

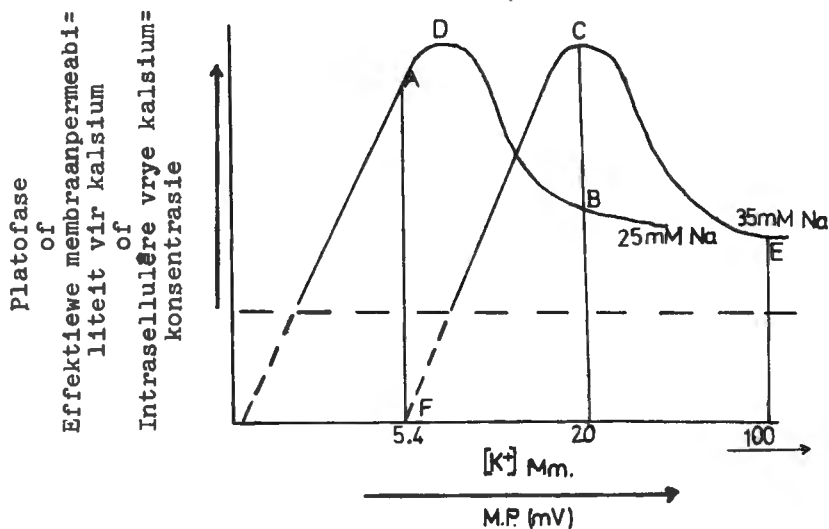
HOOFSTUK 6

SAMEVATTING, PROBELEEMSTELLING EN VERDERE NAVORSING

In hierdie ondersoek is daar gebruik gemaak van kalium-kontraktuur waarvan daar twee karakteristieke soorte voorgekom het. Hierdie kalium-kontrakture het uit verskillende komponente of fases bestaan. In albei kontraktuurvorme het daar egter 'n platokomponent wat goed reproduseerbaar was, voorgekom. Dit is dan ook veral in hierdie plato-komponent waarin daar belang gestel is.

Met behulp van 0 mM ekstrasellulêre kalsium en lantaan is daar gepoog om die verskillende komponente of fases te skei en te identifiseer. Uit hierdie identifikasie het dit geblyk dat die tweede fase die platokomponent en die derde fase hulle ontstaan te danke het aan 'n resulterende kalsiuminfluks deur die sarkolemma. Die eerste fase ontstaan waarskynlik as gevolg van 'n kalsiumvrystelling uit die sarkoplasmiese retikulum. Uit verdere eksperimente het dit geblyk dat bogenoemde resulterende kalsiuminfluks deur die sarkolemma grootliks afhanklik is van die uitwendige kaliumkonsentrasie, m.a.w. die membraanpotensiaal. (3.5.1)

Gebaseer op die aanname dat daar vir 'n sekere gebied 'n benaderde lineêre verband tussen die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie en kontraktuurspanning bestaan, kan die terme in figure 8 en 9 waar die plato= hoogte uitgesit is as 'n funksie van die ekstrasel= lulêre kaliumkonsentrasie dus respektiewelik vervang word met die vrye intrasellulêre kalsiumkonsentrasie as 'n funksie van die membraanpotensiaal. Hierdie verband word in figuur 18 geïllustreer.

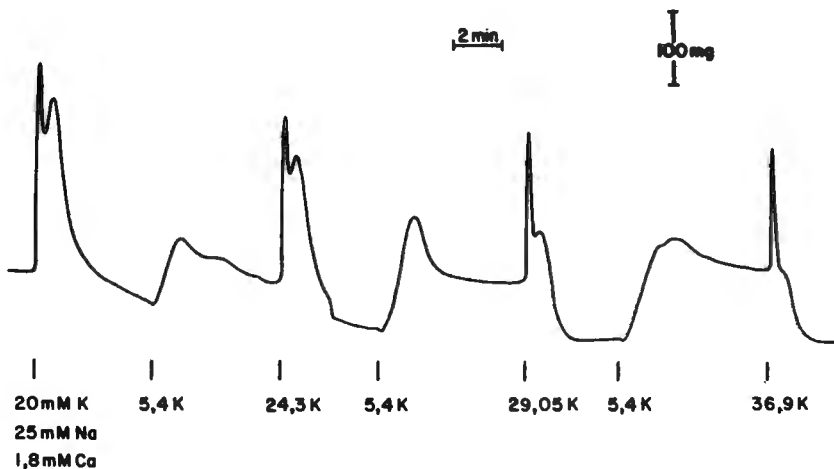


Figuur 18 'n Teoretiese voorstelling van die effek= tiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium of die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie as 'n funksie van die membraanpotensiaal by twee verskillende uitwendige natriumkon= sentrasies

Uit figuur 18 blyk dit dat die effektiewe membraan=permeabiliteit vir kalsium en dus die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie toeneem met 'n toename in die membraanpotensiaal tot 'n sekere piekwaarde waar=na die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium afneem.

Ook is daar gevind dat die platowaardes van kalium=kontraktuur afhanklik is van die uitwendige natrium=konsentrasie (3.5.2). Daar is gevind dat 'n ver=laging in die uitwendige natriumkonsentrasie bover=melde kurwe na links verskuif (3.5.1 en fig.9). Die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium of die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie neem dus toe namate die uitwendige natriumkonsentrasie verlaag word. Hierdie verskuiwing van bovermelde kurwe na links deur 'n verlaging in die ekstrasel=lulêre natriumkonsentrasie help dan mee om te ver=klaar waarom in sekere gevalle soos in figuur 13 verslapping tydens depolarisasie plaasvind, en sametrekking tydens repolarisasie.

Uit figuur 19 blyk dit dat met kaliumdepolarisasie 'n kalium-kontraktuur wat uit 'n vinnige eerste fase en tweede fase bestaan, ontwikkel. Direk na die tweede fase vind daar verslapping tot onder die kontrole-basislyn plaas. Tydens repolarisasie met 5,4 mM kalium vind daar 'n spanningsontwikkeling wat egter nie weer volkome verslap nie plaas.



Figuur 19 Die invloed van 'n verhoging in die ekstrasellulêre kaliumkonsentrasie op die verskillende fases van kalium-kontraktuur by 'n 25 mM ekstrasellulêre natrium. Papillêre spier van regter ventrikel met 'n deursnee van 0,4 mm.

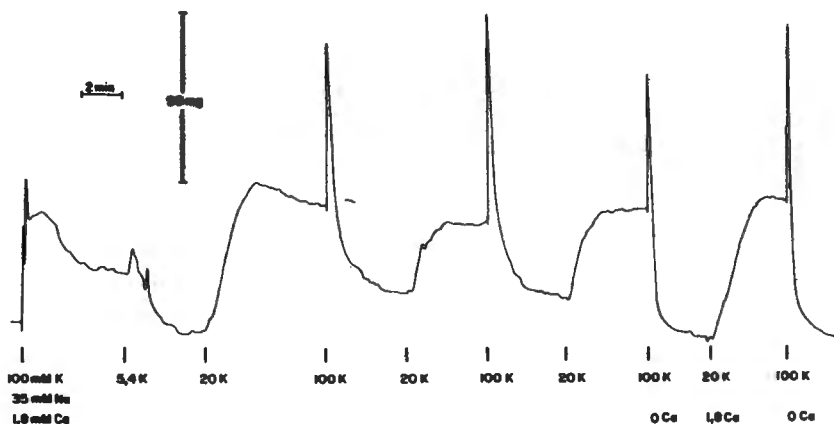
Figuur 19 kan aan die hand van die teoretiese voorstelling van figuur 18 verklaar word.

Indien daar by so 'n lae uitwendige natriumkonsentrasie (25 mM) as in fig. 19 geëksperimenteer word,

kan die kurwe in fig. 18 soveel na links verskuif as in die figuur aangedui. Tydens 'n kaliumdepolarisasie vanaf 5,4 na 20 mM K neem die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie effen toe (A-D in fig. 18) om die tweede fase te vorm en neem dan af na punt B. Die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie by punt B is dus laer as by punt A. Dit verklaar hierdie verslapping onder die kontrolevlak tydens depolarisasie met 20 mM K in fig. 19. Tydens repolarisasie neem die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie vanaf punt B na punt A in fig. 18 toe wat die sametrekking tydens repolarisasie in fig. 19 verklaar. In fig. 19 het die kontroleplatovlak tydens repolarisasie dan ook 'n stabiele waarde gehandhaaf aangesien punt A in fig. 18 by 'n konstante waarde bly.

In verdere reekse eksperimente is daar gepoog om aan te toon dat die platofase wel uitgeskakel kan word. In 'n eksperiment soos in figuur 20 weergegee, word hierdie aspek geïllustreer.

Figuur 20 kan aan die hand van die teoretiese voorstelling van figuur 18 verklaar word. Tydens 'n kaliumdepolarisasie teweeggebring deur 'n verhoging in die uitwendige kaliumkonsentrasie vanaf 5,4 na 100 mM neem die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie vanaf punt F-C in fig. 18 toe en neem dan af na punt E. Hieruit kan afgelei word dat die tweede



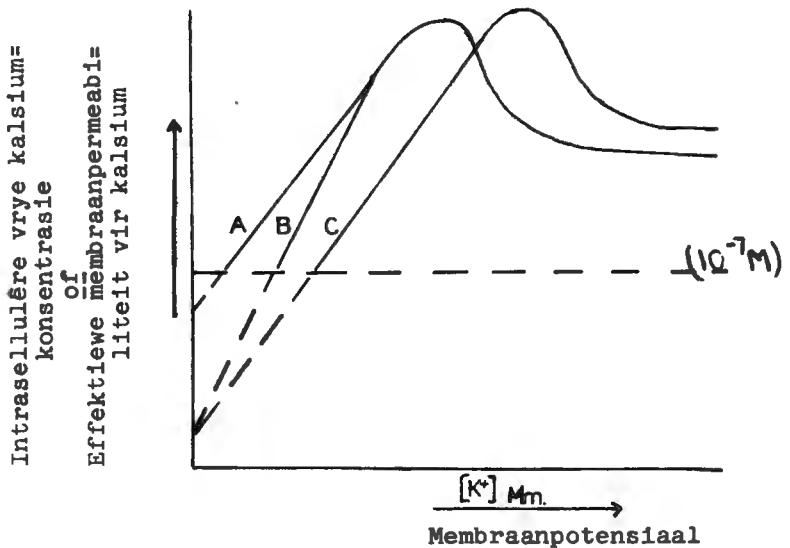
Figuur 20 Die invloed van 'n verhoging in die uitwendige kaliumkonsentrasie vanaf verskillende depolarisasievlakke op die plato-komponent. Papilêre spier van eregter ventrikel met 'n deursnee van 0,4 mm.

fase ontstaan as gevolg van hierdie toename in die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie gevolg deur die afname (fig. 20). Indien die spierpreparaat gedeprimeer word deur die kaliumkonsentrasie vanaf 5,4 na 20 mM te verhoog, neem die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie vanaf punt F-C (fig. 18) toe. Dit verklaar die oploop in kontraktuurspanning wat afplat tot 'n plato in fig. 20. By punt C is die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie dus maksimaal. Indien die uitwendige kaliumkonsentrasie nou verder vanaf hierdie punt na 100 mM

verhoog word kan daar geen verdere toe-
 name in die intrasellulêre kalsiumkonsentrasie plaas-
 vind nie maar neem die intrasellulêre vrye kalsium-
 konsentrasie vanaf punt C-E (fig. 18) af. Dit ver-
 klaar die verslapping en verdwyning van die plato-
 fase net na die eerste vinnige fase in fig. 20 met
 'n 100 mM kaliumdepolarisasie vanaf 'n 20 mM kalium-
 depolarisasievlak. Die eerste fase het dus nog wel
 plaasgevind maar word veroorsaak deur 'n kalsium-
 vrystelling deur die sarkoplasmiese retikulum.
 Direk na bogenoemde verslapping word 'n platovlak
 wat ekwivalent is aan die platovlak gevorm tydens
 'n 100 mM kalium-kontraktuur (fig. 20). Die ver-
 klaring hiervoor is dat by 'n 100 mM kaliumdepolari-
 sasievlak die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentra-
 sie 'n konstante waarde het (punt E in fig. 18).
 Uit figuur 20 kan in die laaste gedeelte van die fi-
 guur ook waargeneem word dat met toediening van 0 mM
 ekstrasellulêre kalsium tydens kaliumdepolarisasie
 hierdie platovlak verval. Dit dui weereens daarop
 dat die platofase sy ontstaan van buite die sel het,
 nl. as gevolg van 'n resulterende kalsiuminfluks.

In die tweede gedeelte van hierdie ondersoek is die
 invloed van adrenalien en kafeïen op die meganisme
 van hartspierkontraksie nagegaan. Daar is dan ook
 gevind dat beide adrenalien en kafeïen 'n verhoging
 in die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie te-
 weegbring wat nader aan die drempelkonsentrasie
 (10^{-7} M) is wat nodig is om die spierproteïene te

aktiveer. In die teenwoordigheid van adrenalin of kafeen is daar dus 'n kleiner depolarisasie nodig om dieselfde kontraktuurhoogte teweeg te bring as 'n hoër depolarisasiewaarde in die afwesigheid van adrenalin of kafeen. Hierdie aspek word in figuur 21 geïllustreer.



Figuur 21 'n Teoretiese voorstelling van die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium of die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie as 'n funksie van die membraanpotensiaal (grafiek C). In grafiek A en B word die moontlike meganismes van adrenalin en kafeen op hierdie verband weergegee

In figure 13 en 14 kan waargeneem word dat adrenalien en in figuur 16 dat kafeïen bovermelde grafiek C in figuur 21 na links verskuif (grafieke A en B). Hierdie verskuiwing kan moontlik op twee wyses verklaar word, nl.:

i) Adrenalien en kafeïen kan die vrye intrasellulêre konsentrasie by 'n normale membraanpotensiaal alreeds verhoog het na 'n konsentrasie nader aan die drempelwaarde ($10^{-7}M$) wat nodig is om die spierproteïene te aktiveer. Tydens 'n verhoging in die membraanpotensiaal sal die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie dan volgens grafiek A in fig. 21 verhoog. Grafiek A en C sal dus min of meer parallel aan mekaar verloop.

ii) Adrenalien en kafeïen kan tydens 'n toename in die membraanpotensiaal die tempo van verandering in die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium laat toeneem. Tydens 'n verhoging in die membraanpotensiaal sal die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie dan volgens grafiek B in fig. 21 verhoog.

Met inagneming van die parallelle verskuiwing van die grafieke in figure 13, 14 en 16 deur adrenalien en kafeïen wil dit voorkom of hierdie twee farmakologiese stowwe se werkingswyse eerder volgens die eerste moontlikheid (grafiek A) geskied.

Uit bogenoemde ondersoek om die meganisme van hartspier=

kontraksie op te klaar het dit dus geblyk dat die sarkolemma 'n sleutelposisie in die regulering van spierkontraktiliteit beklee. Daar is gevind dat die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium 'n groot invloed op spierkontraktiliteit vertoon. Beide 'n verhoging in die uitwendige kaliumkonsentrasie sowel as 'n verlaging in die uitwendige natriumkonsentrasie verhoog die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium. Eersgenoemde hang saam met depolarisasie maar laasgenoemde nie. 'n Verhoging in die effektiewe membraanpermeabiliteit vir kalsium verhoog weer die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie.

In hierdie werkstuk is daar egter geen aandag aan die invloed van magnesium op die meganisme gegee nie. Uit die literatuur blyk dit dat magnesium 'n belangrike rol in die meganisme van spierkontraksie mag speel (10, 19). Met die oog op verdere navorsing in verband met die bestudering van die meganisme, sal dit raadsaam wees om magnesium ook in aanmerking te neem. Daar kan in verdere navorsing ook meer aandag gegee word aan die invloed van fisiologiese faktore soos pH en temperatuur op die meganisme. Oor die faktore wat spanningsontwikkeling beheer, het daar heelwat na vore gekom. In hierdie werkstuk is daar egter nie veel aandag aan die aspek van spierverslapping gegee nie.

Wat die invloed van farmakologiese stowwe soos ad=

renalien en kafeen op die meganisme betref, het dit geblyk dat beide 'n verhoging in die intrasellulêre vrye kalsiumkonsentrasie teweegbring. Oor die presiese werkingswyse waarvolgens hierdie verhoging teweeggebring word, kan egter nie uitsluitel verkry word nie.

'n Vraag wat onwillekeurig ontstaan, is of die resultate in hierdie werkstuk met kalium-kontraktuur verkry, met 'n normale fisiologiese sametrekking in verband gebring kan word. Die platowaarde van 'n aksiepotensiaal wat 'n spiersametrekking veroorsaak, is in die omgewing van -30 tot -40 mV. Vir feitlik 90% ($\pm$ 200 tot 500 msek.) van die tydsduur van 'n normale fisiologiese sametrekking is die membraan by bogenoemde membraanpotensiaal gedepolariseer. Om 'n soortgelyke depolarisasie met kalium na te boots moet oplossings wat van 40-60 mM kalium bevat, gebruik word. In die kurwes (fig. 8, 9, 13, 14 en 16) in hierdie werkstuk is die maksimum kontraktuurspanning tot by 'n 25-50% afname wel in hierdie gebied. 'n Verskuiwing in die kurwes in bogenoemde gebied veroorsaak deur 'n verlaagde ekstrasellulêre natriumkonsentrasie (fig. 9), adrenalien (fig. 13 en 14) en kafeen is ook waargeneem. Daarom is die resultate in hierdie studie wel van direkte fisiologiese belang. Ongelukkig moes die kurwes egter genormaliseer word en kan die volle werkingsmeganisme van adrenalien en kafeen nie uit die kurwes verklaar word nie.

SUMMARY

In the above study potassium contracture was used. This study showed that two characteristic kinds of potassium contracture patterns occurred which consisted of different components or phases. However in both contracture patterns a plateau component occurred which was readily rendered. It is therefore in this plateau component that the interest lies.

By means of Ca-free solutions and lanthanum it was attempted to separate and to identify the different components or phases (3.4). From this identification it was proved that the second phase, the plateau component and the third phase originated from a resulting calcium influx through the cell membrane. The first phase originates most probably as a result of the calcium release from the sarcoplasmic reticulum.

Further experiments showed that above mentioned plateau component was dependant on the external potassium concentration (3.2 and 3.5.1) and the external sodium concentration (3.3 and 3.5.2). Seeing that the plateau component originates from a resulting calcium influx through the cell membrane it seems thus that this resulting calcium influx greatly depends on the external potassium concentra=

tion. In other word the membrane protential (3.2 and 3.5.1).

The resulting calsium influx through the cell membrane is also dependant on the external sodium concentration (3.3 and 3.5.2). Considering that the free intracellular calsium concentration is dependant on the resulting calsium influx or the effective membrane permeability we come to the conclusion that the free intracellular calsium concentration will be stipulated through the extracellular potassium - and sodium concentration.

The influence of adrenaline and caffeiene were also examined (5.1 and 5.2). The results indicated that both adrenaline and caffeiene brought a increase in the plateau component. Seeing that this plateau component is an indirect function of the free intracellular calsium concentration it appears that both adrenaline and caffeiene bring an increase in the free intracellular calsium concentration.

However the way in which these two substances bring an increase in the free intracellular calsium concentration is indeffinate.

LITERATUURVERWYSINGS

- ¹ WINEGRAD, S. & Shanes, A.M. 1970. The Journal of General Physiology, 45, 371.
- ² BEEELER, G.W. & Reuter, H. 1970. J. Physiol., 207, 211.
- ³ LANGER, G.A. 1970. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 1, 203.
- ⁴ IRVIN, R.L. & Oliver, K.L. 1970. Am. J. Physiol., 218, 1216.
- ⁵ LÜTTGAU, H.C. & Niedergerke, R. 1958. J. Physiol., 143, 486.
- ⁶ HESS, H. 1970. Physiol. Reviews, 50, 40.
- ⁷ LÜTTGAU, H.C. 1963. J. Physiol., 168, 679.
- ⁸ SCHOLZ, H. 1969. Pflügers Arch., 312, 63.
- ⁹ WILLBRANDT, W. & Koller, H. 1948. Helv. Physiol. acta, 6, 208.
- ¹⁰ PAGE, S. 1969. J. Physiol., 205, 131.
- ¹¹ HODGKIN, A. & Horowic, P. 1960a. J. Physiol., 153, 386.
- ¹² LÜTTGAU, H.C. 1963. J. Physiol., 168, 679.
- ¹³ NIEDERGERKE, R. 1963. J. Physiol., 167, 515.
- ¹⁴ SMITH, D.S. 1966. Progr. Biophys. Mol. Biol., 16, 107.

- ¹⁵ NIEDERGERKE, R. 1956. J. Physiol., 134, 584.
- ¹⁶ HODGKIN, A.L. & Horowicz, P. 1960. J. Physiol., 153, 370.
- ¹⁷ NIEDERGERKE, R. & Lüttgau, H.C. 1957. Nature 179, 1066.
- ¹⁸ IRVIN, R.L. & Hein, M.M. 1968. Am. J. Physiol., 211, 1117.
- ¹⁹ DAWSON, H. 1970. A Textbook of General Physiology, Vol. 1.
- ²⁰ SCHOLZ, H. 1969. Pflügers Arch., 308, 315.
- ²¹ FOULKS, J.G. & Pery, F.A. 1966. J. Physiol., 186, 243.
- ²² GUYTON, A.C. 1966. Textbook of medical Physiology 3, 99.
- ²³ LÉOTY, C. & Raymond, G. 1973. Pflügers Arch., 334, 114.
- ²⁴ EBASHI, S. & Endo, M. 1968. Progr. Biophys. Molec. Biol. 18, 125.
- ²⁵ HARIGAYA, S. & Schwartz, A. 1969. Circulation Research, 25, 781.
- ²⁶ CARVALHO, A.P. 1968. The Journal of General Physiology, 52, 662.
- ²⁷ PRETORIUS, P.J., Pohl, W.G., Smithen, C.S. & Inesi, G. 1969. Circulation Research, 25, 487.

- ²⁸ NIEDERGERKE, R. 1963b. J. Physiol., 167, 551.
- ²⁹ NIEDERGERKE, R., Page, S. & Talbot, M.S. 1969. Pflügers Arch. ges. Physiol, 306, 357.
- ³⁰ VAN BREEMEN, C., Farinas, B.R., Gerba, P. & Mc Naughton, D.C. 1972. Circulation Research, 25, 44.
- ³¹ GROSSMAN, A. & Furchgott, R.F. 1964. J. Pharmacol. Exptl. Therap., 143, 120.
- ³² LEE, K.S. Tanaka, K. & Yu, D.L. 1965. J. Physiol., 179, 456.
- ³³ WEBER, A. & Herz, R. 1963. J. Biol. Chem., 238, 599.
- ³⁴ GRAHAM, J.A. & Lamb, J.F. 1965. J. Physiol., 183, 25P.
- ³⁵ GRAHAM, J.A. & Lamb, J.F. 1968. J. Physiol., 197, 479.
- ³⁶ KAVALER, F. & Morad, M. 1966. Circulation Research, 18, 492.
- ³⁷ MORAD, M. & Rolett, E.L. 1972. J. Physiol., 144, 537.
- ³⁸ MORAD, M. 1969. Science, 166, 505.
- ³⁹ BOZLER, E. & Baker, H.R. 1969. Experientia, 25, 161.
- ⁴⁰ BOZLER, E. & Baker, H.R. 1970. American Journal of Physiology, 218, 1795.
- ⁴¹ LÜTTGAU, H.C. & Oetliker, H. 1968. J. Physiol., 194, 51.

- ⁴² CAPUTO, C. 1966. The Journal of General Physiology, 50, 129.
- ⁴³ BLINKS, J.R., Olson, C.B., Jewell, B.R. & Braveny, P. 1972. Circulation Research, 30, 367.
- ⁴⁴ SHINES, K.I. & Langer, G.A. 1971. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 3, 255.
- ⁴⁵ RUBIO, R. & Sperelakis, N. 1972. Z. Zellforsch., 124, 57.
- ⁴⁶ NAYLER, W.G. 1963. American Journal of Physiology, 204, 969.
- ⁴⁷ REUTER, H. & Seitz, N. 1968. J. Physiol., 195, 451.
- ⁴⁸ SANDOW, A. 1954. Am. J. Physiol. Med., 34, 145.
- ⁴⁹ JOHNSON, E.A. & Lieberman, M. 1971. Annual review of Physiology, 33, 479.
- ⁵⁰ PALMER, R.F. & Van Breemen, C. 1970. Clinical Research, 26, 26.
- ⁵¹ VAN BREEMEN, C. 1969. Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie, 77, 710.
- ⁵² VAN BREEMEN, C. & Mc Naughton, E. 1970. Biochemical and Biophysical Research communication, 39, 567.
- ⁵³ JÖBSIS, F.F. & O'Conner, M.J. 1966. Biochem. Biophys. Res. Commun., 25, 246.
- ⁵⁴ LEE, K.S. 1965. Nature (London), 207, 85.

- 55 REITER, M. 1966. Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmak.
u. exp. Rath., 254, 261.
- 56 TAIT, J.L. 1970. B.Sc. (Honns.) - werkstuk, P.U.
vir C.H.O., Potchefstroom.
- 57 VAN DER WALT, J.J. 1969. Fisiologie III. Diktaat.
Fisiologie van die selmembraan.
- 58 HELLMAN, D.C. & Podolsky, R.L. 1966. Federation
Proc., 25, 466.
- 59 REPKE, D.I. & Katz . A,M. 1972. Journal of Mole=
cular and Cellular Cardiology, 4, 401.
- 60 FRANK, G.B. 1960. J. Physiol., 151, 518.

BEDANKINGS

Graag wil ek die volgende persone en instansies bedank:

- Dr. J.J. van der Walt, onder wie se leiding hierdie verhandeling gedoen is.
- Mnr. G.C. Germishuizen, wat my voorgraadse studies finansieël moontlik gemaak het.
- Mej. S. Cawood, vir die finale tikwerk van die verhandeling.
- Mej. M. Strydom, vir die taalkundige versorging van die verhandeling.
- S. Dire en J. Noko vir tegniese hulp en versorging van apparaat.
- Pro Rege Pers Beperk, vir die duplisering van die verhandeling.

Regstelling

- i) Op p. 16 reël 10, p. 17 reël 6, p. 18 reël 8 en p. 19 reël 11 lees
 $[Ca^{2+}]_u/[Na^+]_u^2$ i. p. v. $[Ca^{2+}]_u/[Na^+]_u^2$.
- ii) Op p. 11 reël 20 lees bindingsnelheidkonstante i. p. v. bindingsnelheidkonstante.
- iii) In figuur 17 (p. 84) lees kaffelen i. p. v. kaffelen.
- iv) Op p. 89 reël 18 lees figuur 19 i. p. v. figuur 13.
- v) Op p. 95 reël 9 lees $10^{-7} M$ i. p. v. $10^{-7} M$.