

DIE INVLOED VAN GLIKOSILERING VAN
PLASMAFIBRINOGEEN OP DIE FUNKSIE
EN KONSENTRASIE DAARVAN
IN DIABETES MELLITUSPASIËNTE

FREDERICK JOHANNES VELDMAN
B.Sc., B.Sc. Honneurs

Verhandeling voorgelê vir gedeeltelike nakoming van die
vereistes vir die graad Magister Scientiae (Voeding) in die
Departement Voeding en Gesinsekologie aan die
Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys.

Leier : Prof. H.H. Vorster

Hulpleier : Mev. A. Kruger

POTCHEFSTROOM

NOVEMBER 1993

ABSTRACT

Although it has been known for a number of years that early occlusive vascular disease has a higher incidence in the diabetic subject than in comparable nondiabetic subjects, the underlying reasons are unclear. Over the last decade several studies have been undertaken with a view to elucidate the underlying mechanism(s).

Abnormalities in both lipid metabolism and haemostasis contribute to the development of vascular damage. In the early 80's Meade et al. first reported an association between haemostatic parameters and cardiovascular death. In 1984, Wilhelmsen et al. (1984) confirmed these observations and extended them to stroke. More recently, other prospective studies gave new impetus to these observations and strengthened their clinical relevance. The abnormal haemostatic and fibrinolytic profiles of diabetic patients have been studied, but their contribution to occlusive vascular disease, and mechanisms of actions are still unclear. Therefore, advances in our knowledge of the basic mechanism(s) through which some abnormalities are involved in atherosclerosis and thrombosis are crucial to define the atherogenic potential of the abnormality and help to define appropriate strategies for intervention.

Fibrinogen and its naturally occurring derivative, fibrin, are involved in mechanisms thought to play a key role in both atherogenesis and thrombosis. Glucose has been shown to bind non-enzymatically and irreversibly to fibrinogen through Schiff-base formation. This glycosylation appears to be dependant on the duration of exposure and glucose concentration in the surrounding medium. Because of this glycosylation, the tertiary or quaternary structure, function and/or degradation of the protein molecule may be altered, as has been demonstrated with glycated haemoglobin (HbA₁) and many other proteins.

The aim of this study was to elucidate the effect of glycosylation of fibrinogen on the concentration and function of this molecule in diabetes mellitus subjects. Glycated proteins [glycated haemoglobin, (HbA₁), fructosamine and glycated fibrinogen], proteins (fibrinogen, albumin and total protein), functional aspects of fibrinogen (clottability of fibrinogen, length-mass ratio and compaction of fibrin clots), lipoproteins [total cholesterol (TC), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG)] and fibrinolytic variables [tissue-plasminogen activator antigen, tPA(Ag), and plasminogen activator inhibitor-1 activity, (PAI-1 activity)] of diabetes mellitus, non-diabetic hyperlipidaemic and control subjects were examined. Changes in these variables during a 16 week dietary intervention period in the diabetic subjects [high-fibre, high-carbohydrate, low-fat diet (HFHCLF) supplemented with either dry beans or a plant protein product] were also monitored.

Serum lipids, glucose, albumin, total protein, fibrinogen, tPA(Ag), and PAI-1 activity were measured by means of colorimetric, enzymatic and immunological methods. Clottability and length-mass ratio were measured by means of turbidimetric methods. Compaction of fibrin clots was measured by means of a volumetric method and illustrated by means of electronmicrography.

The results demonstrated significant increases in TC, LDL-C, TG, fibrinogen, PAI-1 activity, tPA(Ag), TP, HbA₁, glucose and glycated fibrinogen in the diabetic subjects compared to control subjects. Length-mass ratio of fibrin, compaction of fibrin clots, albumin and HDL-C were significantly lower in the diabetic subjects. TC, LDL-C, TG, fibrinogen, tPA(Ag), compaction of fibrin clots and length-mass ratio of fibrin in the hyperlipidaemic subject group also differed significantly from control subjects. A significant correlation between glycated fibrinogen and fibrinogen ($r = 0.30 : p = 0.02$) for the subject group as a

whole, was found. This may be an indication that glycation of fibrinogen plays a role in the enhancement of fibrinogen levels during hyperglycaemia.

Fibrin clots in the diabetic subject group were characterized by long and thin fibrin fibers, which leads to formation of rigid and compact fibrin clots. This type of fibrin clot structure has been shown to be less susceptible to degradation by plasmin. It also has a thrombogenic character (Blombäck et al., 1992). The role of glycated fibrinogen in the type of fibrin clot formed, remains uncertain and should be investigated further.

In the second part of the study, the correlation between the change of glycation of fibrinogen, induced by management of diabetes control by means of diet, and the function of fibrinogen, was measured in 16 diabetic subjects. An energy restricted HFHCLF diet, supplemented with 150 g dry beans (cooked weight) per day and the same diet supplemented with 50 g soy beans (raw weight) per day were prescribed to two paired/matched diabetic patient groups. The supplementation was sustained for 10 weeks. Improvement in diabetes management was shown by reduction of HbA₁ in both subject groups. The changes between observed levels of glycated fibrinogen and functional aspects of fibrinogen could not be correlated. It is suspected that the main influence on the observed functional properties of fibrinogen, was indirectly mediated through change in diabetes control. An independent effect of dry bean fibre on diabetes control, especially on PAI-1 activity was observed.

In conclusion it seems that diabetes mellitus is associated with abnormal haemostatic function, characterized also by abnormal functional properties of the fibrinogen molecule, and that glycosylation of fibrinogen may contribute to this abnormality. An improvement in diabetes management is associated with a change in both functional aspects and glycation of fibrinogen. The underlying mechanism(s) are

however, still unclear.

OPSOMMING

Vroeë vaskulêre siektes het 'n hoër voorkoms in diabetiese pasiënte as in vergelykbare nie-diabetiese persone. Die oorsaak hiervan is tot dusver nog onbekend. Verskeie studies het oor die afgelope paar dekades gepoog om die onderliggende meganismes vas te stel.

Hemostatiese- en lipiedabnormaliteite dra by tot die hoë voorkoms van vaskulêre siektes. Meade et al. het in die vroeë 80's vir die eerste keer die assosiasie tussen hemostatiese veranderlikes en kardiovaskulêre mortaliteit gerapporteer. Wilhelmsen et al. het in 1984 dié assosiasie bevestig en uitgebrei na die voorkoms van trombose en beroerte. Resente prospektiewe studies ondersteun hierdie verskynsel, en versterk die kliniese betekenisvolheid daarvan. Alhoewel die abnormale hemostase en fibrinolitiese aktiwiteit in diabetiese pasiënte reeds wyd ondersoek is, is die onderliggende meganisme(s) van die bydrae tot die ontstaan van vaskulêre siektes nog onduidelik. Meer kennis oor die meganismes waardeur sommige abnormaliteite in die ontstaan van aterosklerose en trombose betrokke is, is van die uiterste belang om die aterogeniese en trombogeniese potensiaal van sommige abnormaliteite vas te stel. Dit kan help om voorkomende maatreëls te ontwikkel.

Fibrinogeen en sy natuurlike afgeleide produk, fibrien, speel moontlik 'n belangrike rol in beide aterogenese en trombose. Glukose bind nie-ensiematies en onomkeerbaar deur Schiff-basisvorming met fibrinogeen. Nie-ensiematiese glikosilering is afhanklik van die duur van blootstelling van proteïene aan glukose, asook konsentrasie van glukose in die omringende medium. Soos reeds aangetoon in HbA₁ en verskeie ander proteïene, kan glikosilering van 'n proteïen moontlik tot verandering van die tersiêre en kwaternêre struktuur, funksie en/of afbraak van die molekule aanleiding gee.

Die doel van hierdie studie was om die effek van glikosilering van fibrinogeen op die konsentrasie en funksie van fibrinogeen in diabetes mellitus pasiënte te ondersoek. Geglikosileerde proteïene [geglykosileerde hemoglobien (HbA_1), fruktosamien en geglikosileerde fibrinogeen], proteïene [fibrinogeen, albumien en totale proteïen (TP)], funksionele eienskappe van fibrinogeen [stolbaarheid van fibrinogeen, lengte/massa-verhouding van fibrienvesels (LMV) en kompaksie van die fibrienstolsel], lipoproteïene [totale cholesterol (TC), laedigheidslipoproteïen-cholesterol (LDL-C), hoëdigheidslipoproteïen-cholesterol (HDL-C) en trigliseriede (TG)] asook fibrinolitiese veranderlikes [plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1-aktiwiteit (PAI-1-aktiwiteit) en weefselplasminogeenaktiveerder-antigeen (tPA(Ag))] van diabetes mellitus-, nie-diabetiese hiperlipidemiese pasiënte en kontroleproefpersone is ondersoek. Dieselfde veranderlikes is tydens 'n tydperk van 16 weke dieetintervensie [hoë-vesel, hoë-koolhidraat, lae-vetdieet (HVHKLTV) wat gesupplenteer is met óf droëbone óf 'n plantproteïen-produk] in diabetiese pasiënte bepaal.

Kolorimetriese, ensiematiese en chromatografiese metodes is gebruik vir die bepaling van serumlipiede, glukose, albumien, totale proteïen, fibrinogeen, tPA(Ag), en PAI-1-aktiwiteit. Die stolbaarheid van fibrinogeen en LMV-verhouding van fibrienvesels is met behulp van 'n turbidimetriese metode bepaal. 'n Volumetriese metode is gebruik vir die bepaling van die kompaksie van die fibrienstolsel. Elektronmikrografie is gebruik om die kwantitatiewe resultate kwalitatief te illustreer.

TC, LDL-C, TG, fibrinogeen, PAI-1-aktiwiteit, tPA(Ag), TP, HbA_1 , glukose en geglikosileerde fibrinogeen was betekenisvol hoër in die diabetiese groep as in die kontrolegroep. LMV-verhouding van fibrien, kompaksie van die fibrienstolsel, albumien en HDL-C was betekenisvol laer in die diabetiese groep as in die kontrolegroep. TC, LDL-C, TG, fibrinogeen, tPA(Ag), kompaksie van die

fibrienstolsel en LMV-verhouding van fibrien in die hiperlipidemiese groep het betekenisvol verskil van die kontrolegroep. Geglikosileerde fibrinogeen en fibrinogeenkonsentrasie het in al die proefpersone saam hoogs-betekenisvol ($r = 0.30$: $p = 0.02$) gekorreleer. Hierdie korrelasie laat die vermoede ontstaan dat glikosilering van fibrinogeen 'n moontlike rol in verhoogde fibrinogeenvlakke tydens hiperglukemie, kan speel. Fibrienstolsels van die diabetiese groep het hoofsaaklik uit lang en dun vesels, wat aanleiding gee tot rigiede en kompakte fibrienstolsels, bestaan. Hierdie tipe stolsels is meer bestand teen fibrinolise. Die stolsel is ook meer trombogenies van aard (Blombäck et al., 1992). Geen direkte korrelasie tussen die tipe stolsel wat vorm en mate van glikosilering van fibrinogeen, kon aangetoon word nie.

'n Tweede studie, om 'n moontlike korrelasie tussen die verandering in glikosilering van fibrinogeen en funksionele eienskappe van die molekule tydens verbetering van glukemiese beheer deur dieet, te evalueer, is onderneem. Twee gepaarde groepe, van 8 diabetiese pasiënte elk, is onderskeidelik aan 'n energie-beperkte HVHKLVD-dieet onderwerp. Een groep het 'n droëbone-supplement (150 g bone gaar gewig per dag) en die ander groep 'n sojasupplement (50 g rou gewig per dag) ontvang. Supplementering is oor 'n tydperk van 16 weke volgehou. Beide supplemente het 'n verbetering in glukemiese beheer van die diabetiese pasiënte tot gevolg gehad. Die verandering in konsentrasie geglikosileerde fibrinogeen en funksionele eienskappe van fibrinogeen, kon nie direk met mekaar gekorreleer word nie. Die vermoede bestaan dat die verandering in glukemiese beheer die hoofreguleerder van die verandering in fibrinogeenfunksie was.

'n Onafhanklike effek van vesel (wat 'n bestanddeel van die bonedieet was) is op PAI-1-aktiwiteit waargeneem.

Die gevolgtrekking wat uit die resultate gemaak kan word, is dat diabetes mellitus met abnormale hemostase gepaard

gaan. Glikosilering van fibrinogeen en abnormale funksionele eienskappe van die fibrinogeenmolekuul kan tot hierdie abnormaliteit bydrae. Beter glukemiese beheer gaan dus met 'n verandering in glikosilering en funksionele eienskappe van fibrinogeen gepaard. Die onderliggende meganisme(s) is egter onbekend en behoort verder ondersoek te word.

INHOUDSOPGAWE

LYS VAN AFKORTINGS	1	
LYS VAN FIGURE	6	
LYS VAN TABELLE	9	
HOOFSTUK 1	11	
INLEIDING	11	
HOOFSTUK 2	14	
LITERATUUROORSIG	14	
2.1	ALGEMENE INLEIDING	14
2.2	DIE STOLLINGSKASKADE	14
2.3	FIBRINOGEEN	16
2.3.1	Struktuur, metabolisme en funksie van fibrinogeen	16
2.3.1.1	Inleiding	16
2.3.1.2	Sintese en sekresie	18
2.3.1.3	Tersiêre struktuur	20
2.3.1.4	Polimerisering en laterale assosiasie	21
2.3.1.5	Faktore wat veselvorming beïnvloed	27
	Kinetiese faktore	28
	Modulerende faktore	31
2.3.1.6	Fibrino(geno)lise	35
2.3.1.7	Genetiese abnormaliteite van plasmafibrinogeen	39
2.3.1.8	Fibrinogeen se gedrag as ware chemiese polimeer	40
2.3.2	Fibrinogeen as risikofaktor vir koronêre hartvatsiekte	41
2.3.2.1	Inleiding	41
2.3.2.2	Epidemiologiese bewyse van fibrinogeen as risikomerker	41
2.3.2.3	Moontlike meganismes : fibrinogeen, aterosklerose en KHS	44

2.3.2.4	Hemostase en diabetes mellitus	49
2.3.2.4.1	Diabetes mellitus : Inleiding	49
2.3.2.4.2	Diabetes mellitus en abnormale hemostase	50
2.4	GLIKOSILERING VAN PROTEÏENE	56
2.4.1	Molekulêre meganisme van glikosilering van proteïene	56
2.4.2	Glikosilering en diabetes mellitus	61
2.4.3	Glikosilering en hemostase	62
2.4.3.1	Inleiding	62
2.4.3.2	Glikosilering van fibrinogeen	64
2.4.4	Glikosilering van ander proteïene	69
2.4.4.1	HbA ₁	69
2.4.4.2	Fruktosamien	71
2.4.4.3	Albumien	72
2.4.4.4	Lipoproteïene	72
2.4.4.5	Polilisien	73
2.4.4.6	Eritrosietmembrane	74
2.4.4.7	Senuweeselle	75
2.4.4.8	Lensproteïene	75
2.4.4.9	Hormone en ensieme	76
2.4.4.10	Ekstrasellulêre matriksproteïene	79
2.4.5	Gevolge en belang van glikosilering van proteïene	77
2.4.5.1	Glikosilering van proteïene en plaakvorming	77
2.4.5.2	Verwydering van geglikosileerde proteïene	79
2.4.5.3	Die effek van Maillardprodukte op die funksie en struktuur van DNA	80
2.4.5.4	Fisiologiese belang van geglykosileerde proteïene	81
HOOFSTUK 3		82
METODES		82
3.1	Studie-ontwerp	82

3.2	Proefpersone	84
	Vergelykende studie	84
	Intervensiestudie	84
3.3	Bloedtrekprosedure en opvolg	85
3.4	Bereiding van serum en plasma	86
3.4.1	Plasma	86
3.4.2	Serum	86
3.4.3	EDTA-bloed	87
3.4.4	Fluoriedbloed	87
3.5	Biochemiese analises	87
3.5.1	Serumlipiede	87
3.5.2	Stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes	87
3.5.2.1	Fibrinogeenkonsentrasie (Fbg)	87
3.5.2.2	Kompaksie van die fibrienstolsel	89
3.5.2.3	Lengte/massa-verhouding van die fibrienvesels in die fibrienstolsel (LMV)	90
3.5.2.4	Stolbaarheid van fibrinogeen (STOL)	91
3.5.2.5	Weefselplasminogeenaktiveerder antigeen (tPA-Ag)	93
3.5.2.6	Plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1 (PAI-1)	94
3.5.3	Glukose en geglikosileerde proteïene	95
3.5.3.1	Geglikosileerde fibrinogeen (FGk)	95
3.5.3.2	Geglikosileerde hemoglobien (HbA ₁)	96
3.5.3.3	Fruktosamien	97
3.5.3.4	Glukose (Glk)	98
3.5.3.5	Glukose (Glv)	98
3.5.4	Serumproteïene	99
3.5.4.1	Totale proteïen (TP)	99
3.5.4.2	Albumien (Alb)	99
3.5.5	Elektronmikrografie	99
3.5.6	Kwalitatiewe beheer (SDS-PAGE)	100
3.5.7	Algemene voorsorgmaatreëls	103
3.6	Statistiese verwerkings	103

HOOFSTUK 4	105
RESULTATE	105
4.1 Vergelykende studie	105
4.1.1 Inleiding	105
4.1.2 Serumlipiede	106
4.1.3 Stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes	107
4.1.4 Glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene	111
4.1.5 Proteïen-indekse	112
4.1.6 Basislynkorrelasies	113
4.1.7 Die moontlike effek van ouderdom op gemete veranderlikes	117
4.1.8 Elektronmikrografie	119
4.2 Intervensiestudie	124
4.2.1 Inleiding	124
4.2.2 Gewigsverandering	125
4.2.3 Serumlipiede	126
4.2.4 Stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes	127
4.2.5 Glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene	129
4.2.6 Proteïen-indekse	132
4.2.7 Korrelasies tussen gemete veranderlikes	133
4.2.8 Regressie-analise	135
4.3 SDS-PAGE	138
HOOFSTUK 5	140
BESPREKING	140
5.1 INLEIDING	140
5.2 VERGELYKENDE STUDIE	142
5.2.1 Biochemiese veranderlikes	142
5.2.1.1 Verhoogde fibrinogeen	143

5.2.1.2	Die funksionele eienskappe van fibrinogeen	144
5.2.1.3	Die albumien/fibrinogeen-indeks	147
5.2.1.4	tPA, PAI-1 en fibri(geno)litiese vermoëns	149
5.2.2	Elektronmikroskopie	151
5.3	INTERVENSIESTUDIE	152
5.3.1	Inleiding	152
5.3.2	Bespreking van beide diëte se resultate	153
5.3.3	Die effek van dieetvesel op die gemete veranderlikes	157
HOOFSTUK 6		158
GEVOLGTREKKING EN AANBEVELINGS		158
6.1	Gevolgtrekkings	158
6.1.1	Verhoogde fibrinogeen	158
6.1.2	Funksionele eienskappe van fibrinogeen	158
6.1.3	Fibrino(geno)litiese vermoëns	159
6.1.4	Die albumien/fibrinogeen-indeks	159
6.2	Aanbevelings	160
6.2.1	Glikosilering van fibrinogeen	160
6.2.2	Lipiede en hemostase	160
6.2.3	Dieet en hemostase	160
BEDANKINGS		161
KONGRESSE		162
BIBLIOGRAFIE		163

LYS VAN AFKORTINGS

α	Alfa
ADP	Adenosiendifosfaat
AGE	Maillardproduk
AKA	Akrielamied
Alb	Albumien
APS	Ammoniumpersulfaat
Arg	Arginien
AT III	Antitrombien III
β	Beta
BFB	Broomfenol blou
BI	Behring Instituut
BM	Boehringer Mannheim
c	Konsentrasie
Ca^{2+}	Kalsium-(II)-ione
$^{\circ}\text{C}$	Graad Celsius
CE	Cholesterol ester
cm	Sentimeter
cm^2	Vierkante sentimeter
Dalt/cm	Dalton per sentimeter
D(+) glukose	Dekstro-glukose
D(+) fruktose	Dekstro-fruktose
dL	Desiliter
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonukleïensuur
DTT	DL-ditiotreitol
E	Eenhede
ϵ	Epsilon
EDTA	Etieleendiaminotetra-asynsuur
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay

f	Fraksionele beskikbaarheid
fA	Fibrinopeptied A
fB	Fibrinopeptied B
Fe ³⁺	Yster-(III)-ione
Fbg	Fibrinogeen
Fgk	Geglikosileerde fibrinogeen
fIX	Faktor IX
fVII	Faktor VII
fVIII	Faktor VIII
fV	Faktor V
fX	Faktor X
fXIII	Faktor XIII
g	Gram
g	Gravitasieversnelling (9.8 m.s ²)
GEM	Gemiddeld
Glk	Serumglukose (met toetsstel van BM bepaal)
Glv	Veneuse glukose (met glukometer bepaal)
Glu	Glutamiensuur
Gly	Glisien
H	Waterstof
HbA ₁	Geglikosileerde hemoglobien A ₁
HDL-C	Hoëdigtheidslipoproteïen-cholesterol
HL	Hiperlipidemies
5-HMF	5-Hidroksiemetielfurfural
HVHKLV	Hoë-vesel, hoë-koolhidraat, lae-vetdieet
IDDM	Insulienafhanklike diabetes mellitus
IE	Internasionale eenhede
IgG	Immunoglobulien-G
IgM	Immunoglobulien-M

IgN	Immunoglobulien-N
ISAC	Immunological Specificity and Accuracy Control
k_1	Vormingskonstante
k_2	Dissosiasiekonstante
Kat.no.	Katalogusnommer
Kg	Kilogram
KHS	Koronêre hartvatsiekte
KvV	Koëffisiënt van variasie
L	Liter
LDL-C	Laedigheidslipoproteïen-cholesterol
LMI	Liggaamsmassa-indeks
LMV	Lengte/massa-verhouding van fibrienvesels
Lys	Lisien
m	Meter
M	Molaar
MI	Miokardiale infarksie
mg	Milligram
mg/dL	Milligram per desiliter
mL	Milliliter
mmHg	Millimeter kwik
mmol/L	Millimole per liter
M_r	Molekulêre gewig
N	Stikstof
n	Refraksie-indeks
Na	Natrium
N_a	Avogadro se getal
NaCl	Natriumchloried
NBT	Nitro-blou tetrasolium
NH ₂	Amino

NIDDM	Nie-insulienafhanklike diabetes mellitus
nm	Nanometer
pH	Waterstofioonkonsentrasie
PAI-1	Plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1
%	Persentasie
π	Pi of (22/7)
PO ₄	Fosfaat
Pro	Prolien
Proteïen-S	Fitronektien
PU vir CHO	Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys
R ₀	Weerkaatsingsfaktor
RB	Reagensblanko
rpm	revolusies per minuut
s	Sekonde
SA	Standaardafwyking
SAIMN	Suid-Afrikaanse Instituut vir Mediese Navorsing
SDS	Natriumlaurielsulfaat
SDS-PAGE	Natriumlaurielsulfaat-poliakrielamied jelektroferese
STOL	Stolbaarheid van fibrinogeen
T	Turbiditeit
t'	Tydsverloop
TBS	Tiobarbituraatsuur
TCA	Trichloorasynsuur
TC	Totale cholesterol
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametietileendiamien
TG	Triasielgliserole / trigliseriedes

TP	Totale proteïene
Tris	Tris (hidroksiemetiel) aminometaan
tPA	Weefselplasminogeenaktiveerder
tPA-Ag	Weefselplasminogeenaktiveerder- antigeen
μ	Mikro
μm	Mikrometer
$\mu\text{IE/mL}$	Mikro-internasionale eenhede per milliliter
uPA	Urokinaseplasminogeenaktiveerder
μT	Lengte/massa-verhouding van fibrienvesels (wiskundig)
Δ	Verandering in
Vol	Volume
VLDL-C	Baie-laedigheidslipoproteïen- cholesterol
V.S.A.	Verenigde State van Amerika
W	Gewig
x	Vermenigvuldig met
y	Gamma
Zn^{2+}	Sink-(II)-ione

LYS VAN FIGURE

- Figuur 2.1 Diagram van bloedstolling
- Figuur 2.2 Molekulêre struktuur van fibrinogeen
- Figuur 2.3 Volledige meganisme van
fibrinogeensamestelling
- Figuur 2.4 Die meganisme van trombiengemedieerde
bloedstolling
- Figuur 2.5 Voorgestelde modelle vir die rangskikking van
fibrien-monomeereenhede binne intermediêre
fibrienpolimere
- Figuur 2.6 Reaksieskema van die vrystelling van
fibrinoeptiede tydens fibrienvorming
- Figuur 2.7 Skematiese voorstelling van die oligomere
wat deur fibrien gevorm word.
- Figuur 2.8 Fisiologiese aktivering van die
fibrino(geno)litiese ensieme
- Figuur 2.9 Die Maillardweg
- Figuur 2.10 Skematiese voorstelling van die verwantskap
tussen hiperglukemie en sekondêre
risikofaktore tydens die ontstaan van
onomkeerbare en omkeerbare komplikasies van
diabetes mellitus
- Figuur 2.11 Die moontlike effek van glikosilering op
plasmafibrinogeen
- Figuur 2.12 Variasie in vesellengte en veseldikte lewer
stolsels met verskillende eienskappe
- Figuur 2.13 Patologiese gevolg van opeenhoping van
Maillardprodukte
- Figuur 3.1 Eksperimentele ontwerp van die studie
- Figuur 3.2 'n Opsomming van die weg wat gevolg is tydens
die ondersoek na sommige van die funksionele
eienskappe van fibrinogeen.

- Figuur 4.1 Fibrinogeenkonsentrasie van die drie afsonderlike proefgroepe
- Figuur 4.2 tPA(Ag)- en PAI-1-konsentrasies van die drie afsonderlike proefgroepe
- Figuur 4.3 (a) en (b) Elektronmikrograwe van 'n kontroleproefpersoon en NIDDM-pasiënt by dieselfde vergroting (X 15500).
- Figuur 4.3 (c) Elektronmikrograaf van 'n HL-pasiënt by dieselfde vergroting as in 4.3 (a) en (b), (X 15500).
- Figuur 4.3 (d) en (e) Elektronmikrograwe van 'n kontroleproefpersoon en NIDDM-pasiënt by dieselfde vergroting (X 21000).
- Figuur 4.3 (f) en (g) Elektronmikrograaf van 'n kontroleproefpersoon en HL-pasiënt by twee verskillende vergrotings (f = X 39000 : g = X 73000).
- Figuur 4.4 Grafiek van die gewigsverandering tydens die verloop van die studie van beide groepe ingrepe.
- Figuur 4.5 Grafiek van die verandering in die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels tydens die verloop van die studie van beide groepe ingrepe.
- Figuur 4.6 Grafiek van die verandering in die konsentrasie geglikosileerde fibrinogeen tydens die verloop van die studie van beide groepe ingrepe.
- Figuur 4.7 Standaardkromme van die merkerproteïene, waarmee die molekulêre massa van fibrinogeen bereken is.
- Figuur 4.8 Voorbeeld van 'n jel na kleuring.
- Figuur 5.1 Skematiese voorstelling van die moontlike verklarings vir die resultate in hierdie studie.

Figuur 5.2 Moontlike oorsake vir die afname in LMV
van fibrienvesels tydens die volg van die
sojadieet.

LYS VAN TABELLE

- Tabel 2.1 Opsomming van die belangrikste prospektiewe epidemiologiese studies wat fibrinogeen as 'n moontlike risikofaktor vir KHS aantoon
- Tabel 2.2 Epidemiologiese data van stollingsfaktore tydens DM
- Tabel 4.1 Persoonlike besonderhede van die kontrole, hiperlipidemiese en diabetiese groepe
- Tabel 4.2 Vergelykings van serumlipiede van die drie groepe pasiënte
- Tabel 4.3 Vergelykings van stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes van die drie groepe
- Tabel 4.4 Vergelykings van glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene van die drie groepe
- Tabel 4.5 Vergelyking van die proteïen-indekse van die drie groepe
- Tabel 4.6 Pearson korrelasiekoëffisiënte van basislynwaardes van die diabetes mellitus-, hiperlipidemiese, kontrole- asook totale groep
- Tabel 4.7 Persoonlike besonderhede van beide groepe ingrepe
- Tabel 4.8 Betekenisvolle verskille van serumlipiede tussen besoeke met bone as ingreep
- Tabel 4.9 Betekenisvolle verskille van serumlipiede tussen besoeke met soja as ingreep
- Tabel 4.10 Betekenisvolle verskille van stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes tussen besoeke met bone as ingreep
- Tabel 4.11 Betekenisvolle verskille van stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes tussen besoeke met soja as ingreep

- Tabel 4.12 Fibrino(geno)litiese en stollingsveranderlikes wat betekenisvol verskil tussen die twee proefgroepe, in dieselfde besoek
- Tabel 4.13 Betekenisvolle verskille van glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene tussen besoeke met bone as ingreep
- Tabel 4.14 Betekenisvolle verskille van glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene tussen besoeke met soja as ingreep
- Tabel 4.15 Glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene wat betekenisvol verskil tussen die twee proefgroepe, in dieselfde besoek
- Tabel 4.16 Betekenisvolle verskille van proteïen-indekse tussen besoeke met bone as ingreep
- Tabel 4.17 Betekenisvolle verskille van proteïen-indekse tussen besoeke met soja as ingreep
- Tabel 4.18 Proteïenindekse wat betekenisvol verskil tussen die twee proefgroepe, in dieselfde besoek.
- Tabel 4.19 Betekenisvolle korrelasiekoëffisiënte van die eindwaardes in die bone- asook soja-groep.
- Tabel 4.20 Stapsgewyse regressie-analise van beide groepe ingrepe, vanaf basis- tot eindtye
- Tabel 5.1 Tabel met gemiddeldes en reikwydtes van sekere veranderlikes wat in hierdie studie van belang mag wees.

HOOFSTUK 1

INLEIDING

Die lewensverwagting van diabetiese pasiënte is ongeveer twee-derdes van dié van vergelykbare nie-diabetiese persone (Schmitt, 1987). Redes wat hiervoor aangevoer word is dat, saam met die diabetiese toestand, 'n aantal komplikasies voorkom wat deur die siekte self, of die behandeling daarvan veroorsaak word. Daar word onderskei tussen akute en langtermynkomplikasies. Onder die langtermyn vaskulêre komplikasies resorteer mikro- en makroangiopatie (Schmitt, 1987). Makroangiopatie word in die algemeen sinoniem met aterosklerose gesien. Laasgenoemde is verhoog by diabetiese pasiënte. Diabetiese vaskulêre komplikasies is verantwoordelik vir die verhoogde sterftesyfer by beide nie-insulien-afhanklike (NIDDM) en insulien-afhanklike diabetes mellitus (IDDM). Dit is om hierdie rede dat dit belangrik is om faktore te identifiseer wat verantwoordelik is vir die ontstaan en bevordering van vaskulêre komplikasies.

Verhoogde plasmafibrinogeenkonsentrasies korreleer met die voorkoms van koronêre hartvatsiekte (KHS), beroerte en perifere vaskulêre siektes. Fibrinogeen van diabetiese pasiënte is verhoog. Uit 'n oorsigartikel van Cook & Ubben (1990) blyk dit dat op sellulêre vlak insig verkry is oor die molekulêre beheer van fibrinogeensintese, asook moontlike meganismes waardeur fibrinogeen betrokke kan wees by hierdie siektetoestande. Ernst & Resch (1993) som op dat die belangrikste resultate van epidemiologiese data klem lê op die belang van fibrinogeen as kragtige

voorspeller van toekomstige vaskulêre insidente. Hierdie resultate kan slegs verstaan word indien die weë waarvolgens fibrinogeen aterotrombose bevorder, geïdentifiseer word. Dit is dus duidelik dat verdere bestudering van hierdie molekule van die uiterste belang is.

Uit die literatuur is dit duidelik dat daar nie eenstemmigheid is oor die oorsake van diabetiese komplikasies nie. Daar word veral gespekuleer oor die belangrikheid van die rol van chroniese hiperglukemie (Kennedy & Baynes, 1984). Daar is reeds aangetoon dat glukose nie-ensiematies met liggaamsproteïene kan bind. Hierdie binding tussen glukose en 'n proteïen kan strukturele en funksionele verandering in die proteïen meebring (Lütjens et al., 1985).

Alhoewel dit nou moontlik is om sekere eienskappe van plasmafibrinogeen op molekulêre vlak te bestudeer, is daar baie min inligting beskikbaar oor die eienskappe van plasmafibrinogeen tydens sekere kliniese toestande, soos diabetes mellitus (Azhar et al., 1990).

Die doelstelling van hierdie studie was om die konsentrasie en eienskappe van plasmafibrinogeen in diabetes mellitus pasiënte te ondersoek. Die moontlike korrelasie tussen hiperglukemie en die verandering in eienskappe en konsentrasie van die molekule is ondersoek. Die moontlikheid dat beter metaboliese beheer deur 'n hoë-vesel, hoë-koolhidraat, lae-vetdieet die eienskappe en konsentrasie van plasmafibrinogeen in diabetes mellitus pasiënte mag verbeter, is ook ondersoek. Vlakke van bloedglukose, fibrinogeen, geglikosileerde fibrinogeen, ander geglikosileerde proteïene, funksionele eienskappe van fibrinogeen en lipiede van diabetiese pasiënte, hiperlipidemiese pasiënte en gesonde kontroleproefpersone is vergelyk. Die funksionele eienskappe van fibrinogeen

wat ondersoek is, is die deursnit van fibrienvesels in die fibrienstolsel, die kompaksie van die fibrienstolsel en die persentasie stolbaarheid van fibrinogeen. Hiperlipidemiese pasiënte is ook as proefpersone ingesluit, omdat diabetiese pasiënte meestal ook verhoogde vlakke van lipiede vertoon. Die doel was dus om aan te toon of verandering wat in die funksionele eienskappe van fibrinogeen by diabetiese pasiënte voorkom, met die abnormale beheer van bloedglukose, of met die verhoogde bloedlipiede geassosieer word.

In hoofstuk 2 word 'n kort opsomming van die mees relevante literatuur met betrekking tot hierdie studie gegee. Hoofstuk 3 is 'n bespreking van metodes wat gebruik is vir die uitvoer van alle eksperimentele werk. Die resultate van die eksperimentele werk word in hoofstuk 4 weergegee. 'n Bespreking van die resultate volg in hoofstuk 5, waarna gevolgtrekkings en aanbevelings in hoofstuk 6 gemaak word.

HOOFSTUK 2

LITERATUUROORSIG

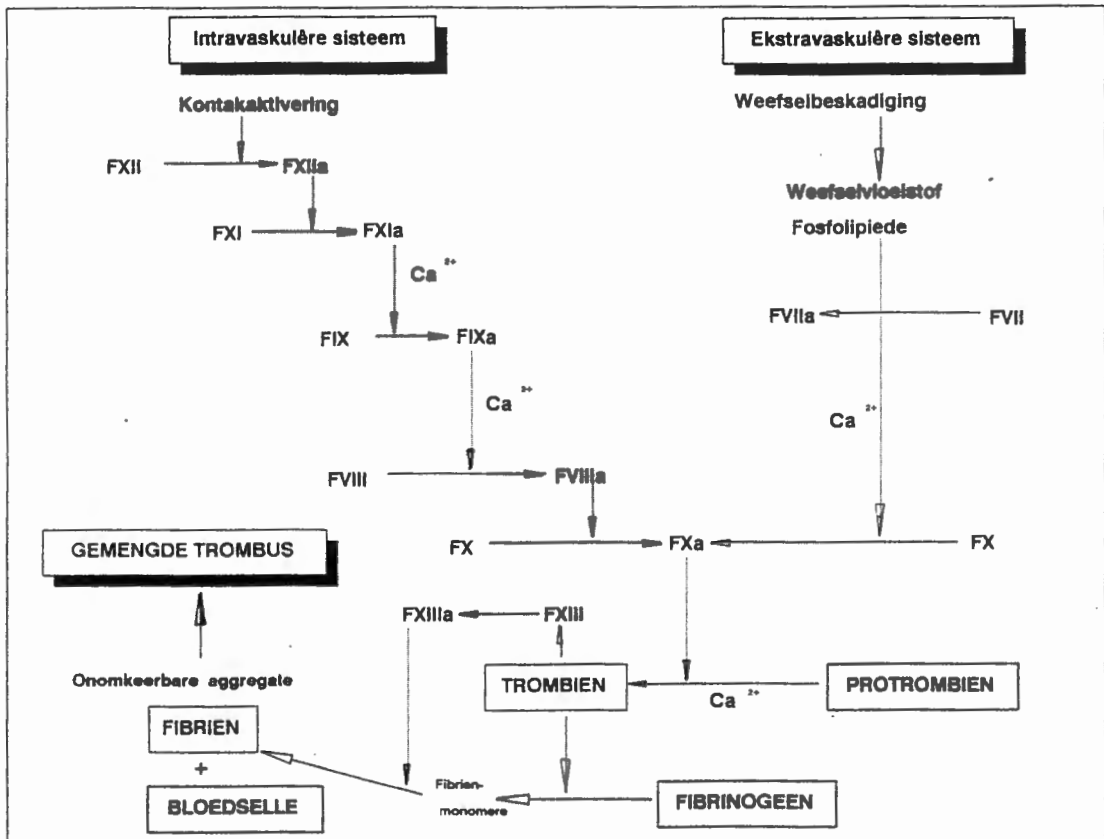
2.1 ALGEMENE INLEIDING

Die doel van hierdie hoofstuk is nie om 'n volledige oorsig van hemostase te gee nie, maar wel om genoeg inligting te verskaf vir insig in die interpretasie van die navorsingsresultate wat in hoofstuk 4 gegee en in hoofstuk 5 bespreek word. Daar sal eers in breë trekke na die hemostatiese proses gekyk word, waarna 'n meer sorgvuldige bespreking volg oor fibrinogeen se molekulêre struktuur, om uiteindelik die rol wat fibrinogeen speel as risikomerker of -faktor vir koronêre hartvatsiekte, beter te verstaan. Die proses van glikosilering, asook glikosilering van fibrinogeen, wat 'n bydrae mag lewer tot die molekuul se patologiese effekte, word daarna bespreek.

2.2 DIE STOLLINGSKASKADE

Hemostase omsluit alle fisiologiese prosesse wat saamwerk om bloeding vanuit 'n bloedvat te voorkom of te beëindig. As bloeding plaasvind, verander die bloed normaalweg binne 5-10 minute van 'n hidrosol na 'n hidrojel deurdat fibrinogeen, 'n normale bestanddeel van plasma, in fibriendrade verander. Die drade voorsien die basis vir 'n stolsel (Meyer et al., 1988). Daar bestaan drie weë (figuur 2.1) waarvolgens die stollingsreaksie geaktiveer word : i) die intrinsieke faktor X-aktiveerstelsel wat aan die gang gesit word wanneer bloed met 'n vreemde oppervlak in aanraking kom : ii) die ekstrinsieke faktor X-aktiveerstelsel wat gesneller word wanneer bloed aan

beskadigde weefsel blootgestel word : en iii) die gemeenskaplike baan, of finale weg, waartydens aktivering van protrombien na trombien plaasvind in teenwoordigheid van kalsiumione, gevolg deur ensiematiese omsetting van fibrinogeen na fibrien deur trombien (Martin, 1985). Die hele proses het 'n kaskadekarakter, en sommige faktore



Figuur 2.1 Diagram van bloedstolling (uit : Schmidt & Thews, 1983).

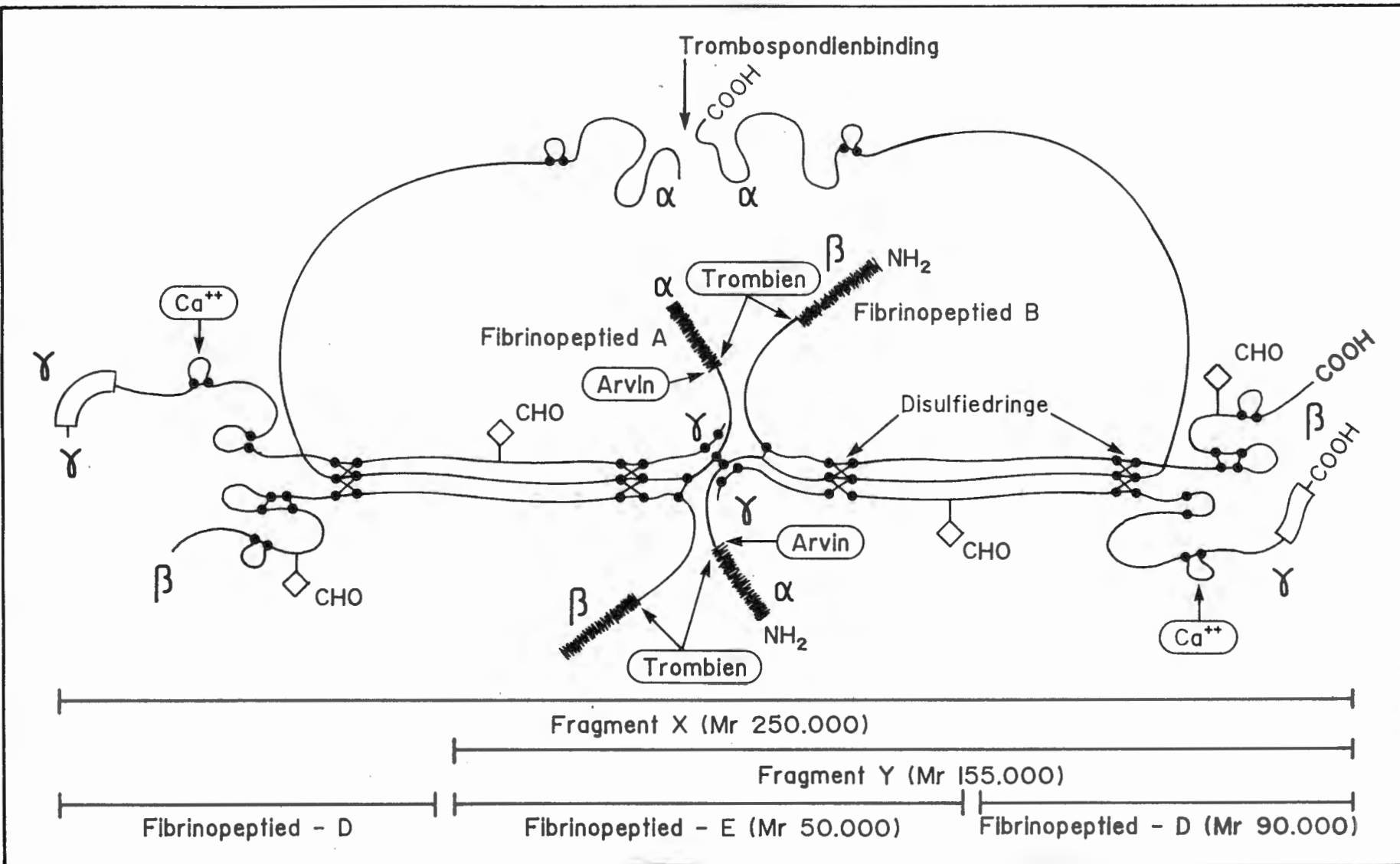
funksioneer as tempobepalende ensieme (Meyer et al., 1988). Die finale stap in die hemostatiese proses is verantwoordelik vir die afbraak van die gevormde fibrien. Dit behels die aktivering van die protease, plasmien (die aktiewe ensiem) vanaf die voorloper plasminogeen. Aktivering van plasminogeen kan deur verskeie endogene aktiveerders gesneller word (Dippel, 1992). Weefsel-plasminogeenaktiveerder (tPA) is die belangrikste van hierdie aktiveerders (Sprengers & Kluft, 1987). Die gevormde plasmien het 'n hoë affiniteit vir fibrien, wat soos fibrinogeen, baie maklik afgebreek word. Dit lei tot vernietiging van die stolsel en vrystelling van die afbraakprodukte in die sirkulasie (Dippel, 1992). Die aktiwiteit van tPA word deur verskeie aktiveerders en inhibeerders gereguleer, waarvan plasminogeenaktiveerder-inhibeerder-1 (PAI-1) 'n belangrike funksie het (Sprengers & Kluft, 1987).

2.3 FIBRINOGEEN

2.3.1 Struktuur, metabolisme en funksie van fibrinogeen

2.3.1.1 Inleiding

Verskeie resente oorsigte noem dat fibrinogeen 'n glikoproteïen is wat uit drie nie-identiese polipeptiedkettings ($A\alpha$, $B\beta$ en $\gamma\gamma'$) bestaan (Cook & Ubben, 1990 ; Dang & Bell, 1989 ; Ernst et al., 1992 ; kyk ook figuur 2.2). Roy et al. (1992) beklemtoon egter dat slegs die $B\beta$ - en γ -kettings glikoproteïene is. Sintetisering vind hoofsaaklik in die lewer plaas (Torbet, 1986). Cook & Ubben som op dat samevoeging van die polipeptiedkettings plaasvind deur vorming van disulfiedbrûe asook N-glikosilering, sulfatering en fosforilering.



Figuur 2.2 Molekulêre structuur van fibrinogeen (uit : Cook & Ubben, 1990).

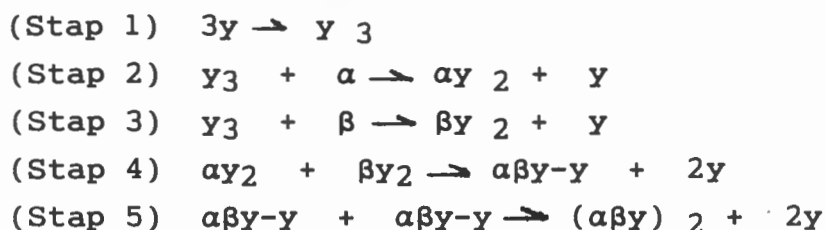
Die eindpunte van die fibrinogeenmolekuul is hoogs negatief gelaai. Hierdie negatiewe lading word veroorsaak deur die aanwesigheid van 'n groot aantal aspartaat- en glutamaatresidue op die A-gedeelte van die A α -ketting sowel as die B-gedeelte van die B β -ketting. Die negatiewe lading is funksioneel in dié sin dat dit bydra tot die molekuul se wateroplosbaarheid, sowel as om ander fibrinogeenmolekule af te stoot, wat spontane bloedstolling verhoed (opgesom deur Martin, 1985). Sintese van die B β -ketting dien as tempo-bepalende stap vir die sintese van die fibrinogeenmolekuul (opgesom deur Cook & Ubben, 1990 ; Dang & Bell, 1989).

Geselekteerde eienskappe van fibrinogeen, wat betrekking het op die rol daarvan in aterogenese en vorming van geglikosileerde fibrinogeen, sal in die volgende paragrafe bespreek word.

2.3.1.2 Sintese en sekresie

By die mens is plasmafibrinogeen se halfleeftyd 3-4 dae (Dang & Bell, 1989). Die primêre setel van fibrinogeensintese is die hepatosiete (Roy et al., 1992). Katabolisme van die fibrinogeenmolekuul lewer die afbraakprodukte, fibrinogeenfragmente D en E, wat makrofages stimuleer om interleukien-6 te produseer. Interleukien-6 stimuleer die lewer om fibrinogeen te produseer. Die konsentrasie van fibrinogeen in plasma verteenwoordig dus die balans tussen sintese en sekresie en verwydering van fibrinogeen uit die plasma (opgesom deur Cook & Ubben, 1990 ; Wang & Fuller, 1991). Fibrinogeen is 'n unieke stollingsproteïen omdat elke subeenheid se sintese binne die granulêre endoplasmatiese retikulum deur 'n ander geen gekodeer word (Hartwig & Danishefsky, 1991 ;

Huber et al., 1990). Hierdie gene is geleë op 'n 46 kilobase streek van chromosoom vier (opgesom deur Cook & Ubben, 1990) en kom voor as enkelduplikate in die haploïde genoom (Chung & Ichinose, 1989). Die A α -ketting (M_r 66,062) sowel as γ -ketting (M_r 48,529) word in selle gestoor (Hartwig & Danishefsky, 1991 ; Roy et al., 1992) en word deur die Golgi-apparaat vrygestel sodra dit in die sirkulasie benodig word (Hartwig & Danishefsky, 1991). Die α -granules in bloedplaatjies is een van hierdie stoorplekke vir fibrinogeenpeptiedkettings (Francis et al., 1984). Daarenteen word die B β -ketting (M_r 54,358) nie gestoor nie en word dit gebruik vir fibrinogeensintese sodra dit gevorm word. Algehele samevoeging van die drie verskillende kettings is nie noodsaaklik vir sekresie van die molekule nie. Die molekule kan in die heelvorm, of in kleiner weergawes, (die A α B β γ_2 -kompleks asook die A α - γ_2 -kompleks), vrygestel word (Hartwig & Danishefsky, 1991). Die volledige meganisme van fibrinogeensamestelling word in figuur 2.3 voorgestel.



Figuur 2.3 Volledige meganisme van fibrinogeensamestelling (uit : Hartwig & Danishefsky, 1991).

Die oorsaak van verhoogde fibrinogeensintese is nog onbekend. Die vermoede bestaan dat vrye vetsure 'n rol mag speel in die versnelling van die produksie van fibrinogeen deur die hepatosiete (Pilgeram & Pickart, 1968).

'n Moontlike beheermeganisme van fibrinogeensintese kan deur dieet bemiddel word (Miller et al., 1986 ; Vorster et al., 1988). Dieet kan as een van die min beheerbare omgewingsfaktore in die voorkoming van westerse siektes gesien word. Die moontlikheid bestaan dat 'n toename van dieetvesel die fibrinogeenkonsentrasie kan verlaag. Die presiese meganisme, waardeur vesel die fibrinogeenkonsentrasie verlaag, is nog onbekend (Vorster et al., 1988).

2.3.1.3 Tersiêre struktuur

Fibrinogeenmodelle (figuur 2.2) stel die molekule as 'n lang, lig-gebuigde en gedraaide trinodulêre molekule van 340 000 daltons voor (Hartwig & Danishefsky, 1991 ; Torbet, 1986). Dit bestaan as 'n silinder van 7*48 nm. Die aminotermini van die ses subeenhede vorm die sentrale E-streek. Aan die twee eindpunte van die molekule word die twee D-streke gevind, wat deur die karboksietermini gevorm word. Die drie pare kettings is tussen die D- en E-streke verbind om 'n heliksstruktuur te vorm (Dang & Bell, 1989). Elke helfte van die fibrinogeenmolekule (wat saamgestel is uit die drie afsonderlike polipeptiedkettings, A α , B β en γ), word gebind deur simmetriese disulfiedbindings. Buiten hierdie disulfiedbindings bestaan daar 29 addisionele inter- en intraketting disulfiedbindings in die fibrinogeenmolekule (Roy et al., 1992).

Die D-streek- γ -ketting se karboksieterminusus is belangrik vir interaksie met plaatjies, polimerisering van fibrien, sowel as vir kruisbinding. Die karboksieterminusus is ook belangrik vir interaksie met plasmien (opgesom deur Cook & Ubben, 1990 ; Dang & Bell, 1989 ; Mayo et al., 1990).

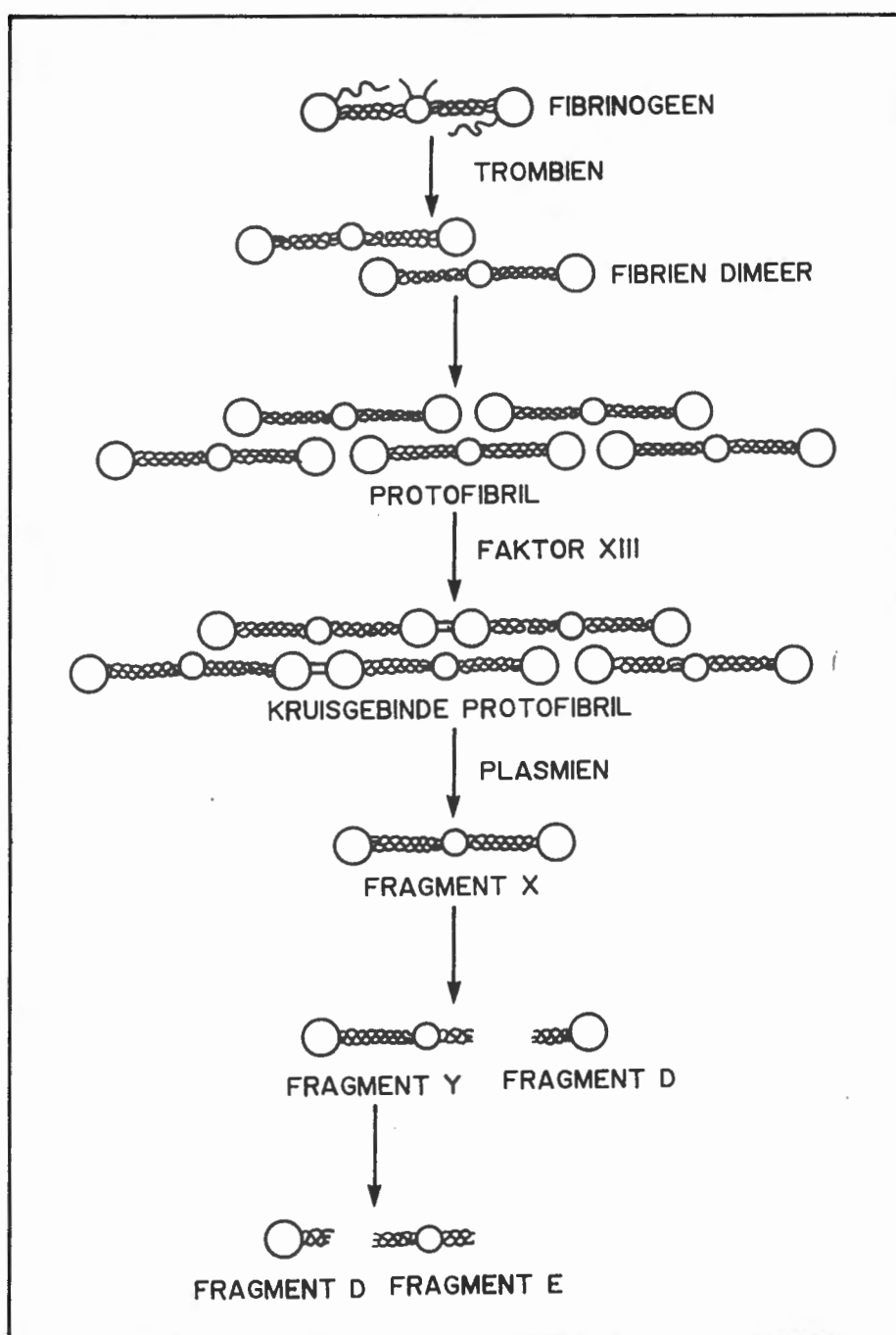
Bindingsetels vir kalsium maak 'n integrale deel uit van die fibrinogeenmolekule. Kalsium speel 'n belangrike rol in die polimerisering van fibrienmonomere. Daar is reeds aangetoon dat elke fibrinogeenmolekule drie hoë-affiniteit

bindingsetels en tien lae-affiniteit bindingsetels vir kalsium besit (Dang et al., 1989). Kalsium bind direk aan elk van die D- en E-streke. Fibrinogeen kan nie effektief in kalsium se afwesigheid stol nie (Dang et al., 1989).

Die fibrinogeenmolekuul is baie heterogeen (Chung & Davie, 1984 ; Finlayson & Mosesson, 1963) , wat beteken dat daar meer as een vorm van dieselfde molekuul in die sirkulasie aangetref word. Dit word weerspieël deur die grade van oplosbaarheid waarin die molekuul kan voorkom. Die verskil in oplosbaarheid is toe te skryf aan die kataboliese tussenprodukte. Hierdie produkte is meer oplosbaar en het 'n langer trombienstollingstyd en 'n laer molekulêre gewig as fibrinogeen self. Die verskil in molekulêre gewig word veroorsaak deur die verskillende molekulêre gewigte waarin die A α -ketting aangetref kan word. Dit dui daarop dat vroeë afbraakprodukte uit fibrinogeen gevorm kan word, en dat die A α -ketting as eerste setel dien vir hierdie proses (Mosesson et al., 1972). Die teenwoordigheid van 'n wykende vorm van die γ -ketting, bekend as γ' of γ_B , dra verder by tot die heterogeniteit van die molekuul. Hierdie γ' -ketting het 'n hoër molekulêre gewig as die γ -ketting en word deur 'n ander geen gekodeer (Chung & Davie, 1984).

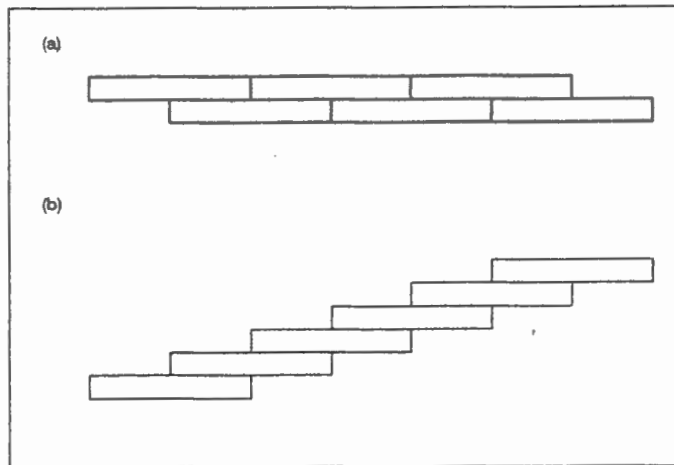
2.3.1.4 Polimerisering en laterale assosiasie

Die laaste stap van bloedstolling word geïnisieer deur die proteolitiese werking van trombien op fibrinogeen (figuur 2.4 ; Hantgan et al., 1980 ; Hartwig & Danishefsky, 1991). 'n Spesifieke driedimensionele struktuur óf 'n spesifieke aminosuurvolgorde, óf beide, word benodig vir hierdie laaste stap om effektief plaas te vind (Mayo et al., 1990).



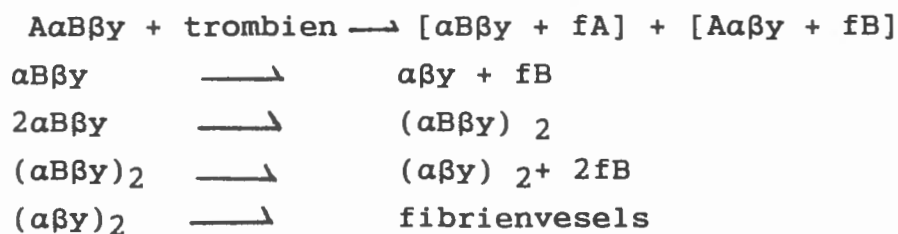
Figuur 2.4 Die meganisme van trombiengemedieërde bloedstolling (uit : Chung & Ichinose, 1989).

Laasgenoemde geld vir beide trombien en fibrinogeen (Hortin & Trimpe, 1991). Vier klein polipeptiedkettings, die "fibrinopeptiede", word vrygestel (Fretto et al., 1978). Die fibrinogeenmolekuul staan nou as 'n fibrienmonomeer bekend (Hantgan & Hermans, 1979). Hierdie monomeer polimeriseer spontaan om onomkeerbare nie-kovalente interaksies te vorm wat aanleiding gee tot die oplosbare intermediêre polimere, wat saam polimeriseer om 'n jelagtige netwerk te vorm (Torbet, 1986; kyk figuur 2.5).



Figuur 2.5 Voorgestelde modelle vir die rangskikking van fibrien-monomeereenhede binne intermediêre fibrienpolimere. Die rangskikking in (a), wat voorgestel is op die basis van hidrodinamika, ligweerkaatsing en elektrostatika, stem ooreen met resente navorsing (uit : Krakow et al., 1972).

Die gevormde fibrienklont word gestabiliseer deur die werking van aktiewe fibrien-stabiliseringsfaktor, faktor XIII, wat die fibrienmonomeer-eenhede onomkeerbaar kovalent verbind (Krakow et al., 1972), in die teenwoordigheid van kalsiumione. Twee intermolekulêre (ϵ -(glutamiel)lisien)-kruisbindings tussen lisiel-donorgroepe en glutaminiel-akseptorgroepe vorm vinnig op antiparallelle y-kettings om die y-dimeersubeenheid van gedeeltelike kruisgebinde fibrien te vorm (Chen & Doolittle, 1971).



Figuur 2.6 Reaksieskema van die vrystelling van fibrinopeptiede tydens fibrienvorming (uit : Lewis et al., 1985).

Addisionele kruisbinding tussen α -kettings om die α -polimeer subeenheid van gestabiliseerde kruisgebinde fibrien te vorm, vind stadiger plaas. Die β -kettings van fibrien ondergaan nie kruisbinding nie (Fretto et al., 1978).

Resultate dui daarop dat die algehele proses van veselvorming deur ten minste vier verskillende komplementêre bindingsetels, akseptor-donor pare (Fretto et al., 1978) behartig word. Twee setels staan as die "A" en "a" primêre setels bekend, wat verantwoordelik is vir die liniêre polimerisering en protofibrilvorming. Hulle is in die D- en E-streek van fibrien gesetel. Twee ander setels, "B" en "b", is verantwoordelik vir laterale assosiasie van die monomere. Hulle presiese ligging is nog onbekend (Husain et al., 1988). Die voorgestelde meganisme vereis dat die twee akseptorsetels van die kettings, betrokke by die polimeriseringsreaksie, aan lisien gebind moet wees. Dit moet dus deel wees van die α -ketting. Die rangskikking van die kettings is oorwegend antiparallel (Cottrell et al., 1979).

Een stel polimeriseringsetels betrokke by die interaksie tussen fibrienmonomere is reeds in die fibrinogeenmolekuul aanwesig, terwyl die komplementêre setels na vrystelling van die fibrinopeptiede, vanaf fibrinogeen, blootgestel

word. Die moontlike rede vir die teenwoordigheid van setels op fibrinogeen self, is dat hierdie setels as tussengangers kan dien vir binding met 'n ander fibrienmolekuul (Husain et al., 1989). Die omsetting van oplosbare fibrien na 'n onoplosbare fibrienjel kan in verskeie stappe waargeneem word. Die proses, wat deur trombien geïnisieer word, vind plaas as gevolg van binding van trombien aan Arg-Gly-bindings naby die terminale dele van die A α - en B β -kettings. Die verwydering van hierdie peptiede ontbloot die polimeriseringsetels op die fibrienmonomere. Die verwydering van fibrinopeptied A vind vinniger plaas as dié van B. Verwydering van fibrinopeptied A is voldoende vir die begin van polimerisering (Hantgan & Hermans, 1979). Die veselvorming wat plaasvind veroorsaak 'n konformasieverandering wat die verwydering van fibrinopeptied B versnel. Die verwydering van fibrinopeptied A genereer nuwe aminosuurterminale op die α -ketting met die volgorde Gly-Pro-Arg. Hierdie nuwe termini skakel met komplementêre setels op die D-domein van ander fibrienmolekule (Chung & Ichinose, 1989). Vir laasgenoemde proses is die teenwoordigheid van twee molekule 'n voorvereiste (Hantgan et al., 1980). In die algemeen kan punt-aan-punt assosiasie soos volg voorgestel word,



waar beide i en j enige waarde kan aanneem, insluitend oneindig (Hantgan & Hermans, 1979).

In 1979 het Hantgan & Hermans bevestig dat die verwydering van fibrinopeptied B veselvorming versnel. Hulle werk dui daarop dat vorming van protofibrille 'n voorvereiste is vir verwydering van fibrinopeptied B deur trombien. Verwydering van fibrinopeptied B is ook 'n voorvereiste vir die uiteindelijke vorming van vesels en die jelstruktuur (Hantgan & Hermans, 1979 ; Hantgan et al., 1980 ; kyk

figuur 2.6). Dit is nodig dat slegs 10 % van fibrinopeptied B verwyder moet wees om hierdie fibrinopeptied se funksie te vervul (Nawarawong et al., 1991). Die rede hiervoor is dat laterale assosiasie van fibrienmonomere 'n 6.5-voudige toename in die ontvanklikheid van Arg-B β 14 vir proteolise deur trombien veroorsaak. Hierdie toename, gekenmerk deur die afname in die spesifisiteitskonstante van $6.5 \times 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ na $4.2 \times 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ vir monomeerassosiasie en die tempokonstante vir fibrienassosiasie, dien as 'n verdere bewys dat fibrinopeptied B na laterale assosiasie van monomere vrygestel word (Lewis et al., 1985).

Fibrien wat vorm deur vrystelling van slegs een van die fibrinopeptiede, A of B, besit 'n laer lengte/massa-verhouding van fibrienvesels as wanneer beide fibrinopeptiede, A en B, vrygestel word (Blombäck et al., 1978.). Daar is verder aangetoon dat die vrystelling van fibrinopeptied B die tempo van laterale assosiasie en dus stolselvorming, versnel (Nawarawong et al., 1991).

Die monomere (protofibrille) is nou parallel punt-aan-punt verbind, met 'n oorvleueling van die helfte van elke monomeer se lengte. Sodra die polimere se lengte genoegsaam is, versnel die tempo vir laterale assosiasie (sy-aan-sy), sodat die vesels in dikte toeneem (Hantgan et al., 1985). Laterale assosiasie tussen verskillende kettings vind vervolgens plaas, wat aanleiding gee tot die vorming van 'n driedimensionele netwerk (Galanakis et al., 1987), wat as die fibrienstolsel bekend staan (Marx & Harari, 1989).

Die fibrienstolsel se struktuur is hoogs polimorfies, aangesien die fibrienvesels in die stolsel oneweredig versprei is. Die vesels is in "kabels" gegroepeer, met eienskappe wat afhanklik is van die omstandighede waarin die stolsel gevorm is (Torbet, 1986). 'n Nuutbeskryfde

plasmiegemedieërde afbraakproduk, D-trimeer, toon aan dat knooppuntformasie moontlik is sonder protofibril-oorvleueling. Hierdie trimolekulêre vertakpunt vorm moontlik deur direkte interaksie van drie afsonderlike protofibrille (Carr & Powers, 1991).

Buiten fibrienvorming vanuit fibrinogeen, is fibrinogeen verantwoordelik vir binding met spesifieke plaatjiereseptore, om plaatjieklomping (ook bekend as plaatjieaggregasie) te induseer. Die setel vir binding tussen fibrinogeen en bloedplaatjies is op die karboksieterminus van die γ -ketting geleë (Kloczewiak et al., 1984).

Dit is moontlik vir fibrinogeen om te polimeriseer in die afwesigheid van trombien. Hierdie meganisme behels die teenwoordigheid van transglutaminase faktor XIII. Hierdie weg vereis nie die verwydering van die twee fibrinopeptiede (A en B) nie. Polimeriseringsetels op die A α -ketting word ook nie tydens hierdie meganisme geaktiveer nie (Procyk & Blombäck, 1990). Die produkte van hierdie polimeriseringsreaksie bestaan uit multimeriese produkte met hoë molekulêre gewigte. A α - γ kruisbindings is 'n unieke produk van hierdie tipe polimeriseringsreaksie (Murthy et al., 1991).

2.3.1.5 Faktore wat veselvorming beïnvloed

Veseldikte en jelmorfologie varieër aansienlik en word deur verskeie faktore beïnvloed (Torbet , 1986). Beide kinetiese en modulerende faktore speel 'n rol in die uiteindelijke bepaling van die jelstruktuur. Die algemene eienskap van 'n normale fibrienjelstruktuur is 'n geordende netwerk wat bestaan uit silinderagtige veselelemente wat mekaar kruis en soms in "knope" oorsprong vind (Blombäck et al., 1992).

Jelstruktuur word finaal deur faktore soos :

- (a) jelrigiditeit,
 - (b) veseldikte,
 - (c) veselmassa-digtheid,
 - (d) poriegrootte (die afstand tussen vesels binne 'n jel),
- en (e) die styfheid van die vesels tussen die vertakpunte in 'n stolsel (Gabriel et al., 1992), bepaal.

Hierdie faktore bepaal die meganiese rigiditeit van die jel, hoe maklik makromolekule deur die jel kan diffundeer, asook die oorlewingstydperk van die jel (Gabriel et al., 1992).

Kinetiese faktore sluit die konsentrasie van die trombien sowel as fibrinogeen in (Wilf & Minton, 1986). 'n Kinetiese model is deur Wilf & Minton (1986) opgestel wat die afhanklikheid van die fraksionele beskikbaarheid van monomeer, dimeer, trimeer en tetrameer+ met verloop van tyd beskryf. Hierdie tipe model is slegs aanvaarbaar indien die volgende denkrigting gevolg word :

- Die vrystelling van fragment B, na trombienwerking, se effek op fibrienpolimerisering moet as 'n tweede-orde reaksie geïgnoreer word.

- Beide A-fibrinopeptiede word koöperatief vanaf fibrinogeen verwyder.

- Die tempokonstante vir monomeerassosiasie is onafhanklik van oligomeergrootte.

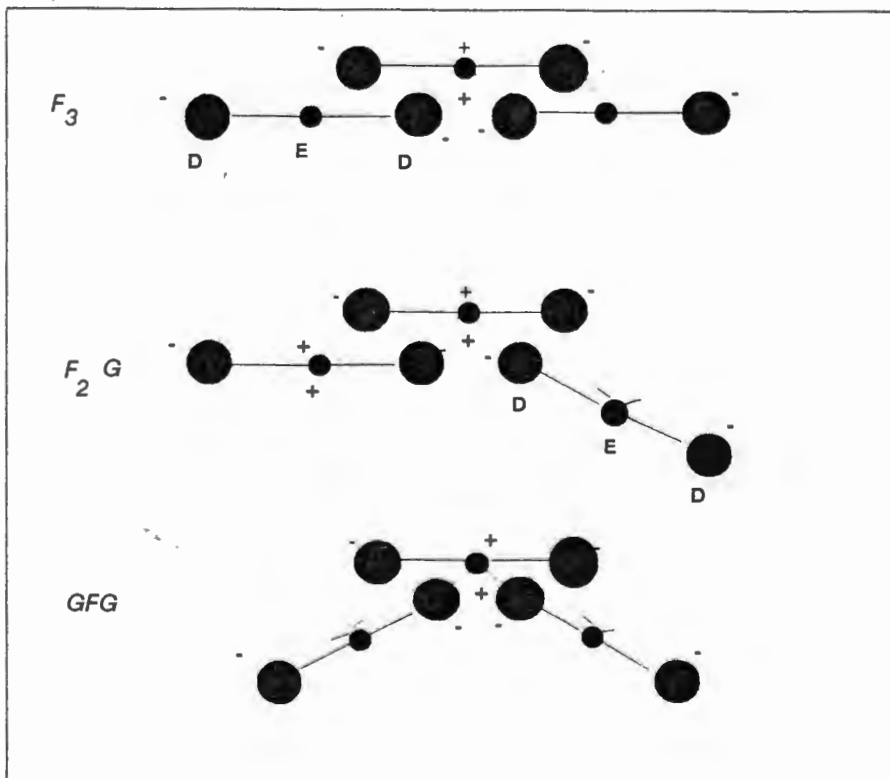
- Om byprodukonsentrasies te bereken, word assosiasies tussen oligomere weglaatbaar klein geskat in verhouding tot monomeerassosiasies.

- Dissosiasie van komplekse wat tydens fibrienvorming ontstaan, word as weglaatbaar klein beskou.

- Oligomere wat tydens die vroeë fase van fibrienvorming gevorm word, word beskou as liniêre produkte (kan dus slegs in twee rigtings groei ; kyk figuur 2.7).

- Die tempokonstante vir die assosiasie tussen fibrinogeen en reaktiewe setels word beskou as α -keer dié van assosiasie tussen fibrien en reaktiewe setels.

- Trombien verwyder fragment A vanaf komplekse fibrinogeenmolekules met 'n tempokonstante van β -keer as dié vir verwydering van fragment A vanaf enkel-fibrinogeen.



Figuur 2.7 Skematiese voorstelling van die oligomere wat deur fibrien gevorm word [F = fibrien ; G = fibrinogeen] ; (uit : Wilf & Minton, 1986).

Beskikbaarheid van 'n monomeer, dimeer, trimeer en tetrameer kan dan bepaal word vanuit die vergelykings :

$$f_1 = x_G + x_F$$

$$f_2 = 2(x_{F2} + x_{FG})$$

$$f_3 = 3(x_{F3} + x_{F2G} + x_{GFG})$$

$$f_{4+} = f_4 + f_5 = 4(x_{F4} + x_{F3G} + x_{GF2G}) + 5(x_{F5} + x_{F4G} + x_{GF3G})$$

met G as fibrinogeen, F as fibrien en f die fraksionele beskikbaarheid, onder die aanvanklike kondisies :

$$x_A(t' = 0) = 1 \quad \text{vir } A = G$$

$$\text{en } x_A(t' = 0) = 0 \quad \text{vir } A \neq G,$$

met A as fibrinopeptied A, t' die tydsverloop en G fibrinogeen (Wilf & Minton, 1986).

Die bespreekte kinetiese model postuleer die ontstaan van drie tipes oligomere. Dié voorstelling toon dat die beskikbare vrye energie vir assosiasie tussen 'n fibrinogeenmolekuul (G) en fibrien (F), minder is as dié vir assosiasie tussen twee fibrienmolekule (uit : Arnout et al., 1992 en Wilf & Minton, 1986).

Verhoogde kinetiese faktore gee oorsprong aan 'n sterker, minder poreuse netwerk, met dunner vesels en 'n hoër digtheid van knope. Hierdie strukture is meer rigied en ondeurlaatbaar. Laer konsentrasies van kinetiese faktore lewer 'n meer poreuse netwerk met dik vesels en minder knope. Hierdie strukture is meer vormbaar en plasties en dus ook meer deurlaatbaar (Blombäck et al., 1992). Optimale fibrinogeenkonsentrasies beïnvloed die kwaliteit van die stolsel (Brass et al., 1976). Dit is moontlik omdat fibrien-oligomerisering vertraag word in die teenwoordigheid van hoë fibrinogeenkonsentrasies as gevolg van die vorming van stabiele oplosbare komplekse tussen fibrien en fibrinogeen. In die teenwoordigheid van hoë trombinkonsentrasies sal die tempo van stolselvorming dus afneem indien die fibrinogeenkonsentrasie toeneem (Wilf & Minton, 1986).

Die modulerende faktore beïnvloed die struktuur terwyl die stolsel besig is om onder konstante kinetiese toestande te vorm, deur óf interaksie met die medium, óf direkte interaksie met die molekule tydens fibrienvorming. Modulerende faktore sluit proteïene in soos albumien, fibronektien (Blombäck et al., 1992) en immunoglobulien G (IgG) (Carr & Powers, 1991), spesifieke ione soos kalsium (Boyer et al., 1972), magnesium en sink (Carr & Powers, 1991), die totale ioniese sterkte (Okada & Blombäck, 1983), die eritrosietkonsentrasie (Carr & Harding, 1987), asook pH (Carr & Powers, 1991). Die meeste modulerende faktore bevorder 'n meer poreuse, plastiese netwerk (Blombäck et al., 1992). Hierdie tipe netwerk is meer vatbaar vir plasminogeenafbraak (Gandrille & Aiach, 1990).

Daar is aangedui dat kalsium ('n modulerende faktor) se effek op stolselvorming gemedieër word deur versnelde samevoeging van oplosbare fibrienmonomere, onafhanklik van die aksie van fibrienstabiliseringsfaktor (Boyer et al., 1972), maar afhang van die kalsiumkonsentrasie (Carr & Powers, 1991). Kalsium versterk ook die bindings tussen fibrienmonomere (Donovan, 1985). Die effek van kalsium word vergesel deur die vrystelling van fibrinopeptied B, wat beteken dat kalsium geen effek op fibrienpolimerisering kan uitoefen indien fibrinopeptied B nie vrygestel word nie (Mihalyi, 1988). Daar is verdere bewyse wat staaf dat kalsium 'n beskermende effek op die struktuur van die fibrinogeenmolekuul het. Kalsiumbinding aan die fibrinogeenmolekuul veroorsaak 'n konformasieverandering binne die fibrinogeenmolekuul by die streek van die bindingsetels. Hierdie konformasieverandering beskerm die molekuul se disulfiedbindings teen reduksie (Procyk & Blombäck, 1990). Sink se effek op stolselvorming word onderdruk deur die werking van albumien, wat vrye sink in die serum bind en dus inaktiveer (Carr & Powers, 1992).

Albumien kan self die turbiditeit van fibrienmonomeerstolsels meer effektief laat afneem in die teenwoordigheid van Zn^{2+} (eerder as in die teenwoordigheid van Ca^{2+}) (Marx & Harari, 1989). Albumien versnel laterale assosiasie van fibrienmonomere tydens polimerisering in plasma. Dit gee aanleiding tot langer en dunner vesels (Nair & Dhall, 1991 ; Torbet, 1986), asook verswakte deurlaatbaarheid van die fibrienstolsel (Nair & Dhall, 1991). Hierdie eienskap van albumien is onafhanklik en sinergisties met dié van fibrinogeen (Galanakis et al., 1987).

Daar word gepostuleer dat albumien interaksie met die E-streek van fibrinogeen het en op hierdie wyse polimerisering verstadig. 'n Ander moontlikheid bestaan dat albumien 'n strukturele verandering in faktor XIII veroorsaak wat sy tempo van werking versnel (Carr, 1987). Galanakis et al. (1987) rapporteer dat albumien met spesifieke setels op die fibrinogeenmolekuul, wat nie direk betrokke is by fibrienvorming nie, bind. Hierdie binding tussen fibrinogeen en albumien oefen 'n steriese hindernis uit wat die fibrinogeenmolekuul se funksie verander. Die verdere moontlikheid bestaan dat albumien met fibrinogeen kompeteer vir beskikbare divalente katione (veral Zn^{2+}) en op hierdie wyse stollingsparameters, soos verlaagde fibrienturbiditeit, moduleer (Marx & Harari, 1989). Nair & Dhall (1991) som op dat verskeie teorieë albumien se effek op stolselvorming aan sy binding met trombien, weens sy groot bindingskapasiteit, toeskryf. Fibrienstolsels wat in die teenwoordigheid van hoë konsentrasies albumien vorm, is dieselfde as die fibrienstolsels wat in die teenwoordigheid van lae konsentrasies trombien vorm. Hierdie teorie is deur Nair & Dhall (1991) as onaanvaarbaar beskryf vanuit die lig dat verlaagde trombienkonsentrasies die kinetika van die fibrienbinding so sal affekteer dat stolselvorming teen 'n oneffektiewe tempo sal plaasvind.

Eritrosiete se effek op stolselstruktuur is onafhanklik van die lengte of dikte van die vesels. Porieë in die stolsel is groter in die teenwoordigheid van eritrosiete en dit kan funksioneel wees tydens die herstel van 'n wond. Groter porieë laat meer plek vir makrofage en ander selle om by die basis van die wond die herstelproses te versnel (Carr & Harding, 1987).

Fibrinolitiese aktiwiteit in plasma beïnvloed die eienskappe van die fibrien netwerk, veral in persone met versnelde fibrinolitiese aktiwiteit (Nair et al., 1991). Ander stollingsfaktore, soos antitrombin III (AT III), beïnvloed jelstruktuur op 'n unieke wyse. AT III inhibeer laterale assosiasie van die hoofvesels in 'n fibrienstolsel en is baie selektief in sy werking. Dit is interessant om daarop te let dat ATIII se invloed onafhanklik is van aktivering van die molekule deur byvoorbeeld heparien (Nair & Dhall, 1991).

Die effek wat glukose op die jelstruktuur uitoefen is verskillend van die abnormaliteit van die jelstruktuur gevind in diabetiese plasmanetwerke. Die meganisme wat aanleiding gee tot hierdie verskil is onduidelik, maar kan moontlik die gevolg wees van glikosilering van ander serumproteïene, onder andere albumien (Nair et al., 1991).

Beide gamma-globulien en fibronektien beïnvloed jelstruktuur (Nair & Dhall, 1991). Gamma-globulien induseer 'n ladingsverandering op die fibrienmonomere, wat tot verhoogde veseldikte lei. Fibronektien, 'n groot glikoproteïen, bind nie-kovalent aan fibrien. Hierdie binding tussen fibronektien en fibrien bevorder protofibrilaggregasie en polimerisasie. Dit gee aanleiding tot dikker vesels (Nair & Dhall, 1991). Korrelasies tussen jelstruktuur en laedighedslipoproteïen-cholesterol (LDL-C), asook met akute fase reaksies, bestaan. Die bevinding dat die mate van koronêre stenose,

soos bepaal deur angiografie, verwant is aan sekere faktore wat jelstruktuur bepaal, lei tot die hipotese dat 'n algehele abnormale jelstruktuur, eerder as slegs vormbaarheid en styfheid van die jelstruktuur, geassosieer word met die verloop van aterosklerose (Blombäck et al., 1992).

Omgewingsveranderlikes soos temperatuur, pH, ioniese sterkte, asook die konsentrasie van verskeie klein molekule se effek op die tempo en mate van jelvorming, asook op die fibrienstolsel se struktuur, is 'n aanduiding van die sensitiwiteit van die aggregerende makromolekule. Hierdie interaksie tussen die makromolekule en omgewingsveranderlikes kan ten minste in drie groepe verdeel word :

(a) interaksies tussen die reaktiewe setels wat ontbloot word na vrystelling van fibrinopeptied A en hul komplementêre setels op ander molekule,

(b) interaksies tussen die reaktiewe setels wat ontbloot word na vrystelling van fibrinopeptied B en hul komplementêre setels op ander molekule,

(c) interaksies tussen naburige molekule in die aggregate, wat nie deur trombien geaffekteer kan word nie, maar wel 'n bydra lewer tot die molekuul se vrye energie (Wilf & Minton, 1986).

Hierdie drie groepe interaksies is beide struktureel en energeties van belang. In die afwesigheid van genoegsame inligting van die gebied van intermolekulêre kontak, geassosieer met elke groep interaksie, se struktuur, is daar geensins genoeg rede om te aanvaar dat hierdie groepe identies optree nie, selfs nie kwalitatief nie (Wilf & Minton, 1986). Daar moet verder beklemtoon word dat min inligting bekend is aangaande die invloed van die plasma-

omgewing op vorming van die uiteindelijke jelstruktuur (Galanakis et al., 1987). Die finale stolselstruktuur is dus afhanklik van die kinetika van fibriengroei en is hoogs sensitief vir die aanwesigheid van plasmaproteïene (Nair & Dhall, 1991). Stolselstruktuur kan dus deur beide patologiese en fisiologiese toestande verander word (Gabriel et al., 1992).

2.3.1.6 Fibrino(geno)lise

Verskeie organe, waaronder die niere en retikulo-endoteliale sisteem, is direk betrokke by die kataboliese weg van fibrinogeen en fibrinogeen-afgeleide molekule (Sherman, 1977).

Die oriëntasie van die trinodulêre struktuur van die fibrinogeenmolekuul is so gerig dat dit sekere gebiede van die molekuul ontbloot vir proteolitiese afbraak (Chung & Ichinose, 1989). Lokale aktivering van die fibrinolitiese sisteem word as 'n belangrike antitrombotiese meganisme beskou (Gandrille & Aiach, 1990). Plasminogeen is 'n sirkulerende voorloper van die protease plasmien. Dit is bekend dat plasmien oor 'n aantal funksies beskik waarvan fibrino(geno)lise van die belangrikste funksies blyk te wees (opgesom deur Castellino, 1984).

Plasmien-afbraak van fibrien en fibrinogeen verloop in 'n volgorde van stappe en sluit die vorming van tussenprodukte in (Chung & Ichinose, 1989 ; figuur 2.4). Die eerste stap, voordat enige afbraak kan plaasvind, behels die aktivering van plasminogeen tot aktiewe plasmien (kyk figuur 2.8). Daar bestaan ten minste drie groepe plasminogeenaktiveerders :

- (1) ekstrasiesieke aktiveerders,
- (2) intrinsieke aktiveerders, en
- (3) bakteriële aktiveerders (opgesom deur Castellino, 1984).

Plasminogeenaktiveerder in bloed verteenwoordig vaskulêre plasminogeenaktiveerder, wat deur endoteelselle gesintetiseer en vrygestel word. Laasgenoemde staan hedendaags as weefselplasminogeenaktiveerder (tPA) of alteplase bekend. tPA het 'n spesifieke affiniteit vir die A-ketting van fibrinogeen (opgesom deur Collen & Lijnen, 1990).

Die struktuur wat benodig word vir aktiwiteit van tPA is geleë in die lisienresidu Aa157 van die fibrinogeenmolekuul (Voskuilen et al., 1987). Die aktivering van plasminogeen deur tPA volg Michaelis-Menten kinetika. Fibrien se teenwoordigheid tydens plasminogeenaktivering verhoog die effektiwiteit van hierdie aktivering (opgesom deur Collen & Lijnen, 1990). Daar is ook aangetoon dat fibrinogeen plasmien inhibeer. Hierdie meganisme word beheer deur die binding tussen fibrinogeen en setels, wat verskil van die aktiewe setels, op plasmien. Om hierdie effek op te hef, moet die substraatkonsentrasie (in hierdie geval fibrinogeen) toeneem. Dit veroorsaak dat die katalitiese setels van plasmien ook gevul kan word. Die omset van fibrinogeen na fibrien hef die inhiberende effek dadelik op (Higazi & Mayer, 1990).

TPA kan in meer as een isomeriese vorm voorkom. Rijken et al. (1982) beskryf 'n dubbelketting sowel as enkelketting isomeer van tPA, met beide dieselfde aktiwiteitsvlak. Tydens die fibrinolitiese proses is die plasminogeenaktiveerder wat met die fibrien bind, in 'n dubbelketting vorm. Die moontlikheid bestaan dat 'n enkelketting tPA op die fibrienoppervlak omgeskakel word na 'n dubbelketting (Rijken et al., 1982).

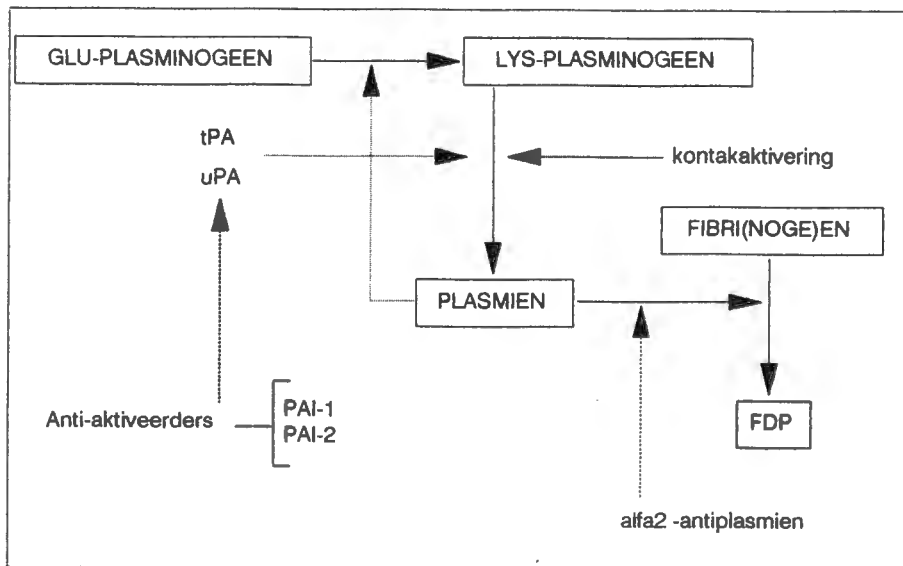
Plasmien besit die vermoëns om glu-plasminogeen na lys-plasminogeen te verander. Lys-plasminogeen is die verkose molekuul vir die omsetting na plasmien (Higazi & Mayer, 1990 ; Hoylaerts et al., 1982).

Die adsorpsie van tPA en plasminogeen op die fibrienveseloppervlak voorsien die nodige kontak vir optimale aktivering van plasminogeen (Gabriel et al., 1992). Laasgenoemde is funksioneel in dié sin dat effektiewe plasminogeenaktivering slegs in die teenwoordigheid van 'n fibrienstolsel (of fibrinogeen) plaasvind en die afwesigheid van fibrien of fibrinogeen effektiewe aktivering verhoed (Hoylaerts et al., 1982). Fibrienvorming ontbloot die latente tPA-bindingsetels in die D-streek van die fibrienmolekuul, om sodoende plasminogeenaktivering te fasiliteer (Voskuilen et al., 1987).

Geaktiveerde plasmien besit die vermoë om lisielbindings te hidroliseer (Hartwig & Danishefsky, 1991). Verskeie tipes plasmien kan gevorm word, afhangende van die teenwoordigheid van inhibeerders (Gabriel et al., 1992). Plasmien verwyder eerstens die hidrofiliese karboksieterminaal van die A α -kettings (Fretto et al., 1978 ; Kirschbaum & Budzynski, 1990), asook die eerste 42 aminosure van die B β -kettings. Die fibrinogeen verkeer nou in 'n tussenprodukstadium wat stolbaar is. 'n Neweproduk, fragment X, word tydens hierdie stap gevorm. Fragment X word afgebreek na fragmente D en Y en fragment Y word afgebreek om 'n tweede stel fragmente, D en E, vry te stel (Chung & Ichinose, 1989). Tydens die fibrino(geno)litiese proses word dus vier stalle fragmentgroepe vrygestel (Hartwig & Danishefsky, 1991).

Inhibering van die fibrinolitiese sisteem kan plaasvind by die vlak van plasmien, hoofsaaklik deur α -antiplasmien-2, of by die vlak van plasminogeenaktiveerders, hoofsaaklik plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1 (PAI-1). PAI-1 word gestabiliseer deur binding aan 'n plasminogeenaktiveerderinhibeerder-bindende proteïen, proteïen-S, of fitronektien. PAI-1 is die primêre

inhibeerder van tPA in plasma (opgesom deur Collen & Lijnen, 1990).



Figuur 2.8 Fisiologiese aktivering van die fibrino(geno)litiese ensieme. (uit : Collen & Lijnen, 1990 ; Collen & Lijnen, 1992 ; Higazi & Mayer, 1990 ; Juhan-Vague et al., 1991).

Volgens die Michaelis-Menten kinetika aktiveer urokinaseplasminogeenaktiveerder (uPA), net soos tPA, ook plasminogeen omdat uPA ook intrinsieke plasminogeenaktiveerder potensiaal besit (Weitz & Leslie, 1990). PAI-1 dien as primêre inhipeerder van uPA. Die teenwoordigheid van uPA-reseptore op selmembrane kan bydra tot 'n meganisme wat betrokke is by die afbraak van die ekstrasellulêre matriks (Collen & Lijnen, 1990 ; Collen & Lijnen, 1992).

Fibrienstruktuur dra by tot die regulering in die tempo van fibrinolise (Gabriel et al., 1992). Albumien, wat reeds aangedui is om fibrienstruktuur te verander, verlaag spontane trombolise (Gandrille & Aiach, 1990). Dit is moontlik aangesien die aantal tPA-bindingsetels op die fibrienvesels deur die fibrienstruktuur bepaal word. Soos die fibrienveselgrootte afneem, neem die fibrinolitiese aktiwiteit af. Dun fibrienvesels besit 'n lae tempo van omset van plasminogeen na plasmien deur tPA en word stadiger as dik vesels gehidroliseer. Vorming van dik vesels word geassosieer met adsorpsie van meer tPA en 'n vinniger fibrinolitiese tempo. Daar is reeds aangetoon dat plasmienproduksie, deur aktivering deur tPA van plasminogeen, proporsioneel is tot fibrienveseldikte, wat 'n groter oppervlak vir samevoeging van die fibrinolitiese kompleks kan bied (Gabriel et al., 1992).

Fibrinogenolitiese ensieme is ook teenwoordig in bloedplaatjies en leukosiete. Hierdie proteolitiese ensieme volg ander weë as dié van plasmien. Soos in die geval van plasmien is die A α -ketting gewoonlik die eerste setel van lise (Kirschbaum & Budzynski, 1990).

2.3.1.7 Genetiese abnormaliteite van plasmafibrinogeen

Genetiese abnormaliteite van fibrinogeen is skaars. Dit sluit in : afibrinogenemie, hipofibrinogenemie en disfibrinogenemie, wat verwys na algehele afwesigheid, verlaagde hoeveelhede fibrinogeen, of die aanwesigheid van disfunksionele fibrinogeen (Chung & Ichinose, 1989). In die literatuur is daar reeds verskeie soorte genetiese abnormaliteite van die fibrinogeenmolekuul gerapporteer.

Die mees algemene verskynsels van abnormaliteite wat met disfibrinogenemie geassosieer word, word gekenmerk deur verhoogde stolvermoë van die fibrinogeenmolekuul, verhoogde vatbaarheid vir trombiengeïnduseerde stolling (Egeberg,

1963), verlaagde plasminogeenaktivering deur fibrien (Lijnen, 1984), defektiewe veselvorming (Carrel, 1983), verlaagde binding van fibrien met tPA (Engesser et al., 1988 ; Leko et al., 1991), asook verlaagde trombiengeïnduseerde stolling (Gralnick et al., 1978).

2.3.1.8 Fibrinogeen se gedrag as ware chemiese polimeer

Polimere word gesien as 'n groep stowwe wat bestaan uit lang kovalent-gebonde molekule. As die chemiese klassifikasie van polimere op fibrinogeen toegepas word, kan fibrinogeen in twee verskillende klasse polimere verdeel word :

- 'n liniêre polimeer, en
- 'n netwerk-polimeer

Fibrienvesels is uitsluitlik netwerk-polimere. Die eienskap van 'n netwerk-polimeer word gesien aan die driedimensionele struktuur met aanknopingspunte wat kruisgebind is. Hierdie polimere word gekarakteriseer deur die aantal kruisbindings per eenheidsvolume, of kruisbindingsdigtheid, wat direk verwant is aan die aantal knooppunte per eenheidsvolume.

Variasies in "skelet"struktuur van 'n polimeer gee aanleiding tot verskille in fisiese eienskappe (soos oplosbaarheid en smeltpunt, asook denaturasie in 'n proteïen se geval). Met 'n lae kruisbindingsdigtheid is die produk gewoonlik meer buigbaar en plasties. 'n Hoë kruisbindingsdigtheid lewer 'n meer rigiede produk. Outoversnelling, 'n eienskap van polimere in oplossing, kan van groot belang wees by die tempo waarteen fibrienstolsels vorm (Young & Lovell, 1991). Hierdie effek staan ook as die Trommsdorff-Norrish effek of jel-effek bekend. Die effek behels die versnelling van polimerisering as gevolg van 'n verhoging in viskositeit van die reaksiedium, wat

plaasvind as gevolg van die vorming van die polimeermolekule (Young & Lovell, 1991). Fibrien is egter tot 'n mate beskerm teen outoversnelling, aangesien die aanvanklike produk oplosbaar is, wat die viskositeit van die reaksiedium verlaag. Eers daarna word die fibrienpolimere onoplosbaar.

2.3.2 Fibrinogeen as risikofaktor vir koronêre hartvatsiektes

2.3.2.1 Inleiding

Rotiknansky het reeds in 1852 voorgestel dat aterosklerose vanuit die komponente van bloed self ontstaan (opgesom deur Smith, 1986). Die verhoogde risiko vir koronêre hartvatsiekte (KHS) met verhoogde totale cholesterol- en LDL-C-vlakke word vandag algemeen aanvaar (opgesom deur Oliver, 1992). KHS is egter 'n multifaktoriale siekte en 'n verhoogde totale cholesterol- en LDL-C-vlak verklaar slegs 50 % van die voorkoms van KHS (opgesom deur Oliver, 1992). Dit is om hierdie rede dat daar voortdurend na ander moontlike risikomerkers of faktore gesoek word. Komponente van die hemostatiese sisteem kry vandag veral baie aandag (opgesom deur Ernst, 1992 ; opgesom deur Smith, 1986 ; opgesom deur Willich, 1992).

2.3.2.2 Epidemiologiese bewyse van fibrinogeen as risikomerker

Tydens die tydperk 1980-1989 is verskeie resultate van prospektiewe (longitudinale) epidemiologiese studies bekend gestel wat fibrinogeen as 'n moontlike risikofaktor vir KHS aangetoon het. Hierdie studies sluit die Gothenborgstudie (Wilhelmsen et al., 1984), die Framinghamstudie (Kannel et al., 1987), die "Northwick Park Heart"-studie (Meade et al., 1986), die Leighstudie (Stone & Thorpe, 1985), asook

Studie	Aantal en geslag van proefpersone	Gem. ouderdom	Opvolgtydperk	Resultate		Gevolgtrekking
				n	Tipe	
"Northwick Park Heart"-studie Meade, 1984 Meade et al., 1986	3500 1510 mans	40-64	6 jaar	24	KHS	Verhoogde vlakke fVIII, fVII en fibrinogeen geassosieër met voorkoms van KHS. Onafhanklike assosiasie tussen stollingsfaktore (en nie TC), met KHS. Gepaardgaande risiko van rook met KHS moontlik as gevolg van fibrinogeen.
			10 jaar	68 60	KHS MI (nie-fataal)	
Framinghamstudie Kannel et al., 1987	554 mans 761 vrouens	47-79	12 jaar	165	KHS	Risiko van KHS korreleer met verhoogde vlakke plasmafibrinogeen. Die voorkoms van kardiovaskulêre siektes korreleer met fibrinogeen. By mans bestaan daar verhoogde risiko vir beroerte met verhoogde fibrinogeen-vlakke.
Leighstudie Stone & Thorpe, 1985	297 mans	40-69	7.3 jaar	40	MI	Die voorkoms van KHS korreleer positief met die aanvanklike fibrinogeenkonsentrasies. Fibrinogeen dra dieselfde by as TC, rook en bloeddruk, tot die risikoprofiel vir westerse siektes.
PROCAM I Balleisen et al., 1985	1674 mans	40-65	2 jaar	55	KHS	Fibrinogeen, fVIII en fVII verhoog met ouderdom. Fibrinogeen en fVII korreleer met LMI. Fibrinogeen en rook korreleer. Fibrinogeen en fVII is betekenisvol hoër by vrouens wat die pil gebruik
Caerphilly/Speedwellstudie Yarnell et al., 1991	4860 mans	middeljarig	3.2 jaar 5.1 jaar	251	KHS	'n Gedeelte van rook se eiekskappe as risikofaktor vir KHS, verduidelikbaar deur die effek wat dit het op fibrinogeen, bloedviskositeit en WBS-tellings.
Gothenbergstudie Wilhelmsen et al., 1984	792 mans	54	13.5 jaar	37 92	beroerte MI	Fibrinogeen word as 'n onafhanklike risikofaktor vir infarsie sowel as beroerte bestempel.

MI = miokardiale infarsie

KHS = koronêre hartvatsiekte

LMI = liggaamsmassa-indeks : WBS = witbloedsel

n = aantal persone

die Caerphilly/Speedwellstudie (Yarnell et al., 1991), in (kyk tabel 2.1). In al hierdie studies was daar 'n sterk assosiasie tussen plasmafibrinogeen en die voorkoms van KHS aangetoon. Daar was ook sterk assosiasies tussen plasmafibrinogeen en ander kardiovaskulêre risikofaktore soos verhoogde bloeddruk, verhoogde cholesterol en glukoseonverdraagsaamheid. Gebaseer op die resultate, het die outeurs van hierdie studies aangetoon dat 'n hoë fibrinogeenkonsentrasie 'n onafhanklike risikofaktor vir beide KHS en beroerte (serebrovaskulêre insident) is. Fibrin speel 'n belangrike rol in die trombotiese proses sowel as in die ontstaan van aterosklerose (Møller & Kirstensen, 1991).

Uit die literatuur is dit duidelik dat verhoogde plasmafibrinogeenkonsentrasies geassosieer word met ander risikofaktore vir KHS, soos :

- hipercholesterolemie (Lee et al., 1990)
- hipertriglisieridemie (Simpson et al., 1983)
- tipe II hiperlipoproteïenemie (opgesom deur Ernst, 1992)
- diabetes mellitus (Kannel et al., 1990)
- ouderdom (Kannel et al., 1987)
- hipertensie (Kannel et al., 1987)
- obesiteit (Meade et al., 1987)
- rook van sigarette (Wilhelmsen et al., 1984)
- die gebruik van orale voorbehoedmiddels (Meade et al., 1987)
- stres (Markowe et al., 1985)
- perifere vaskulêre siekte (Kannel et al., 1987)
- fisiese onaktiwiteit (Møller & Kirstensen, 1991)
- lae sosiale klas (Markowe et al., 1985)

Data van die "Northwick Park Heart"-studie het aangetoon dat 'n fibrinogeenvlak met slegs 'n verskil van 0.6 g/L bo die gemiddeld (2.9 g/L), geassosieer word met 'n toename van 84 % in risiko vir die ontwikkeling van KHS binne die volgende 5 jaar (Meade et al., 1985). In persone met 'n

sistoliese bloeddruk hoër as 180mmHg, neem plasmafibrinogeenkonsentrasie van > 5 g/L, die voorkoms van beroerte twaalfvoudig toe, in vergeleke met persone met dieselfde bloeddruk, maar met 'n normale plasmafibrinogeenkonsentrasie (Wilhelmsen et al., 1984). Daar is ook aangetoon dat mans met fibrinogeenkonsentrasies in die laer derde van die populasie, met 'n hoë serumcholesterol of bloeddruk, nie 'n hoë risiko vir KHS het nie. Sodra 'n hoë fibrinogeenkonsentrasie in berekening gebring word, neem die risiko 6- tot 12-voudig toe (Stone & Thorpe, 1985).

Een van die mees kenmerkende assosiasies is dié tussen plasmafibrinogeen en rook. Daar bestaan 'n dosisafhanklike verwantskap tussen die aantal sigarette wat 'n persoon per dag rook en die ouderdom-aangepaste fibrinogeenvlak in beide mans en dames. Hierdie effek is omkeerbaar (Kannel et al., 1987). Matige alkoholname neig om fibrinogeenvlakke te verlaag in beide rokers en nie-rokers (Meade et al., 1987).

Kontroversie in die literatuur bestaan of verhoogde trigliseriedvlakke 'n onafhanklike risikofaktor vir KHS is al dan nie (opgesom deur Criqui, 1991 ; Manninen et al., 1991). Populasiestudies het aangetoon dat verhoogde serumtrigliseriedvlakke (TG) nie 'n onafhanklike risikofaktor vir KHS is nie, maar dat dit geassosieer word met 'n hiperkoaguleerbare toestand (opgesom deur Austin, 1991 ; Simpson et al., 1983).

Die belangrikste boodskap uit die epidemiologiese studies is dat hiperstolbaarheid met lipied-abnormaliteite en versnelde aterosklerose geassosieer word. Dit is ook duidelik dat 'n groot hoeveelheid inligting, wat krities is vir die verstaan van die ontstaan van kardiovaskulêre siektes, verlore gaan indien hemostatiese faktore nie bepaal word nie (Smith, 1986).

Die belangrikste resultate uit epidemiologiese studies lê klem op die belang van fibrinogeen se kragtige voorspelbare vermoëns ten opsigte van KHS. Hierdie resultate kan slegs verstaan word indien die weë waarvolgens fibrinogeen aterotrombose bevorder, geïdentifiseer word (opgesom deur Ernst & Resch, 1993).

2.3.2.3 Moontlike meganismes : fibrinogeen, aterosklerose en KHS

Voordat die moontlike meganismes waardeur fibrinogeen die aterosklerotiese en trombotiese prosesse beïnvloed, bespreek word, sal 'n paar terme wat in die bespreking gebruik word, eers gedefinieer word :

Koronêre hartvatsiekte (KHS) : Die vernouing van die arteries van die koronêre arteriële sirkulasie, wat die bloedvoorsiening aan die miokardium verminder (Davies, 1985).

Trombose : Die ontstaan van 'n trombus of bloedklont, wat die normale vloei van bloed deur 'n arterie of vene verhoed as gevolg van blokkering van die bloedvat (Kumar & Clark, 1987).

Aterosklerose : 'n Siekte van die intima van die arteries, veral die groot arteries, wat tot aterosklerotiese aanpaksels (plaak) op die binneste oppervlak van die arteries lei (Guyton, 1986).

Beroerte : 'n Gelokaliseerde neurologiese tekort as gevolg van 'n vaskulêre letsel (Kumar & Clark, 1987). Skielike verlies van serebrale funksie met koma en verlamming as gevolg van bloeding, trombose of embolisme van 'n serebrale bloedvat. Benaming word ook soms gebruik met betrekking tot bloeding in ander organe (Brink et al., 1988).

Miokardiale infarksie : Bloedvloei na die hartspeer self word verhoed. Dit lei tot verswakte hartspeerfunksie (Guyton, 1986).

Isgemie : 'n Wanbalans tussen die voorsiening van suurstof en essensiële nutriënte en die aanvraag daarna, lei tot isgemie. Dit kan veroorsaak word deur 'n obstruksie, verlaagde vloei van geoksigeneerde bloed en verhoogde aanvraag na suurstof (Kumar & Clark, 1987).

Kardiovaskulêre siektes is die hooforsaak van sterftes in die Verenigde State van Amerika, asook Wes-Europa. Aterosklerose, die hooforsaak van miokardiale en serebrale infarksie, dra tot die meerderheid van hierdie sterftes by (opgesom deur Ross, 1986). Na aanleiding van die trombogeniese teorie van aterogenese, is hiperstolbaarheid nie net 'n voorvereiste vir die ontwikkeling van trombotiese komplikasies nie, maar ook vir die ontstaan van aterosklerose (Hamsten et al., 1986). Aterosklerose lei verder tot miokardiale infarksie (opgesom deur Thompson & Smith, 1989). 'n Tweede hipotese vir die ontstaan van aterosklerose staan as die lipidemiese teorie bekend (Fuster et al., 1992).

In hierdie bespreking word slegs klem gelê op die trombogeniese teorie, asook teorieë wat beide die lipidemiese en trombogeniese teorie inkorporeer.

'n Voorgestelde meganisme waardeur fibrien selgroei en plaakvorming (aterosklerose) stimuleer is deur 'n raamwerk te voorsien waarlangs selle kan migreer en kan vaskleef (Smith, 1986). Die selle migreer teen 'n gradiënt wat deur oplosbare fibrinogeen geskep word (Naito et al., 1990). Verdere selmigrasie word gestimuleer deur die binding van fibrien aan fibronektien (Smith, 1986) en word die tempo van die proses op 'n dosis-afhanklike manier deur substraatgebonde fibrinogeen bepaal (Naito et al., 1990). In gevorderde letsels is fibrien verantwoordelik vir binding met LDL-C en dus die opeenhoping van lipiede (Smith, 1986). Die mees populêre teorie oor die ontstaan van aterogenese is gebaseer op die siening dat die endoteelselle 'n belangrike grens is vir die uitbeweeg van

makromolekule vanuit plasma. Endoteelbeskadiging laat terugvloei van makromolekule, veral LDL-C, toe. Dit gee aanleiding tot beskadiging en groei van endoteelselle (opgesom deur Thompson & Smith, 1989). Fibrinogeen het 'n baie hoë affiniteit vir LDL-C. LDL-C beweeg na die endoteelfibrienlaag en na die fibrienjel op die arteriële wand. Copley (1979) stel twee weë voor waarvolgens LDL-C deur die endoteellaag opgeneem word. Sy hipotese inkorporeer die teorie van transendoteliale transport en diffusie van cholesteroldraende proteïene deur polimeriseerbare molekule (o.a. fibrinogeen), wat met die vatwand saamsmelt, asook verswakking van die vatwand as gevolg van spanning en vervorming. Die eerste weg sluit die adsorpsie van LDL-C aan die endoteliale fibrienlaag in, die tweede weg die adsorpsie van LDL-C aan die aanvanklike trombus van 'n sagte fibrienjel. Die LDL-C-opname versnel verdere opname van LDL-C deur die vatwand (Ernst, 1992).

Fibrinopeptied B, wat in die intima teenwoordig is, trek makrofage aan in respons tot die verhoogde lipiedvlakke. Hierdie makrofage het die vermoë om skuimselle binne aterosklerotiese letsels te vorm (Singh et al., 1990). Die binding van fibrinogeen aan hierdie makrofage stimuleer stollings- sowel as fibrinolitiese aktiwiteit (De Minno et al., 1990).

Abnormale fibrienjel-kompaktheid en/of "bou" word geassosieer met plaakvorming en miokardiale infarksie. Akute-fasereaksies en LDL-C beïnvloed die eienskappe van die fibrienjel (Blombäck et al., 1992). Bogenoemde dui daarop dat faktore wat die "bou" en kompaktheid van die fibrienjel verander, moontlik ook plaakvorming beïnvloed.

Verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit is 'n voorvereiste vir plaakvorming. Daar is 'n definitiewe verbintenis tussen aterogeniese risikofaktore en geïnhibeerde fibrinolise. Die opeenhoping van lipiede (in besonder LDL-C), wat reeds in die voorafgaande paragraaf bespreek is, inhibeer

fibrinolise (Kadish, 1979). Fibrinogeen se degraderingsproduk, fragment D, verhoog sekresie van endoteelplasminogeenaktiveerders en versnel die produksie van plasmien. Dit dra by tot die afbraak van die fibrien-ekstrasellulêre matriks en verlaag binding van fibrinogeen aan endoteelselle. Fragment D word dus gesien as 'n kritiese tussenganger in die proses om die balans tussen afbraak en groei van aterosklerose te handhaaf (Ge et al., 1990).

Trombusvorming word geïnisieer deur adsorpsie van fibrinogeen deur die endoteel. Hierdie laag fibrinogeen vergroot deur opeenhoping, om uiteindelik 'n jelstruktuur te vorm wat die bloedvate as gevolg van vernouing verstop (Ernst, 1992). Opeenhoping van fibrinogeen vind plaas omdat fibrinogeenmolekule direkte interaksie met mekaar het. Dit dra nie net by tot trombusvorming nie, maar ook tot die proses van plaakvorming tydens vroeë aterosklerose (Cook et al., 1990).

Hiperfibrinogenemie induseer 'n hiperkoaguleerbare toestand wat die trombotiese effek van aterotrombose bevorder (Ernst, 1992). Wanneer fibrinogeen na fibrien omgesit word deur die werking van trombien, het die fibrienmonomere die vermoë om te polimeriseer en 'n basale matriks te vorm vir 'n trombus (Cook et al., 1990). Die verhoogde bloedviskositeit, wat gepaard gaan met verhoogde konsentrasies plasmafibrinogeen, verlaag orgaanbloedvloei wat verhoogde plaatjebinding aan die subendoteel tot gevolg het. Dit bevorder trombusvorming. Naas eritrosietkonsentrasie is plasmafibrinogeen as gevolg van sy grootte en struktuur die belangrikste bepaler van heelbloedviskositeit (Cook et al., 1990).

Trombien is 'n kragtige onafhanklike groeifaktor. Dit is teenwoordig in die trombus, waar dit selgroei en groei van die trombus stimuleer (Smith, 1986). Trombien stimuleer intakte endoteel om endoteliën-1 te produseer. Laasgenoemde produk induseer vasokonstriksie van die gladde spier. Indien die endoteelselle beskadiging ondergaan, soos tydens plaakvorming, kan vasodilaterende stowwe nie meer vrygestel word nie. Die bloedvate bly dus in 'n vernoude toestand (Fuster et al., 1992).

Die hoeveelheid fibrien teenwoordig in aterosklerotiese plaak korreleer lineêr met die plasmafibrinogeen-konsentrasie. Die leukosiet telling korreleer ook met die intravaskulêre neerlegging van fibrien (Cook et al., 1990). Daar is uitgebreide epidemiologiese bewyse (Caerphilly/Speedwellstudie) wat die patofisiologiese rol van leukosiete in KHS ondersteun (Yarnell et al., 1991). Die konsentrasie plasmafibrien (fibrinogeen)-afbraakprodukte korreleer goed met die leukosietaggregeerbaarheid in bloed (Cook et al., 1990).

Soos hierbo genoem, is die meganismes waardeur fibrinogeen aterosklerose bevorder, nog onseker (Ernst, 1992). Uit bogenoemde is dit baie duidelik dat hemostatiese faktore 'n rol speel in ontwikkeling van beide aterosklerose asook trombusvorming. Daar is egter outeurs wat die rol van fibrinogeen in die ontstaan van kardiovaskulêre siektes bevraagteken (Kovacs, 1992). By persone met verhoogde risikofaktore vir KHS, is die verloop van aterosklerose wel aangetoon om vinniger plaas te vind. Dit kan as onomstootlike feit aanvaar word (Fuster et al., 1992).

In geheel beskou kan daar tot die slotsom gekom word dat verdere bestudering van die fibrinogeenmolekuul van uiterste belang is.

2.3.2.4 Hemostase en diabetes mellitus

2.3.2.4.1 Diabetes mellitus : Inleiding

Die ou Griekse en Romeinse geneeshere het die term diabetes gebruik om die oorproduksie van urien aan te dui (opgesom deur Meyer et al., 1988). Toe daar later uitgevind is dat die urien in sommige gevalle 'n soet smaak het en in ander gevalle nie, is die term mellitus, wat soet beteken en insipidus, wat flou beteken, bygevoeg om tussen twee hooftypes diabetes te onderskei (opgesom deur Meyer et al., 1988). Diabetes mellitus (DM) word self in twee klasse geklassifiseer, naamlik Tipe I (IDDM), of insulienafhanklike diabetes mellitus en Tipe II (NIDDM), of nie-insulienafhanklike diabetes mellitus. Tipe I diabetes mellitus word gekarakteriseer deur 'n absolute gebrek aan insulien as gevolg van 'n afname in die aantal funksionele insulienproduserende betaselle. Teikenselle bevat steeds genoeg en normale insulienreseptore. Tipe I diabetes mellitus word dan ook insulienafhanklike diabetes mellitus genoem, omdat eksogene insulien periodies toegedien moet word (Tortora & Anagnostakos, 1987). Tipe II diabetes mellitus word gekenmerk deur normale insulienkonsentrasies in die sirkulasie, met verswakte biologiese respons op hierdie insulienvlakke. Hierdie effek word beskryf deur die term "verhoogde insulienweerstand" (Omar & Jialal, 1983).

Tipe II diabetes mellitus kom meer algemeen voor as Tipe I en verteenwoordig meer as 90 % van alle gevalle met diabetes mellitus. Tipe II kom ook meer algemeen voor by persone wat 40 jaar en ouer en oorgewig, is. Die kliniese simptome is matig en die hoë glukosevlakke in die bloed kan gewoonlik beheer word deur 'n dieet alleen of met 'n dieet gekombineer met hipoglukemiese middels soos die sulfonielureums of biguaniede (Tortora & Anagnostakos, 1987).

Die voorkoms van diabetes mellitus is die hoogste by die Pima-Indiane in die V.S.A. en die tweede hoogste by die Indiërs in en om Durban (Meyer et al., 1988). Dit wil voorkom asof Tipe II diabetes mellitus 'n lae voorkoms by populasies toon wat 'n tradisionele, omsigtige lewenstyl volg. Die voorkoms van Tipe II diabetes mellitus neem toe met 'n toenemende verwesterse lewenstyl, met veranderings in demografie, asook sosiale en ekonomiese toestande. Die siekte raak selfs endemies in sekere lande (Zimmet, 1982).

2.3.2.4.2 Diabetes mellitus en abnormale hemostase

Drie dekades van epidemiologiese navorsing deur die Framingham-groep het aangetoon dat diabetes 'n kragtige voorloper vir kardiovaskulêre siektes, meer spesifiek vir KHS, is (Kannel et al., 1987). Alhoewel KHS 'n hoë voorkoms by diabetese het, oefen 'n abnormale glukosetoleransie self 'n effek onafhanklik van ander risikofaktore uit (Kannel et al., 1987). Hierdie unieke effek (van glukose-intoleransie) mag verwant wees aan verhoogde trombogeniese faktore, soos verhoogde plasmafibrinogeen (Kannel et al., 1990). Fibrinogeen is teenwoordig in vaskulêre letsels en aterosklerotiese plaak van diabetiese persone (Jones & Peterson, 1981). Verhoogde konsentrasies en/of aktiwiteit van bloedstollingsfaktore (Shihabi et al., 1990), verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit (Gunnarson et al., 1980) en hiperaktiwiteit van bloedplaatjies (opgesom deur Silvis et al., 1990), is verder eienskappe wat met diabetes gepaard gaan.

Die ontstaan en ontwikkeling van diabetiese vaskulêre komplikasies kan dus moontlik toegeskryf word aan die stollingsabnormaliteite van diabetes mellitus. Geassosieerde diabetes en hiperlipidemie (verhoogde vlakke LDL-C en VLDL-C) korreleer omkeerbaar met endogene heparienkonsentrasies, asook met voorkoming van aktivering van antitrombien (Jones & Peterson, 1981).

Die verhoogde bloedviskositeit tydens DM, wat die vloei van bloed deur klein arteries bemoeilik, lei tot verdere patologiese gevolge, soos retinopatie (Jay et al., 1991). Die viskositeit van plasma in diabetes mellitus pasiënte is gemiddeld agt persent (%) hoër as dié van gesonde persone (McMillan, 1974). Verhoogde bloedviskositeit is 'n indirekte gevolg van verhoogde plasmafibrinogeenvlakke (Paisey et al., 1980).

Hiperaggregeerbaarheid van bloedplaatjies is eers as een van die belangrikste abnormaliteite beskou (Hughes et al., 1983). Hughes et al. (1983) het aangetoon dat plaatjie-abnormaliteite of stollingsabnormaliteite by 54 % van 'n groep nuutgediagnoseerde Tipe II diabetes mellitus pasiënte aanwesig was. Van die pasiënte het 38 % plaatjie-abnormaliteite vertoon, terwyl 'n verdere 46 % stollingsabnormaliteite vertoon het.

Stollingsabnormaliteite was in die vorm van verhoogde vlakke faktor VIIIC asook AT III. Faktor VIIIC is belangrik vir hegting van bloedplaatjies aan vaskulêre endoteel. Verhoogde vlakke gee dus aanleiding tot verhoogde plaatjieklewerigheid, asook plaatjie-aggregering (Almer et al., 1983). Insulienweerstand gaan gepaard met verhoogde vlakke van plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1. 'n Verlaging in insulienweerstand, verkry deur dieet of medikasie, gaan gepaard met 'n verlaging in die konsentrasie PAI-1. Die verhoogde vlakke PAI-1, gepaardgaande met verhoogde insulienweerstand, kan dus 'n gedeeltelike verduideliking bied vir die assosiasie tussen insulienweerstand en KHS (opgesom deur Juhan-Vague et al., 1991). Verhoogde vlakke PAI-1 lei tot hipofibrinolise en dus verswakte verwydering van fibrienneerslae, wat bevorderend is ten opsigte van aterotrombose (Juhan-Vague & Alessi, 1993).

Hiperreaktiwe plaatjies produseer verhoogde hoeveelhede malondialdehyd na stimulasie deur trombien en aragidonsuur, wat verhoogde aktiwiteit van die intraplaatjie endoperoksied-tromboksaan-vormende weg aandui. Laasgenoemde bevorder die reaktiwiteit van plaatjies (Gensini et al., 1979).

Die verandering in plasmafaktore wat tot verhoogde plaatjieklewerigheid in diabetes mellitus pasiënte lei, is 'n belangrike faktor by pasiënte met swak glukemiese beheer. Dit word ook waargeneem dat albumienvlakke, in teenstelling met plasmafibrinogeen, by diabetiese pasiënte daal (Khodabandehlou & Dehevat, 1990). Verhoogde klewerigheid, ook van rooibloedselle, skep bewyse vir 'n antagonistiese effek wat tussen fibrinogeen en albumien by die rooibloedsel-aggregeringsproses bestaan (Khodabandehlou & Dehevat, 1990). Albumien en fibrinogeen kompeteer tydens eritrosietklumping. Verhoogde vlakke plasmafibrinogeen lei tot verdere verhoging in plasmaviskositeit (Khodabandehlou & Dehevat, 1990). Verhoogde plasmafibrinogeenproduksie wat met verlaagde albumienproduksie geassosieer word, is reeds in 1979 deur Rupp & Fuller (1979) bewys in 'n studie wat op geïsoleerde hepatosiete uitgevoer is.

Resultate uit die Framinghamstudie toon aan dat verhoogde gemiddelde fibrinogeenvlakke parallel met verhoogde bloedglukosevlakke styg (Kannel et al., 1990).

Nair et al. (1991) rapporteer dat diabetes mellitus aanleiding gee tot fibrienklonte met dunner en langer vesels, wat 'n stolsel lewer wat meer kompak en rigied is. Dit gee aanleiding tot 'n stolsel wat minder deurlaatbaar en poreus is en dus moeiliker deur plasminogeen afgebreek kan word (Almer et al., 1983).

Verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit tydens diabetes mellitus is 'n gevolg van abnormale lae produksie en

vrystelling van plasminogeenaktiveerder deur die vaskulêre endoteel (Almer et al., 1983). Die sterk assosiasie tussen vaskulêre patologie en diabetes dui daarop dat aktivering van die stollingsstelsel en die fibrinolitiese proses 'n definitiewe rol speel in die ontwikkeling van diabetiese komplikasies (Kirsch, 1989). Die mees opvallende abnormaliteit van stolling is die verkorte lewensduur van fibrinogeen (ongeveer 4 dae by diabetese, in teenstelling met 6 dae by gesonde persone ; Jones & Peterson, 1979).

Diabetes mellitus korreleer ook sterk met ander aterogeniese faktore soos obesiteit, hipertensie, hipertriglisëremie en lae vlakke van HDL-C . Buiten glukosebeheer, sal dit dus nodig wees om die hele kardiovaskulêre risikoprofiel te normaliseer om aterosklerose by diabetese te voorkom (Kannel et al., 1990).

'n Opsomming van epidemiologiese gegewens wat beskikbaar is oor sekere stollingsfaktore tydens diabetes mellitus word in tabel 2.2 weergegee.

Uit bogenoemde bespreking is dit duidelik dat diabetes mellitus geassosieer word met verskeie abnormaliteite van die hemostatiese stelsel. Die onderliggende meganisme(s) wat tot hierdie abnormale hemostase van diabetes mellitus aanleiding gee, is nog onduidelik (kyk 2.4.3). Daar is ook besonder min gegewens beskikbaar oor hoe verbeterde diabetiese beheer hemostase beïnvloed. In hierdie projek is die invloed van 'n diabetiese dieet op die tipe fibrienstelsel van diabetes mellitus pasiënte ondersoek. Een van die voorgestelde meganismes is dat glikosilering van proteïene 'n rol kan speel. Daarom sal hierdie aspek nou in meer besonderhede bespreek word.

Tabel 2.2 Gegewens oor sekere stollingsabnormaliteite tydens diabetes mellitus

Hughes <u>et al.</u> , 1983	↓Plaatjieaggregering
Hughes <u>et al.</u> , 1983 Sowers <u>et al.</u> , 1980	↓AT III
Hughes <u>et al.</u> , 1983	↑Plasminogeen
Masperi <u>et al.</u> , 1980	↑AT III
Fuller <u>et al.</u> , 1979 Bern <u>et al.</u> , 1980	↓tPA aktiwiteit ↑tPA aktiwiteit
Fuller <u>et al.</u> , 1979 De Silva <u>et al.</u> , 1979 Cederholm-Williams, 1981 Kannel <u>et al.</u> , 1990	↑Fibrinogeen
Gensini <u>et al.</u> , 1979 Davis <u>et al.</u> , 1982 Coppola <u>et al.</u> , 1984	↑Faktor XI
Christe <u>et al.</u> , 1979	↓Trombientyd
Fuller <u>et al.</u> , 1979 Bern <u>et al.</u> , 1983 Hughes <u>et al.</u> , 1983	↑Faktor X ↑Faktor VIII
Brownlee <u>et al.</u> , 1983 Gunnarson, 1980	↑Weerstand teen fibrinolise ↑Stolbaarheid
Jones and Peterson, 1979 Cederholm-Williams, 1981	↓Fibrinogeenleef tyd
Gabriel <u>et al.</u> , 1992 Blombäck <u>et al.</u> , 1992	↓Lengte/massa-verhouding van fibrienvesels
Gabriel <u>et al.</u> , 1992	↓Fibrinolise

↑ = verhoog ; ↓ = verlaag

2.4 GLIKOSILERING VAN PROTEÏENE

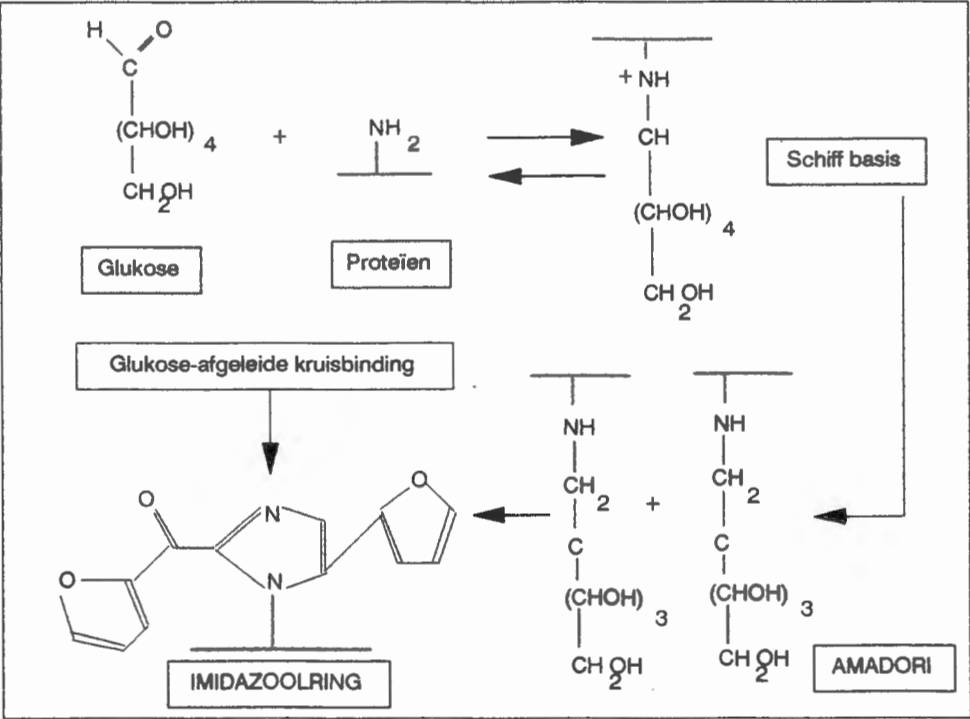
2.4.1 Molekulêre meganisme van glikosilering van proteïene

Die proses waartydens 'n reduserende suiker (soos D-glukose) met 'n proteïen bind en 'n permanente verandering aan die molekulêre struktuur van die proteïen te weeg bring, staan bekend as glikosilering (Furth & Harding, 1989 ; Hatton et al., 1993). Glikosilering is dus 'n proses waardeur 'n stabiele proteïen verander word na 'n stabiele gemodifiseerde proteïen (Neglia et al., 1985). Geglikosileerde proteïene verskil fisiologies drasties van glikoproteïene. Laasgenoemde is "normale" proteïene waarin die koolhidraatgedeelte dikwels 'n belangrike funksie in die molekule verrig, terwyl geglikosileerde proteïene 'n abnormale patologiese funksie het as gevolg van die toevoeging van koolhidrate. Beide tipes proteïene is gebind aan 'n suikermolekule deur kovalente bindings, maar die verskil lê daarin dat glikoproteïene se binding aan suikermolekules onder gekontroleerde beheer van ensieme plaasvind (Furth & Harding, 1989).

Nadat ontdek is dat hemoglobien in vivo postsintese, nie-ensiematiese glikosilering ondergaan, het die vraag ontstaan of ander proteïene ook deur dieselfde proses geaffekteer word. Vervolgens is gevind dat lensproteïene, kollageen, eritrosiet-membraanproteïene, albumien en ander serumproteïene op dieselfde wyse geaffekteer word (Kennedy et al., 1980). Dit is hierdie nie-ensiematiese onomkeerbare verandering wat te weeg gebring word deur verlengde blootstelling aan hoë konsentrasies bloedglukose, wat waarskynlik hoofsaaklik verantwoordelik is vir diabetiese komplikasies (opgesom deur Brownlee, 1990).

Akkumulering van glukose vind normaalweg slegs plaas in insulienafhanklike weefsel (Wieland, 1983). Daar bestaan slegs twee tipes chemiese groepe wat vatbaar is vir glikosilering : die vry amino-groep (NH_2) op die

aminoterminaal van die aminosuur lisien, asook die vry aminoterminaal aan die punt van die proteïenmolekuul (Furth & Harding, 1989). Brownlee (1990) rapporteer 'n derde setel vir moontlike binding van glukose, naamlik die amiene van nukleïensuurbasisse. Die reaksie vind plaas deur nukleofiliese addisie (Brownlee, 1990). Daar bestaan egter bewyse dat die primêre setel van binding met glukose die α -amino-terminus van die peptiedketting is (Neglai *et al.*, 1985).



Figuur 2.9 Die Maillardweg (uit : Wieland, 1983).

In 1912 het die Fransman Louis Maillard drie stappe uiteengesit (kyk figuur 2.9) waarvolgens 'n suiker aan 'n proteïen bind (opgesom deur Furth & Harding, 1989).

Stap een produseer 'n produk wat as 'n Schiff-basis (of aldimienbinding (Wieland, 1983)) bekend staan. Hierdie proses is omkeerbaar indien die konsentrasie van die suiker verlaag word (Furth & Harding, 1989). Die tempo van

vorming (k_1) van die produk tydens hierdie stap, is ongeveer dieselfde as die tempo van dissosiasie (k_2) van die produk (opgesom deur Brownlee, 1990). Die reaksie tussen die glukose en proteïen is effens meer kompleks as blote toevoeging van glukose tot 'n proteïen. Glukose, soos alle ander alfa-hidroksie-aldehide, besit die vermoë om te enoliseer en daardeur reduseer dit molekulêre suurstof onder fisiologiese omstandighede. Hierdie proses staan ook as glukose-ouo-oksidasie bekend. Laasgenoemde stap word deur oorgangsmetale (normaalweg koper gebind aan histidienresidue) gekataliseer. So ontwikkel alfa-ketoaldehide en oksiderende intermediêre produkte. Bewyse bestaan dat vryradikale en waterstofperoksied, wat as neweproduk van glikosilering ontstaan, verantwoordelik is vir die meeste strukturele skade wat aan proteïene verrig word tydens glikosilering (Wolff et al., 1991). Hidroksielradikale, 'n verdere neweproduk van glikosilering, is moontlik verantwoordelik vir konformasieveranderings en fragmentering van sekere proteïene tydens glikosilering (Wolff et al., 1991). Die ontdekking dat glikosilering superoksiede genereer, het navorsers laat beseef dat geglikosileerde proteïene beide as oksideermiddels en as reduseermiddels kan optree (Sakurai & Tsuchiya, 1988).

Die tweede stap van binding tussen glukose en 'n proteïen, behels die vorming van 'n Amadoriproduk (kyk figuur 2.9) vanuit die Schiff-basis (Furth & Harding, 1989 ; Wolff et al., 1991). Die produk is meer stabiel, maar steeds omkeerbaar en kan in beide oop-ketting of ringvorm voorkom. Ewewig van hierdie reaksie, waarna die produk 'n konstante konsentrasie bereik, word eers na 28 dae bereik, in teenstelling met 'n paar uur vir die eerste stap (Brownlee, 1990). Die Amadoriproduk is ongewens, aangesien dit 'n reaktiewe karbonielgroep besit wat aan die proteïen die vermoë gee om aan ander proteïene deur onomkeerbare

kruisbindings te bind (Wolff et al., 1991). So kan groot komplekse strukture van kruisgebinde proteïene ontstaan.

Stap drie behels die vorming van Maillardprodukte, wat ook as AGEs (advanced glycation end products) bekend staan (Furth & Harding, 1989). Maillardprodukte vorm as gevolg van 'n uitgebreide reeks dehidrasiereaksies en herrangskikkings (Brownlee, 1990) en word op dieselfde wyse as die reaksies in stap 1 deur 'n oorgangsmetaal gekataliseer. Hierdie stap staan ook bekend as Amadoriproduk-ouo-oksidering (Wolff et al., 1991). Klein organiese amiene neem gewoonlik sikliese piranose en furanose konformasies aan na herrangskikking (Neglia et al., 1985). Chemiese klassifikasie van die Maillardprodukte is moeilik. Die Amadoriprodukte kan 'n groot aantal potensiële herrangskikkings ondergaan. Verskeie tipes Maillardprodukte is onstabiel ten opsigte van hidrolise. Hierdie produkte hoop in die liggaam op met toenemende ouderdom, aangesien ensieme wat verantwoordelik is vir die afbraak van proteïene in die liggaam, hierdie produkte slegs met groot moeite kan verwyder. Opeenhoping vind selfs plaas nadat hiperglukemie herstel is. Laasgenoemde is waarskynlik die belangrikste bydraende faktor in die ontwikkeling van komplikasies tydens diabetes mellitus (opgesom deur Brownlee, 1990).

Die hele proses van glikosilering waarin die drie stappe ingesluit word, staan as die Maillardweg bekend (Wolff et al., 1991).

Die tydsduur vir stap een van die Maillardweg word in ure gemeet, terwyl die oorblywende stappe in weke plaasvind. Aangesien die reaksies tydens die eerste stap ongekataliseerd kan plaasvind, word die tempo van die reaksies deur twee faktore bepaal, naamlik die konsentrasie van die reaktante en die tydsduur van blootstelling van die reaktante aan mekaar (Furth & Harding, 1989).

Dit is bekend dat nie-ensiematiese glikosilering kan plaasvind in die teenwoordigheid van ander suikers buiten glukose. Fruktose het die vermoë om met proteïene te bind teen dieselfde tempo as wat glukose aan proteïene bind, maar die tempo van vorming van Maillardprodukte is tien maal vinniger as in die geval van glukose (Brownlee et al., 1983).

'n Aantal redes waarom glikosilering van proteïene as 'n nadelige proses beskou behoort te word, is :

- Volgens Brownlee (1990) vertoon verskeie proteïene 'n abnormale funksie indien dit na Amadori-produkte omgeskakel word. Albumien byvoorbeeld, verloor sy vermoë om met langketting vetsure te bind. Lipoproteïene wat geglikosileer word, kan nie meer deur membraanreseptore uitgeken word nie. Beide hierdie veranderinge veroorsaak abnormale metabolisme van vet, wat die proses van aterosklerose bevorder. 'n Derde effek van glikosilering het die gevolg dat die liggaam se skaarsste teenliggaam, naamlik immunoglobulien-G, se vermoë om bakteriële toksiene te neutraliseer, verswak.

- Volgens Furth & Harding (1989) is sommige proteïene se leeftyd in die sirkulasie baie lank. Die omset van hierdie proteïene is baie stadig en die geglikosileerde vorm daarvan sal nie verwyder word nie, of baie stadig verwyder word. In hierdie geval sal die Amadoriprodukte na Maillardprodukte omgesit word.

- Volgens Brownlee (1990) kom spesifieke seloppervlakreseptore in die liggaam voor wat met Maillardprodukte bind. Hierdie binding stimuleer die produksie van lokale sitokinien. Vrystelling van hierdie faktore verander die struktuur en funksie van DNA en dus die genetiese elemente.

• Resente navorsing dui aan dat geglikosileerde molekules onder fisiologiese toestande superoksiede produseer. Superoksiede is hoogsreaktiewe verbindings (Sakurai & Tsuchiya, 1988). Die verandering wat ondervind word indien 'n suiker met 'n proteïen bind, veroorsaak dus meer as bloot die binding van 'n suiker aan 'n amino-groep van 'n proteïen. Dit blyk dat oksidasie en glikosilering onafskeidbaar gekoppel is. LDL-C word byvoorbeeld geperoksiede indien dit aan glukose blootgestel word (opgesom deur Brownlee, 1990).

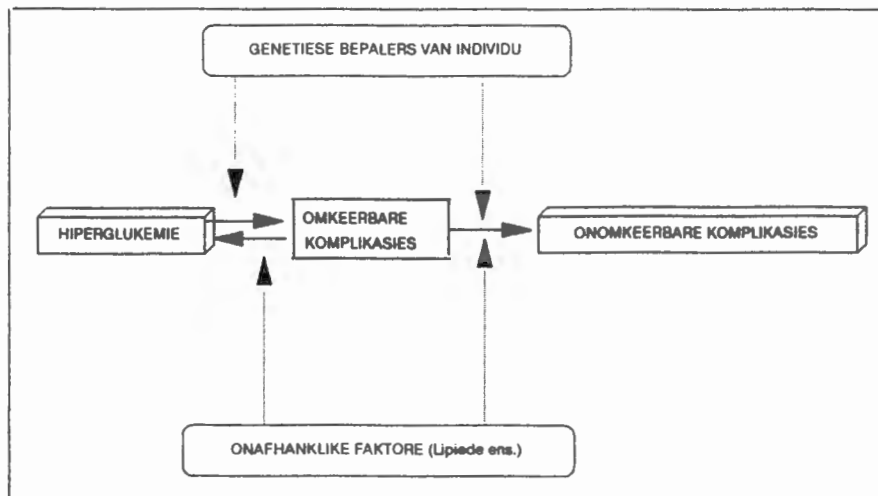
2.4.2 Glikosilering en diabetes mellitus

Dit is reeds vir baie jare bekend dat die voorkoms van diabetiese vaskulêre komplikasies sterk korreleer met die tydperk van blootstelling aan hiperglukemie (Brownlee, 1990). Verlengde blootstelling aan hiperglukemie is aanvanklik die belangrikste faktor in die ontwikkeling van komplikasies. Die ontwikkeling van komplikasies bereik egter 'n punt waar die proses onomkeerbaar is en onafhanklik van verdere blootstelling aan hiperglukemie is (kyk figuur 2.10). Dit is 'n aanduiding van permanente verandering aan langlewende molekules in diabetiese weefsel wat chronies blootgestel is aan hiperglukemie (Brownlee, 1990).

Verhoogde vlakke geglikosileerde hemoglobien in diabetiese pasiënte is 'n belangrike voorbeeld vir die verstaan van die biochemiese basis van die gevolge van diabetes. Glikosileerde hemoglobien dien as merker van die glukose-omgewing oor 'n tydperk van 3-5 weke (Cerami et al., 1979). Die konsentrasie geglikosileerde proteïen korreleer met die vastende en gemiddelde asook hoogste daaglikse konsentrasie glukose en is handig as indeks vir diabetiese beheer (McFarland et al., 1979).

Wolff et al., (1991) rapporteer dat dit die oksidasieprosesse is wat met glikosilering gepaard gaan en

nie die glikosilering self nie, wat 'n bydrae lewer tot die patogenese van diabetiese komplikasies.



Figuur 2.10 Skematiese voorstelling van die verwantskap tussen hiperglukemie en sekondêre risikofaktore tydens die ontstaan van omkeerbare en onomkeerbare komplikasies van DM (uit : Brownlee, 1990).

Oksidatiewe spanning het die potensiaal om intense oksidatiewe skade aan biologiese materiaal te rig. Oorgangsmetaal-gekatalseerde oksidasie van lae-molekulêre gewig reduktante (soos glukose, askorbaat en poli-onversadigde vetsure) kan bydra tot oksidatiewe spanning deur produksie van 'n konstante vloed van waterstofperoksied en/of lipiedperoksiede (McFarland et al., 1979).

2.4.3 Glikosilering en hemostase

2.4.3.1 Inleiding

Soos reeds in 2.3.2.4.2 genoem word diabetes mellitus geassosieer met 'n verskeidenheid van hematologiese abnormaleiteite wat gepaard gaan met verhoogde trombusvorming in vivo. Hierdie veranderinge sluit die toename in stollingskaskade-aktiwiteit, hiperreaktiewe plaatjies en 'n afname in fibrinolise in (Takahashi et al., 1989). Geglikosileerde proteïene mag tot die abnormale

hemostase van diabetes mellitus bydra. Oormatige Maillardprodukkonsentrasie induseer trombosebevorderende verandering in die endoteel-seloppervlak deur stimulerings van vrystelling van monokiene deur makrofage. Hierdie vrystelnde produkte stimuleer vrystelling van 'n weefselfaktor-agtige prokoagulant (opgesom deur Brownlee, 1990). Laasgenoemde onderdruk die aktiwiteit van die antikoagulant proteïen-C-weg. Dit bevorder ook die sintese van 'n inhibeerder van plasminogeenaktiveerder. Hierdie verandering resulteer in die produksie van trombiene en geaktiveerde faktor Xa, wat op hul beurt die vrystelling van plaatjie-afgeleide groeifaktor stimuleer (opgesom deur Brownlee, 1990).

Direkte binding van Maillardproduk-proteïene aan endoteelselle reduseer trombomodulienaktiwiteit, wat lokale plaatjieklopping stimuleer (opgesom deur Brownlee, 1990).

Die hiperstolbaarheid wat met diabetes gepaard gaan, word hoofsaaklik veroorsaak deur die interaksie van plaatjies met plasmaproteïene (opgesom deur Brownlee, 1990). Daar is reeds aangedui dat trombienegeïnduseerde binding van plaatjies 'n gevolg is van plaatjiebinding aan geglikosileerde LDL-C en dat die effek proporsioneel is tot die mate van geglikosileerde LDL-C (opgesom deur Brownlee, 1990).

Antitrombiene III (AT III) is een van die belangrikste regulatoriese proteïene van die stollingsstelsel. Foutiewe AT III funksionering speel 'n belangrike rol in die ontwikkeling van vaskulêre komplikasies tydens diabetes mellitus. 'n Korrelasie tussen AT III en HbA1c is by diabetiese pasiënte deur Ceriello (1983) en Wersch et al. (1991) gevind. Die nie-ensiematiese glikosilering van AT III is reeds deur Takahashi et al. (1989), asook deur Wersch et al. (1991) beskryf. Hierdie glikosilering van AT III beïnvloed die aktiwiteit van die proteïen, selfs al is

die konsentrasie van die proteïen normaal. Dit dui daarop dat glikosilering 'n konformasieverandering in die molekule te weeg bring wat die funksionaliteit daarvan onderdruk (Ceriello, 1983).

2.4.3.2 Glikosilering van fibrinogeen

Fibrinogeen en fibrien het 'n hoogs-heterogene struktuur. Fibrinopeptiede A en B wat aan fibrinogeen geheg is, is die enigste faktore wat hierdie heterogeniteit tussen die twee molekule ophef. Hierdie fibrinopeptiede besit geen lisien in hul primêre struktuur nie en kan dus nie met glukose bind nie (Lütjens et al., 1985). Fibrinogeen en fibrien word dus tot dieselfde mate geglikosileer (Lütjens et al., 1985).

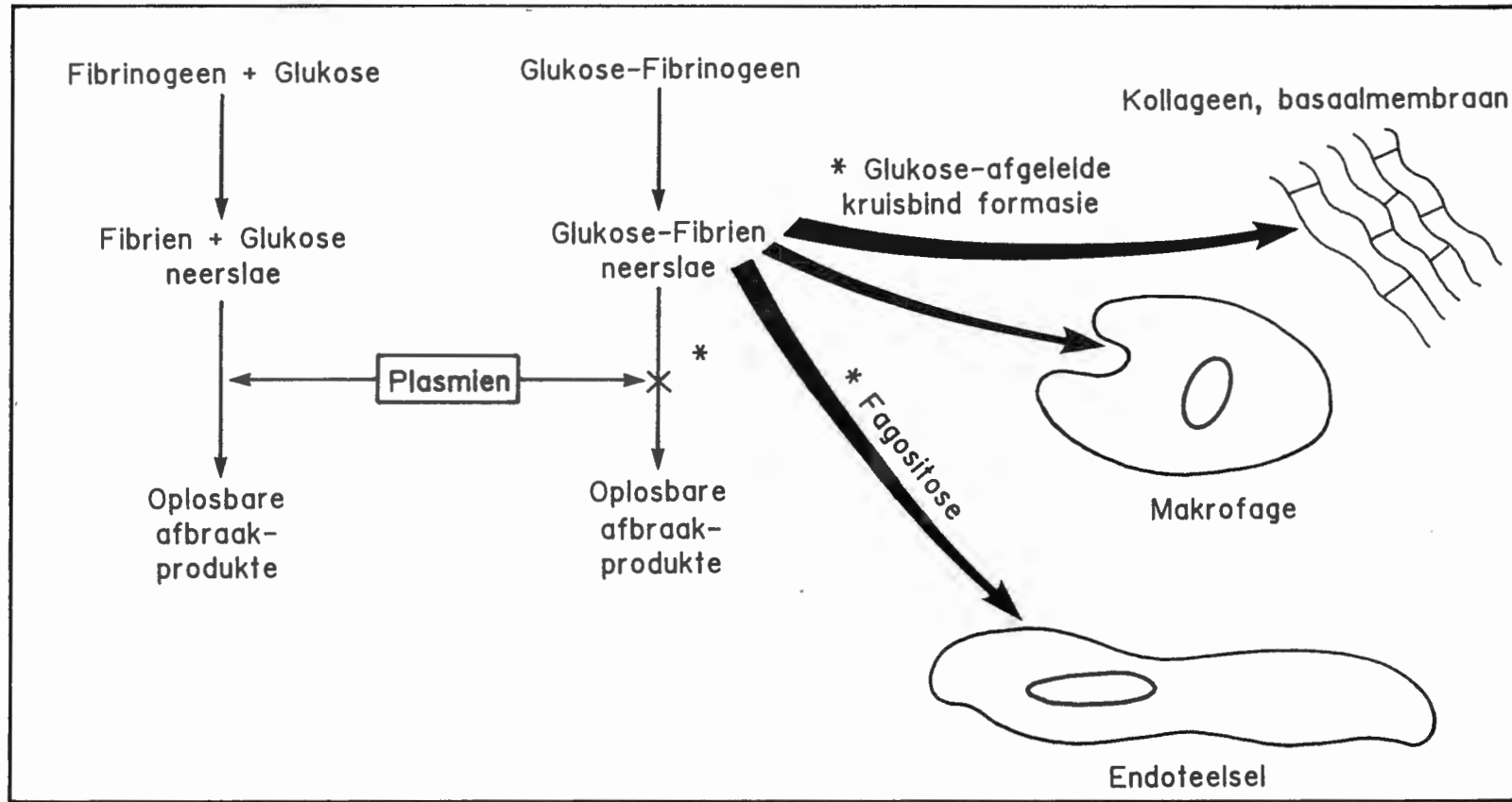
Daar is aangetoon dat lisienkettings verantwoordelik is vir fibrien-kruisbinding, wat beteken dat hierdie ketting vrylik beskikbaar moet wees vir binding, selfs met glukose. Hierdie setels is verder verantwoordelik vir binding met plasminogeen. Die glukose wat daaraan gebind is, verhoed dus die proteolitiese afbraak van die fibrinogeenmolekule (Lütjens et al., 1985).

Soos reeds genoem gaan diabetes mellitus gepaard met abnormale fibrinolitiese aktiwiteit (Khodabandehlou & Devehat, 1990). Die glukose wat aan lisien in die fibrinogeenmolekule gebind is, meng in met die fibrinolitiese ensiem-substraat-interaksie. Hierdie foutiewe afbraak van fibrien kan aanleiding gee tot die opeenhoping van fibrien in diabetiese weefsel (Brownlee et al., 1983 ; kyk figuur 2.11).

Hierdie resultate word deur Ney et al., (1985) ondersteun, wat ook verder aangetoon het dat daar geen verskil in die samestelling van die eindprodukte van fibrinolise van geglikosileerde fibrinogeen in vergeleke met ongeglikosileerde fibrinogeen is nie. Buiten bogenoemde

effek bestaan die moontlikheid verder dat glukose se binding die aantal beskikbare setels verminder vir binding met faktor XIII (die fibrienstabiliseringsfaktor). ϵ -(gamma-glutamiel)-lisien intramolekulêre kruisbindings kan dus nie vorm nie (Brownlee et al., 1983). Die moontlikheid bestaan verder dat geglikosileerde fibrinogeen intermolekulêre kruisbindings met vaskulêre kollageen of basaalmembraanproteïene kan vorm, wat bydrae tot die verdikking van hierdie materiaal (Khodabandehlou & Devehat, 1990). Glikosilering dien as moontlike teken vir die opname van dié molekule deur endoteelselle. Dit is reeds aangedui dat hierdie selle geglikosileerde albumien opneem, terwyl onveranderde albumien nie opgeneem word nie (kyk figuur 2.11).

Soos reeds genoem is betekenisvolle neerslae van fibrien 'n konstante eienskap in aterosklerotiese letsels (Brownlee et al., 1983). Fibrien-degraderingsprodukte inhibeer groei van gladdespierselle. Foutiewe degradasie van dié fibrien mag hierdie inhibisie verhoed (Brownlee et al., 1983).



Figuur 2.11 Die moontlike effek van glikosilering op plasmafibrinogeen (uit : Brownlee et al., 1983).

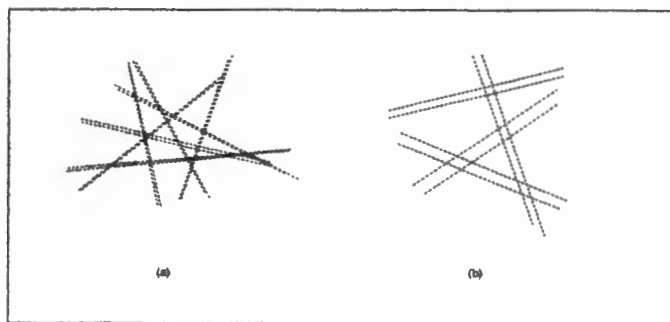
Daar bestaan dus genoeg bewyse dat geglikosileerde fibrinogeen die ontwikkeling van diabetiese vaskulêre siektes bevorder. Sommige resultate dui daarop dat die verkorte lewensduur van fibrinogeen nie aan glikosilering toegeskryf kan word nie (Jones & Peterson, 1979). Daar is geen ladingsverskil en molekulêre gewigsverskil in vergelyke met gesonde persone nie. Daar is egter nog onsekerheid of fibrinogeen se optrede tydens diabetes die oorsaak of gevolg van vaskulêre siektes is (Jones & Peterson, 1979).

Addisioneel tot verhoogde vlakke van fibrinogeen, is verkorte lewensduur van plasmafibrinogeen in diabetiese pasiënte ook aangetoon (McVerry et al., 1981). Binding tussen glukose en fibrinogeen is afhanklik van tyd, pH en temperatuur. Daar is aangedui dat glikosilering geen effek op die trombienstolbaarheid of hittestabiliteit van die fibrinogeenmolekuul het nie (McVerry et al., 1981).

Hatton et al. (1993) rapporteer dat geglikosileerde fibrinogeen in 'n degradeerde vorm in die sirkulasie kan voorkom, wat nie by ongeglykosileerde fibrinogeen gevind word nie. Hierdie degradeerde vorm van die fibrinogeenmolekuul besit geen of slegs 'n gedeelte van die α -ketting. Hierdie defektiewe fibrinogeenmolekuul se vermoë om te polimeriseer verskil drasties van dié van die ongeglykosileerde molekuul, aangesien die α -ketting 'n belangrike setel vir fibrienvorming is. Die moontlikheid bestaan dat die glikosilering wat op die α -ketting plaasvind, hierdie ketting se ontvanklikheid vir degradasie deur sekere sirkulerende ensieme verhoog (Hatton et al., 1993). Procyk & Blombäck (1990) rapporteer dat fibrinogeen waarvan die A α (17-19)-residue verwyder is, stolling ondergaan deur 'n oligomeriseringsreaksie wat deur faktor XIII gekataliseer word.

Resultate dui daarop dat diabetiese fibrinogeen abnormale netwerke van stolsels vorm. Verlaging in veseldikte en

deurlaatbaarheid van stolsels kom voor (Nair et al., 1991). Die belangrikste abnormaliteit is geïnhibeerde laterale polimerisasie, of versnelde punt-aan-punt polimerisasie (Nair et al., 1991). Die vermindering in dikte van die vesels verhoog die totale kontoerlengte van die vesels, wat die deurlaatbaarheid daarvan verminder. Die kompaktheid van die stolsel word dus bevorder (Nair et al., 1991). Netwerke van hierdie aard is weerstandbiedend teen afbraak en kanselleer verhoogde fibrinolitiese aktiwiteit uit, al is die plasminogeenkonsentrasie verhoog. Hierdie verandering is bevorderend ten opsigte van vaskulêre siektes (Nair et al., 1991). Blombäck et al., (1992) rapporteer dat fibrienstolsels van hierdie aard meer rigied is, aangesien vloeï deur hierdie stolsels bemoeilik word (kyk figuur 2.12).



Figuur 2.12 Variasie in vesellengte en veseldikte lewer stolsels met verskillende eienskappe. (a): stel 'n stolsel voor met lang dun vesels : (b): stel 'n stolsel voor met kort dik vesels. Veselmassa in beide stolsels is dieselfde. Soos die massa van die stolsel in dik vesels konsentreer, vergroot die spasies, asook porieë, tussen hulle (uit : Carr & Hardin, 1986.).

Aangesien fibrinogeen 'n halfleeftyd van 3-4 dae in die sirkulasie het, word dit deur verskeie outeurs voorgestel dat fibrinogeen as indeks dien vir korttermyn glukemiese

beheer (Suzuki et al., 1987). Die persentasie geglikosileerde fibrinogeen korreleer met die graad van hiperglukemie. Na behandeling van nuutgediagnoseerde diabetes mellitus pasiënte, toon geglikosileerde fibrinogeen, in teenstelling met geglikosileerde hemoglobien en albumien, reeds na ses dae betekenisvolle verlaging (Ardawi et al., 1990). Geglikosileerde fibrinogeen kan dus as vroeë (2-3 dae) aanduider dien vir die respons op terapeutiese ingreep by diabete (Ardawi et al., 1990).

2.4.4 Glikosilering van ander proteïene

Die moontlikheid bestaan dat byna enige proteïen ontvanklik is vir chemiese binding met glukose. Wieland (1983) noem dat slegs dié proteïene wat glikosilering kan ondergaan, bestudeer is in belang van die ontwikkeling van diabetiese komplikasies. Selfs in diabetiese pasiënte onder streng glukemiese beheer, bestaan daar bewyse vir versnelde nie-ensiematiese glikosilering (McFarland et al., 1979). Daar kan aanvaar word dat, soos in die geval van fibrinogeen, glikosilering van ander proteïene lei tot funksionele verandering verwant aan die ontwikkeling van gevorderde diabetiese komplikasies (Wieland, 1983). Laasgenoemde stelling is gemaak vanuit die lig dat glikosilering die fisies-chemiese eienskappe van proteïene op 'n relatief onbekende wyse verander (Kennedy et al., 1982).

2.4.4.1 HbA₁

Hemoglobien is die eerste proteïen waarvan glikosilering aangetoon is (Kennedy et al., 1981). Geglikosileerde hemoglobien (HbA₁) word gevorm deur post-translasie, nie-ensiematiese, onomkeerbare glikosilering van normale volwasse hemoglobien (HbA₀). Dit is nodig om te verstaan dat HbA₁ verwys na die somtotaal van verskillende fraksies geglikosileerde hemoglobiene, naamlik $HbA_1 = HbA_{1a+b+c}$ (McFarlane, 1985). Aangesien hemoglobien 'n halfleeftyd

van 60 dae het, vind die vorming van geglikosileerde hemoglobien (HbA_1) stadig plaas (Bunn et al., 1976 ; Stevens et al., 1977). Stevens et al. (1976) rapporteer dat 9-15 % van 'n diabetiese pasiënt se hemoglobien in geglikosileerde vorm aangetref word, in vergeleke met die 5-8 % van 'n gesonde persoon. Die tempo waarteen geglikosileerde hemoglobien vorm, word bepaal deur die gemiddelde sirkulatoriese glukosevlakke waaraan die rooibloedsel blootgestel word (Peterson & Jones, 1977). Die konsentrasie van geglikosileerde hemoglobien in pasiënte is dus onafhanklik van genetiese agtergrond, geslag, ras of ouderdom (Bunn et al., 1978).

Dit is reeds goed in die literatuur bevestig dat geglikosileerde hemoglobien 'n baie goeie objektiewe metode bied vir die bepaling van gemiddelde bloedglukosevlakke oor 'n periode van 6-8 weke. Die HbA_1 -waarde gee waardevolle inligting, maar moet slegs gesien word as 'n addisionele hulpmiddel tot vasstelling van algehele diabetiese beheer. Die HbA_1 -waarde toon nie die duur en gereeldheid van hiperglukemie nie, so ook nie die graad van reaktiewe hiperglukemie nie (Distiller, 1983).

Beide die intra-ketting se lisien en die aminoterminal van hemoglobien se valien kan met glukose bind. Die primêre setel vir glikosilering van hemoglobien is by die valienresidu by die terminus van die β -ketting. Hierdie ketting is geleë in die bindingsetel van 2,3-difosfogliseraat, wat hemoglobien se suurstofaffiniteit reguleer (Kennedy & Baynes, 1984). Dit is om hierdie rede dat geglikosileerde hemoglobien 'n afwykende suurstofversadigingskromme en/of verlaagde sensitiwiteit vir die allosteriese effek van organofosfate het (Kennedy & Baynes, 1984). Fluckiger & Winterhalter (1976) het ook aangeteken dat glukose die N-terminal se α -amino groep van die β -ketting eerste bind.

2.4.4.2 Fruktosamien

Die ontdekking van geglikosileerde serumalbumien en ander geglikosileerde serumproteïene en hul verhoogde vlakke tydens diabetes mellitus, het meer diagnostiese gereedskap gebied vir metabolisme beheer van diabetes mellitus pasiënte (Kennedy et al., 1980). Die bepaling van die konsentrasie geglikosileerde proteïene in serum voorsien 'n vinnige en betroubare metode vir die monitering van 'n diabetes mellitus pasiënt se glukosemetabolisme. Bepaling van geglikosileerde proteïene, as somtotaal in serum, staan as fruktosamien bekend (Baker et al., 1984) en dit kan as 'n nie-spesifieke toets dien vir bepaling van die konsentrasie geglikosileerde proteïene in serum (Wersch et al., 1991). Hierdie proteïen verskil van geglikosileerde hemoglobien in die sin dat dit as aanduiding dien vir die verandering in glukemie binne korter periodes (Wieland, 1983). Die halfleeftyd van serumfruktosamien in die sirkulasie is ongeveer 20 dae (Wersch, 1991). Daar is egter 'n wantroue in die beskikbare metodes vir die bepaling van fruktosamien (Johnson & Baker, 1986). Die korrelasie tussen geglikosileerde proteïen en vastende serumglukose is meer prominent by Tipe II as by Tipe I diabetes mellitus. Bepaling van geglikosileerde proteïen het die voordeel bo bepaling van geglikosileerde hemoglobien in die sin dat dit as indeks kan dien vir glukemie oor 'n bestek van 'n paar dae, terwyl geglikosileerde hemoglobien glukemiese beheer oor verskeie weke weerspieël (Kennedy et al., 1981). 'n Nadeel van bepaling van die fruktosamienwaarde is dat dit 'n gemiddelde waarde bied vir 'n wye reeks proteïene met verskillende halfleeftye. 'n Nou verwantskap bestaan tussen die fruktosamienwaarde en geglikosileerde albumien. Dit is moontlik die gevolg van albumien se hoë konsentrasie, in vergelyke met die laer konsentrasies van ander proteïene (Kennedy et al., 1982).

2.4.4.3 Albumien

In gesonde persone kom ongeveer 6-15 % albumien in die geglikosileerde vorm voor. Die modifikasie van albumien tydens glikosilering blyk analoog te wees aan dié van HbA₁ (Day et al., 1978). Die sirkulerende halfleeftyd van albumien is 20 dae. Hierdie tydperk is genoegsaam vir monitering van glukemie oor 'n korter tydperk as geglikosileerde hemoglobien, maar lank genoeg om van terapeutiese belang te wees (Dolhofer & Wieland, 1979 ; Dolhofer & Wieland, 1980). Glikosilering van albumien mag as 'n moontlike sneller vir katabolisme van albumien dien. Dit is 'n moontlike verduideliking vir verlaging in albumienkonsentrasies by diabetiese pasiënte (Khodabandehlou & Dehevat, 1990). 'n Verdere effek van glikosilering is dat dit albumien se oplosbaarheid verminder (Kennedy et al., 1982). Daar is aangetoon dat endoteelselle albumien opneem en degradeer in verhouding tot die mate van glikosilering van albumien . Dit lei tot verdikking van die basaalmembraan (Kennedy & Baynes, 1984). Die beweging van albumien uit die sirkulasie word moontlik veroorsaak deur 'n verandering in die elektriese lading of konformasie wat deur glikosilering veroorsaak word (Sampietro et al., 1987). Konformasieverandering en verlaagde ligandbindingskapasiteit gaan ook gepaard met glikosilering van albumien (Wolff et al., 1991). Een van die ligande wat swakker bind, is bilirubien, wat 'n produk van cholesterolmetabolisme is (Kennedy & Baynes, 1984).

2.4.4.4 Lipoproteïene

Aangesien lipoproteïene nou betrokke is by die ontwikkeling van aterosklerose, wat die hooforsaak van sterftes onder diabetese is, is enige verandering in die struktuur van die molekule van groot belang (Lyons, 1986). LDL-vlakke van diabetes mellituspatiënte is nie verskillend van dié van normale pasiënte nie. Die verskil lê daarin dat by diabetes mellituspatiënte, by enige gegewe vlak LDL-C,

opieenhoping van Maillardprodukte op die arteriële wand, die ekstrasellulêre neerlegging van lipoproteïen deur immobilisasie bevorder word as gevolg van glukose-afgeleide kruisbinding (Brownlee, 1990). Wieland (1983) rapporteer 'n verhoging van twee tot drie maal in die hoeveelheid lisiengebode glukose van apoproteïen-B, in teenstelling met Lyons (1986), wat 'n 1.6-voudige toename in glikosilering van apoproteïen-B tydens diabetes mellitus rapporteer. Die verskynsel van glikosilering van apoproteïen-B is van spesiale belang, aangesien dit met die spesifieke reseptorgemedieerde sellulêre opname van LDL-C inmeng, asook cholesterol-ester opeenhoping bevorder (Wieland, 1983). Opeenhoping van geglikosileerde LDL-C vind ook plaas omdat geglikosileerde LDL-C nie deur strukture wat verantwoordelik is vir die afbraak daarvan (fibroblaste), uitgeken kan word nie (Wolff et al., 1991). In teenstelling met geglikosileerde LDL-C (Lyons et al., 1986), vind afbraak van geglikosileerde HDL-C vinniger plaas en is beide molekule se effek proporsioneel tot die mate van glikosilering (Kennedy & Baynes, 1984). 'n Verdere effek van glikosilering van LDL-C is die verhoogde sintese van cholesterol-esters (CE) asook die opeenhoping van die CE in makrofage. Makrofage word as die voorloper van skuimselle, 'n bestanddeel van vroeë ateromateuse aanpaksel, beskou (Lyons, 1986).

2.4.4.5 Polilisien

Glikosileerde polilisien, 'n vorm van 'n geglikosileerde peptied, produseer Fe^{3+} -chelaatstrukture. Hierdie strukture kan omgesit word na 'n aktiewe vorm deur 'n nie-ensiematiese proses. Blootstelling van LDL-C aan die aktiewe kompleks veroorsaak lipiedperoksidasie, wat betekenisvol hoër is as blootstelling aan vry Fe^{3+} . Die glikosilering van hierdie peptied word dus beskou as 'n potensiële kandidaat vir bevordering van ateriosklerose in diabetiese pasiënte (Sakurai et al., 1991).

2.4.4.6 Eritrosietmembrane

Eritrosiete kan as voorbeeld dien van 'n wye reeks selle wat onafhanklik van insulien, glukose opneem (Cerami et al., 1979). Eritrosiete van diabetiese pasiënte het 'n verkorte lewensduur, oormatige neiging tot aggregasie, veranderde membraanfosfolipied-asimmetrie en 'n verhoogde kleefbaarheid ten opsigte van endoteelselle (Sushil et al., 1989).

Glukose besit die vermoë om aan keto-amienbindings in eritrosietmembraanproteïene te bind. Daar is verhoogde glikosilering in eritrosiete van diabetes mellituspatiënte aangetoon (Wieland, 1983). Verhoogde glikosilering van membraanproteïene verander die deurlaatbaarheid van die eritrosiet. Hierdie selle stel makliker ADP vry, wat 'n prokoagulant is (Wieland, 1983). Dit moet beklemtoon word dat hierdie proteïene die langsliewende van alle plasmamembraanproteïene is en dat die moontlikheid daardeur versterk word dat kumulatiewe beskadiging as gevolg van glikosilering oor 'n lang tydperk plaasvind (Kennedy & Baynes, 1984).

Glikosilering van membraanproteïene lewer die superoksied-nuweproduk, lipiedperoksidase (Sakurai & Tsuchiya, 1988). Laasgenoemde neweprodukte vorm moontlik omdat die glukose enoliseer en daardeur molekulêre suurstof reduceer. α -Keto-aldehiede, waterstofperoksied en vryradikaal-intermediêre vorm as byprodukte. Die waterstofperoksied, wat deur superoksied-dismutase gevorm is, genereer die katalitiese metaal se oksidasietoestand en produseer hidroksielradikale (Sushil et al., 1989). Die gepaardgaande verhoging in glikosilering en lipiedperoksidases, wat verantwoordelik is vir die katabolisme van verskeie membraanlipiede, korreleer met HbA₁. Die lipiedperoksidase word in die lae van die rooibloedselmembraan vrygestel, waar dit die membraan

permanent beskadig en sodoende bydra tot die verkorte leeftydperk van die rooibloedselle (Sushil et al., 1989).

2.4.4.7 Senuweeselle

Spekulasie bestaan oor die rol van glikosilering in die ontstaan van diabetiese neuropatie. Verhoogde glikosilering van perifere senuwee-proteïene kom voor en dit is onbekend of hierdie verandering die integriteit van senuweeselle verander (Wieland, 1983). Beide miëlien en miëliengeassosieerde proteïene van die perifere en sentrale senuweestelsel ondergaan glikosilering. Daar bestaan 'n moontlikheid dat glikosilering van senuweesel-proteïene 'n nuwe produk lewer wat die katabolisme van die senuweeselle induseer. Glikosilering meng ook in met verskeie biochemiese prosesse wat belangrik is vir normale funksionering van die senuweeselle (Kennedy & Baynes, 1984).

2.4.4.8 Lensproteïene

Glikosilering van lensproteïene van die oog is verhoog tydens diabetes mellitus. Die verandering in fisiese eienskappe van die lensproteïene tydens glikosilering word geassosieer met die voorkoms van katarakformasie (Wieland, 1983). Glukose bind met die ϵ -amino-groep van lisien op lensproteïene (Cerami et al., 1979). Hierdie glikosilering verhoog die ontvanklikheid van die proteïen vir sulfhidrieloksidasie (Kennedy & Baynes, 1984). Disulfiedbindings vorm tussen die proteïene van die lens en dit lei tot aggreëatvorming wat die lens minder deurskynend maak (Cerami et al., 1979). Die lens neem 'n geel kleur aan met verloop van tyd. Hierdie kleur kan as 'n beter indeks vir langtermyn glukosebeheer as HbA_{1c} gebruik word (Bresnick, 1985).

2.4.4.9 Hormone en ensieme

Min inligting is beskikbaar aangaande glikosilering van hormone en ensieme. Daar is aangedui dat insulien in vitro glikosilering ondergaan (Ney et al., 1985). Hierdie proses kan beide funksionele en strukturele verandering in die hormoon meebring (Wieland, 1983). Geglikosileerde insulien het verlaagde vermoëns om glukose-oksidase asook lipogenese te stimuleer (Ney et al., 1985).

2.4.4.10 Ekstrasellulêre matriksproteïene

Kollageen is een van die langslewende proteïene in die liggaam en word konstant blootgestel aan glukose in vaskulêre en ekstravaskulêre vloeistowwe. Die toename in glikosilering van kollageen korreleer met verlaagde deurlaatbaarheid, elastisiteit, sensitiwiteit teenoor protease-afbraak asook verhoogde termiese stabiliteit. Al hierdie verandering is moontlik toe te skryf aan kruisbinding tussen kollageenproteïene. Dit dien ook as moontlike verduideliking van verdikking van die basaalmembraan, wat aanleiding gee tot vernouing van bloedvate in diabetes mellitus pasiënte (Kennedy & Baynes, 1984).

Uit bogenoemde bespreking oor die glikosilering van proteïene, is dit duidelik dat meer kennis nodig is oor die effek van glikosilering op die funksie van liggaamsproteïene. Wat wel bekend is, is dat glikosilering

(a) die lading van proteïene verander deur kansellasie van positiewe ladings,

(b) die kritiese aminogroepe blokkeer,

(c) die molekule se waterstofbindingskapasiteit ophef,

(d) die molekule se vermoë om deur selle uitgeken te word, ontnem, asook

(e) die formasie van intra-/intermolekulêre kruisbindings (Wolff et al., 1991).

Konformasieveranderinge wat deur glikosilering teweeg gebring word, vind dus plaas as gevolg van uitskakeling van positiewe ladings op die proteïene, blokkering van kritiese amino-groepe, die verlies van waterstofbindingskapasiteit, die verlies van sellulêre uitkenning, asook die formasie van komplekse produkte met die vermoë om inter-/intramolekulêre kruisbindings te vorm (Wolff et al., 1991). Laasgenoemde kan dien as basis vir verdere studies.

2.4.5 Gevolge en belang van glikosilering van proteïene

2.4.5.1 Glikosilering van proteïene en plaakvorming

'n Onlangse oorsig van Brownlee (1990) noem dat beide groot en klein bloedvate van diabetes mellitus pasiënte tekens toon van aanhoudende opeenhoping van 'n verskeidenheid van proteïene (Brownlee, 1990). In 'n aterosklerotiese aanpaksel kan hierdie proteïene, gewoonlik 'n lipoproteïene, slegs verwyder word deur die behandeling daarvan met 'n proteolitiese ensiem. Dit dien as aanduiding dat die proteïene chemies aan die vatwand bind. Hiperglukemie versnel die immobilisasie van hierdie proteïene deurdat dit die proses van Maillardprodukkruisbindingformasie versnel. Laasgenoemde bevorder plaakvorming teen enige gegewe LDL-C-konsentrasie, aangesien dit diffusie uit die intima verhoed, asook interaksie tussen endoteelselle onderling verhoed.

LDL-C bind kovalent aan geglikosileerde kollageen, teen 'n tempo lineêr aan die mate waartoe kollageen Maillardprodukte gevorm het. Eksperimentele data toon dat LDL-C spesifiek bind aan reaktiewe produkte wat deur nie-ensiematiese glikosilering gevorm is (Brownlee, 1990).

Glikosilering is dus 'n nadelige proses wat aterosklerose versnel, selfs by 'n normale LDL-C-konsentrasie.

Neerlegging van Maillardprodukte kom voor by glomerulêre, retinale sowel as endoneurale arterioles. Neerlegging van byna enige plasmaproteïen, soos IgG, albumien en IgM, vind plaas. Volgehoue neerlegging van Maillardprodukte lei tot uiteindelijke vernouing van die bloedvat. Addisionele weefselbeskadiging kan ook plaasvind as gevolg van Maillardproduk-gekataliseerde suurstofradikaalvorming (Brownlee, 1990).

Vernouing van bloedvate is nie die enigste nadelige effek van Maillardproduk-neerlegging nie. Die neerlegging het ook 'n effek op die fisiese eienskappe van die vatwand, naamlik 'n afname in die elastisiteit van die wand, verhoogde weerstand, asook verhoogde deurlaatbaarheid van die vatwand. Hierdie prosesse bevorder die ontwikkeling van vaskulêre patologie deur 'n afname in die ontvanklikheid van die matriks vir afbraak deur proteases. Dit lei direk tot opeenhoping van die proteïene. Dié proses meng in met die normale basaalmembraanvorming. Normale ontwikkeling van basaalmembrane vind plaas deur 'n geometriese geordende self-bou proses, wat setelspesifieke punt-aan-punt en laterale interaksies van verskeie boumateriale behels. Maillardprodukte veroorsaak 'n verandering in die assosiatiewe eienskappe van die basaalmembraankomponente, wat die vermoë van die molekules om onderling te assosieer verswak en die vorming van 'n geordende polimeriese kompleks verhoed. Dit lei tot permanente verandering in die struktuur van die basaalmembraan, asook onomkeerbare afname in die bindingsaffiniteit van die matrikskomponente vir groeimodulerende hepariensulfaatproteoglukane. Laasgenoemde kan 'n belangrike rol in die ladingspesifieke matriksskans speel. Hierdie verandering dra by tot die verdikking van die vatwand, veroorsaak 'n verwronge

driedimensionele matriksstruktuur met verhoogde effektiewe intermolekulêre poriegroottes, asook sellulêre hipertrofie en hiperplasie. Verhoogde digtheid van Maillardproduk-neerlegging op die matriks stimuleer ook reseptorgemedieërde groeistimulerende monokiensekresie (opgesom deur Brownlee, 1990).

Bovermelde abnormaliteite veroorsaak hipersensitiwiteit van die basaalmembraan vir groeifaktore, vorming van mikrotrombi, asook verhoogde vrystelling van vasokonstriktormolekules. Dit sal die aterosklerotiese proses en risiko vir KHS verhoog. Hierdie prosesse word gemedieër deur spesifieke transmembraan-seinreseptore, genaamd integriene (Brownlee, 1990).

PATOLOGIESE GEVOLGE VAN MAILLARDPRODUK OPEENHOPING

Ekstrasellulêre proteïenkruisbinding

- Vang gedeponeerde plasmaproteïene onomkeerbaar vas
- Reduseer die ontvanklikheid vir ensiematiese afbraak
- Meng in met basaalmembraan se selfsamevoeging
- Verlaag die affiniteit van binding met groeimodulerende faktore

Figuur 2.13 Patologiese gevolge van opeenhoping van Maillardprodukte (uit : Brownlee, 1990).

2.4.5.2 Verwydering van geglikosileerde proteïene

Menslike monosiet-makrofage besit hoë-affiniteit reseptore vir Maillardprodukte. Aangesien dit die enigste reseptor is wat 'n ligand bind wat in vivo gevorm word, kan dit as 'n baie unieke reseptor beskou word. Hierdie reseptor is slegs verantwoordelik vir die stimulerings van die verwydering van makromolekules wat langtermyn aan glukose blootgestel is. Die werking van hierdie reseptor is nog

onbekend, maar dit is wel bekend dat insulien as inhibeerder optree vir die uitdrukking van die reseptorgeen (Brownlee, 1990).

Indien 'n molekule met die reseptor bind, word groeifaktore vrygestel. Hierdie groeifaktore bind aan 'n aantal ander selle waar hulle beide degeneratiewe sowel as proliferatiewe effekte induseer (Brownlee, 1990).

In 'n nuutvoorgestelde weg word Amadori-produkte nie ensiematies nie, maar oksidatief afgebreek (Brownlee, 1990). Hierdie reaksie bind die Amadori-produkte om peptiedgebonde karboksimeetielisien en vry eritroonsuur te vorm. Beide produkte word in urien aangetref. Hierdie proses verminder dus die beskikbare hoeveelheid Amadori-produkte vir die vorming van Maillardprodukte. Die vermoede bestaan dat hierdie proses geneties van persoon tot persoon verskil (Brownlee, 1990).

'n Verdere moontlikheid vir die verwydering van geglikosileerde proteïene is deur selektiewe mikropinositose deur kapillêre endoteelselle. Hierdie meganisme word egter nog ondersoek (Hatton et al., 1993).

2.4.5.3 Die effek van Maillardprodukte op die funksie en struktuur van DNA.

Alhoewel die primêre aminogroepe van nukleotiede chemies minder reaktief is as die ϵ -aminogroepe van lisien, veroorsaak die aanwesigheid van reaktiewe metaboliete die kruisbinding van DNA-molekule. Dit verander die funksie van selle wat deur diabetiese angiopatie aangetas is, permanent. Reduserende suikers kan intrasellulêr met die aminogroepe van DNA reageer op dieselfde wyse as met die aminogroepe van proteïene. Dit veroorsaak mutasies en verandering in geen-uitdrukking van die DNA (Brownlee, 1990).

2.4.5.4 Fisiologiese belang van geglikosileerde proteïene

'n Vraag wat telkens gevra moet word is : " Wat is die belangrikheid van glikosilering in die liggaam ? ". Die mate van glikosilering is baie klein in absolute terme. Selfs al word gekyk na die oksidatiewe skade wat aan LDL-C aangerig word as dit aan glukose blootgestel word, is daar steeds probleme om die mate van glikosilering aan die voorkoms van aterosklerose verwant te stel. Daar bestaan selfs twyfel oor die siening dat diabetiese weefsel 'n vorm van versnelde veroudering, geïnduseer deur hiperglukemie, voorstel. Die mate van glikosilering bereik 'n ewewig teen 'n vroeë ouderdom. Dit kan redeneer word dat die binding van glukose aan proteïene sekerlik plaasvind, maar dat die effek daarvan weglaatbaar klein is. Vrae ontstaan ook oor die belang van die Maillardweg. Die rol van die produkte tydens hierdie reaksies is onbekend en dit word vermoed dat die rol moontlik slegs indirek is (Wolff et al., 1991).

Uit bogenoemde bespreking is dit duidelik dat meer navorsing oor die gevolge van die veranderde funksie van geglikosileerde proteïene nodig is.

HOOFSTUK 3

METODES

3.1 Studie-ontwerp

P R O E F G R O E P	DEEL I	DEEL II							
	VERGELYKENDE STUDIE	INTERVENSIESTUDIE							
	KONTROLE n = 20								
	HIPERLIPIDEMIES n = 20								
	NIE-INSULIENAFHANKLIKE DIABETES MELLITUS n = 18	n = 8				Vrye keuse-dieet			
		HVHKLVDieet* met droëbone							
		n = 8				Vrye keuse-dieet			
		HVHKLVDieet* met soja							
	Weeg	Bloedmonsters		Bloedmonsters		Bloedmonsters		Bloedmonsters	
	Persoonlike besonderhede	Weeg	Weeg	Weeg	Weeg	Weeg	Weeg		Weeg
	Bloedmonsters								
TYD/WEEK	0	2	4	6	8	10	12	14	16

Figuur 3.1 Eksperimentele ontwerp van die studie (* Hoë-vesel, hoë-koolhidraat, lae-vetdieet ; Energiesamestelling van die dieet : 57 % koolhidrate, 18 % proteïene en 25 % vet).

Die studie-ontwerp wat in hierdie ondersoek gebruik is, word in figuur 3.1 weegegee. Dié figuur toon aan dat die studie uit twee dele (vergelykende en intervensiestudie) bestaan het.

Vergelykende studie : 58 pasiënte vanuit 'n populasie van ongeveer 300 pasiënte van die Lipiedkliniek van die Departement Voeding aan die PU vir CHO, is onderskei om in een van drie groepe ingedeel te word : Groep 1 : kontroleproefpersone,

Groep 2 : hiperlipidemiese pasiënte (HL),

Groep 3 : nie-insulienafhanklike diabetes mellituspasiënte (NIDDM).

Vir hierdie studie is basislynwaardes van al 58 pasiënte geneem. Persoonlike besonderhede soos geslag, ouderdom, gewig, rookgewoontes, aktiwiteitsvlak en mediese geskiedenis is van elke pasiënt geneem.

Die intervensiestudie het oor 'n tydsverloop van 16 weke verloop. Na afhandeling van die eerste deel van die studie is die 16 NIDDM-pasiënte ewekansig in twee groepe verdeel.

Groep 1 : Hierdie groep van 8 pasiënte het 'n hoë-vesel, hoë-koolhidraat, lae-vetdieet saam met die inname van 150 g droëbone (gaar gewig) per dag, gevolg.

Groep 2 : Hierdie groep van 8 pasiënte het dieselfde hoë-vesel, hoë-koolhidraat, lae-vetdieet van groep 1 gevolg, maar die droëbone is in hierdie geval met 50 g soja (rou gewig) per dag, vervang.

Die dieet is ontwerp sodat 57 % van die totale energie-inname deur koolhidrate, 18 % deur proteïene en 25 % deur vet verskaf is. Groep 1 het geen sojaprodukte tydens die duur van die studie ingeneem nie en groep 2 het geen droëbone in hulle dieet ingesluit nie.

Pasiënte is tweewekliks geweeg en bloedmonsters is elke vier weke geneem. Die dieet moes vir 12 weke gevolg word. Die volg van die dieet vanaf week 12 tot 16 was opsioneel. Tydens die laaste 4 weke van die studie is die pasiënte nie vir 'n tussenbesoek genader nie en is hulle dus nie op week 14 geweeg nie.

3.2 Proefpersone

Vergelykende studie.

Drie groepe van ongeveer 20 persone van beide geslagte is elk as volg saamgestel :

Groep 1 (Kontrole) : 20 proefpersone met 'n normale biochemiese profiel is uit die gesonde populasie van die Lipiedkliniek van Departement Voeding aan die PU vir CHO geselekteer. Proefpersone wat enige vorm van medikasie gebruik, is nie ingesluit nie.

Groep 2 (Hiperlipidemies) : 20 pasiënte wat deur 'n mediese praktisyn as hiperlipidemies gediagnoseer is en na die Lipiedkliniek van Departement Voeding aan die PU vir CHO verwys is, is vir hierdie groep geselekteer.

Groep 3 (Nie-insulienafhanklike diabetes mellitus) : 18 pasiënte wat gediagnoseerde NIDDM-pasiënte is en die Lipiedkliniek van Departement Voeding aan die PU vir CHO besoek, is vir hierdie groep geselekteer. Die persone is gerekruteer deur die Diabete Vereniging, plaaslike hospitaal en mediese praktyke.

Intervensiestudie.

Die NIDDM-pasiënte wat aan die vergelykende studie deelgeneem het, se HbA1c- en bloedglukosevlakke tydens basislynwaardes is gebruik om NIDDM te bevestig. Twee pasiënte het nie aan die gestelde vereiste van vastende bloedglukose bo 6.7 mmol/L en HbA1c bo 8.00 % voldoen nie en het die finale groep dus uit 16 pasiënte bestaan. Twee groepe van agt pasiënte per groep is ewekansig vanuit die NIDDM-groep van 16 pasiënte gekies. Hierdie twee groepe het elk die besondere hoë-vesel, hoë-koolhidraat, lae-vetdieet met droëbone of 'n sojaproduk, gevolg, wat op 'n individuele basis deur 'n dieetkundige voorgeskryf en gemoniteer is.

3.3 Bloedtrekprosedure en opvolg

Pasiënte is vir die uitvoering van beide die eerste en tweede deel van die studie soos volg genader :

Pasiënte is individueel gekontak en 'n afspraak gemaak. Pasiënte is gevra om 10 ure vastend voor die neem van bloedmonsters te wees en tussen 7:00 en 10:00 by die kliniek te rapporteer. Persone is individueel behandel en alle bloedmonsters is deur 'n opgeleide verpleegkundige van die Lipiedkliniek geneem.

Die volgende bloedmonsters is geneem :

- 1 x 5 mL spuit vir die bereiding van 1:9 sitraatplasma
(0.11 mmol natriumsitraat)
- 1 x 5 mL spuit vir die bereiding van serum
- 2 x 20 mL spuite vir die bereiding van 1:9 sitraatplasma
(3.2 % natriumsitraat)
- 1 x 5 mL spuit, waarvan die bloed in 'n voorafbehandelde
EDTA-buis geberg is
- 1 X 5 mL vir 'n fluoriedbuis

Afwisselende spuite gekoppel aan 'n gevleuelde infusiestel met 'n 21-maat naald, is gebruik om die monsters te trek. Die monsters is sonder stase getrek. Opvolgbesoeke is op dieselfde wyse hanteer.

3.4 Bereiding van serum en plasma

3.4.1 Plasma

Sitraatplasma vir die isolasie van plasmafibrinogeen is berei deur 2 mL sitraatoplossing (3.2 % Natriumsitraat : MERCK, Kat.no. 6448) in elk van twee 20 mL spuite te trek en dan presies 18 mL bloed by te trek sodat die sitraat:bloed -verhouding presies 1:9 (volume/volume) was. Die sitraat dien as antikoagulant. Die sitraatbloed is teen 3660 rpm (2823 g) gesentrifugeer (Sanyo, Mistral 3000E, Engeland) om die plasma te skei. Na sentrifugering vir 20 minute, is die plasma van die twee buise saam gevoeg en in 50 mL plastiese buise by -72°C gevries tot verdere analise ('n opsomming van alle eksperimentele werk wat op hierdie plasmamonsters uitgevoer is, word in figuur 3.2 ,bl. 89, gegee).

Sitraatplasma vir die stollingsanalises is berei deur 0.5 mL sitraatbufferoplossing (Behringwerke AG, Marburg, Kat.no. ORKH G98 01219, 0.1 mmol/L, pH 4.5-4.8) in 'n 5 mL spuit op te trek en dan presies 4.5 mL bloed by te trek sodat die sitraat:bloed-verhouding presies 1:9 was. Die sitraat-antikoagulant en die buffer beskerm teen vroeë aktivering van faktor V en VII. Die sitraatbloed is gesentrifugeer om die plasma te skei. Na sentrifugering (3500 g, 10 minute) is die plasma in porsies met behulp van 'n mikropipet in Eppendorf^R-flessies geplaas en by -72°C tot verdere analises, gevries.

3.4.2 Serum

Bloed wat nie gebruik is vir die bereiding van plasma nie, is toegelaat om te stol en daarna gesentrifugeer. Die serum is verdeel en in Eppendorf^R -flessies by -72°C gevries tot verdere analises.

3.4.3 EDTA-bloed

500 µL van die bloed wat in voorafbehandelde EDTA-buise geplaas is, is in Eppendorfflessies^R in die yskas gelaat vir bepaling van HbA₁ op heelbloed. Die monsters kan vir

12 dae by +2 tot +8 °C gestoor word vir bepaling van HbA₁. Die res van die EDTA-bloed is in die buis gelos vir diagnose van genetiese familiële hipercholesterolemie.

3.4.4 Fluoriedbloed

Bloed wat in die fluoriedbuis (NaF) vir die bepaling van serumglukose geplaas is, is so gou as moontlik afgeswaai om die serum te skei. Die NaF dien in hierdie geval as inhibeerder van glikolise. Die serummonsters is in Eppendorfflessies by - 72°C gestoor.

3.5 Biochemiese analises

3.5.1 Serumlipiede

Serum-totale cholesterol (TC), hoë-digtheidslipoproteïen-cholesterol (HDL-C), trigliseriede (TG) en laedigtheidslipoproteïen-cholesterol (LDL-C) is met die presipiterings- en ensiematies-kolorimetriesse metodes van Boehringer Mannheim (Mannheim, Duitsland) en Merck (Darmstadt, Duitsland) in die laboratorium van die Departement Chemiese Patologie, Universiteit van Pretoria, bepaal.

3.5.2 Stollings- en fibrinolitiese veranderlikes

3.5.2.1 Fibrinogeenkonsentrasie (Fbg)

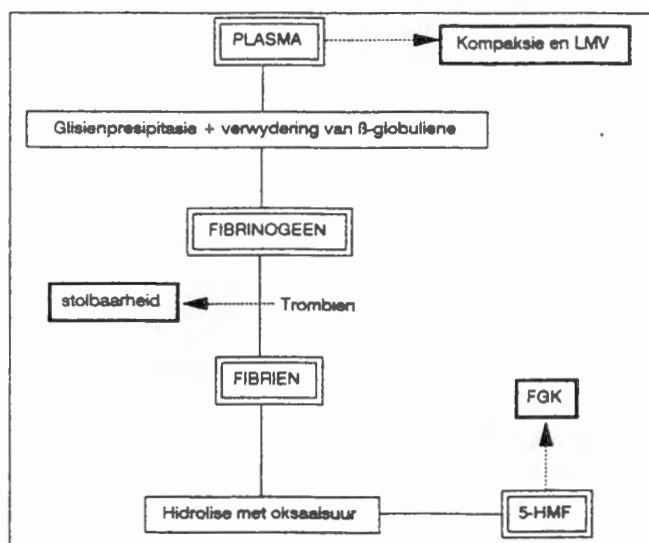
Die fibrinogeenkonsentrasie is met behulp van 'n gewysigde metode van Clauss (Clauss, 1957) en 'n Fibrintimer^R (BI, Marburg, Wes-Duitsland) op sitraatplasma bepaal. 'n Oormaat trombien word by die plasma gevoeg om stolling te veroorsaak. Die stollingstyd is afhanklik van die fibrinogeenkonsentrasie in die monster. Geen stowwe wat stolling teenwerk, het 'n invloed op die toets nie. Die KvV vir die metode was 2.6 %. Normaalwaardes vir

plasmafibrinogeen, deur die Clauss-metode bepaal, word aangegee as tussen 1.8 en 3.5 g/L (Behringwerke, 1991).

Prosedure : Die plasmamonsters word ontvries by 37°C in die verhittingsblok van die Fibrintimer^R waarna die bepaling binne 'n tydperk van 30 minute uitgevoer moet word. Multifibren (BI, Kat.no. OTXG) word opgelos in kaolienoplossing (BI, Kat.no. 2570). Dit word toegelaat om vir 15 minute by +25°C te staan voordat bepaling gedoen kan word. Kontroleplasma (BI, Kat.no. ORKE) word berei deur 1 mL gedistilleerde water by die inhoud te voeg en dit vir 15 minute by 25°C te laat stabiliseer. Die kontroleplasma kan twee maal hervries word voordat dit onbruikbaar is.

Die plasma word by 'n barbitalbuffer (BI, Kat.no. DIXM 57) in 'n verhouding van 1:9 (0.1 mL plasma + 0.9 mL barbitalbuffer) geplaas. Hierdie oplossing moet binne 15 minute gebruik word.

Die kuvette wat met magnetiese roerders toegerus is, word vooraf in die verhittingskamers van die Fibrintimer^R (by 37°C ± 0.2°C) verhit. 0.2 mL van die plasma-oplossing word in die kuvet geplaas en vir presies 60 s geïnkubeer. Die bepaling kan in duplikaat gedoen word, aangesien die apparaat 'n dubbelkanaal besit wat onafhanklik van mekaar werk. Nadat die 60 s verby is, word 0.1 mL Multifibren^R-oplossing (wat as snellerreagens dien) in die kuvet bygevoeg. Die verandering in absorbansie sneller die tydnemer. Sodra die stolling volledig plaasgevind het, word die absorbansie van die monster so hoog dat die tydnemer afskakel. Die fibrinogeenkonsentrasie kan nou bereken word deur die digitale waarde wat verskaf word deur die Fibrintimer^R om te reken na g/L deur gebruik te maak van die ingeslote tabel van waardes.



Figuur 3.2 'n Opsomming van die weg wat gevolg is tydens die ondersoek na sommige van die funksionele eienskappe van fibrinogeen (kyk teks vir afkortings).

3.5.2.2 Kompaksie van die fibrienstolsel

Die metode van Nair et al. (1991), waartydens die kompaksie omkeerbaar eweredig aan Young se modulus is, is gebruik. 0.9 mL sitraatplasma, van die oplossing voorberei vir die isolasie van fibrinogeen, is in 'n 1.5 mL Eppendorf^R-flessie geplaas. Stolling is geïnisieër deur byvoeging van 100 µL 3 IE/mL trombien (BI, Kat.no. OSGE). Die flessies is toegelaat om vir 'n tydperk te staan, sodat voldoende stolselvorming plaasgevind het. Die flessies is teen 8000 g vir 45 sekondes in 'n eppendorfsentrifuge (Eppendorf Centrifuge, 5415 C, Hamburg) gesentrifugeer. Die volume vloeistof wat uit die stolsel gepers is, is met behulp van 'n mikropipet (1000 µL) versamel en gemeet. Die waarde is aangegee as die persentasie van die aanvanklike totale volume. Die resultate dien as aanduiding van die hoeveelheid en sterkte van die primêre kruisbindings en vertakpunte in 'n stolsel. Nair et al. (1991) rapporteer 'n normaalwaarde van ongeveer 26 % vir die ouderdomsgroep van 31.5 jaar. Die KvV vir die metode was 3.8 %.

3.5.2.3 Lengte/massa-verhouding van fibrienvesels in die fibrienstolsel (LMV)

Die metode van Nair et al. (1991) is gebruik.

Agtergrond : Die turbiditeit, T , van 'n oplossing is 'n aanduiding van die afname in die transmissie van lig as gevolg van weerkaatsing. Die weerkaatsingsfaktor, R_0 , is afhanklik van die massa en dimensie van die deeltjies (Carr & Hermans, 1978). Dit lei tot die vergelyking

$$T = (44/15)\pi Kc(\text{golflengte})\mu_T/n \quad (1),$$

met c as die fibrinogeenkonsentrasie, n die refraksie-indeks van die oplossing en μ_T die lengte/massa-verhouding van die fibrienvesels. K word gegee deur

$$K = 2\pi^2 n(dn/dc)^2 / N_A(\text{golflengte})^4 \quad (2).$$

N_A is Avogadro se getal en dn/dc die spesifieke refraksie-indeks. μ_T kan by enige gegewe golflengte vanuit vergelyking (1) bepaal word. Laasgenoemde is egter slegs geldig by baie lae fibrinogeenkonsentrasies (< 1.00 mg/mL) en is die verwantskap oorwegend kurvilineêr, sodat vergelyking (1) met die volgende (sny deur oorsprong) vervang kan word :

$$(44/15)\pi Kc(\text{golflengte})/nT = (1 + 184\pi^2 p^2 n^2 / 77(\text{golflengte})^2 \dots) / \mu \quad (3).$$

Die afsnit A van die grafiek van $c/T(\text{golflengte})^3$ as 'n funksie van $1/(\text{golflengte})^2$ kan dus gebruik word om μ_T te bereken (Carr & Hermans, 1978 ; Nair et al., 1991).

Praktiese uitvoering : 0.9 mL sitraatplasma (vanuit die plasma berei vir die isolasie van fibrinogeen) is in twee afsonderlike kuvette van 1 cm^3 gepipetteer. 0.1 mL 3 IE/mL trombien (BI, Kat.no. OSGE) is in een van die kuvette geplaas. Die kuvet is liggies gekantel. Die stolsel is by

kamertemperatuur en nie 37°C nie, gevorm, omdat borrelvorming die resultate kan belemmer (Nair et al., 1991). Die optiese digtheid van die monster waarby trombien gevoeg is, is die hele tyd by 800 nm gemoniteer (Spektrofotometer CE 393, Cecil Series 2, Cambridge), met die ongestolde plasma as blanko. Nadat die optiese digtheid geen verdere verandering ondergaan het nie, is turbiditeit (2.303 x optiese digtheid) tussen 600 en 800 nm, in stappe van 20 nm, bepaal. Nair et al. (1991) rapporteer 'n normaalwaarde van ongeveer 23.11×10^{12} dalt/cm.

Teoretiese berekening : $c/(T \times \text{golflengte})^3$ is gestip as 'n funksie van $1/(\text{golflengte})^2$,

(c = die fibrinogeenkonsentrasie van die betrokke monster in g/L : T = turbiditeit of 2.303 x optiese digtheid). Die afsnit A van hierdie grafiek is gebruik om die gemiddelde lengte/massa-verhouding van fibrienvesels (μ_T) te bereken vanuit die vergelyking :

$$\mu_T = (10/1.48A) \times 10^{12} \text{ dalt/cm} \quad (1)$$

(Carr & Hermans, 1978 ; Nair & Dhall, 1991 ; Nair et al., 1991). Die KvV vir die metode was 2.25 %.

3.5.2.4 Stolbaarheid van fibrinogeen (STOL)

Isolasie van fibrinogeen vanuit plasma

Agtergrond : Blombäck & Blombäck (1966) het die in- en uitsoutingseienskappe van glisien in die teenwoordigheid van lae konsentrasies etanol gebruik om fibrinogeen met 99 % stolbaarheid vanuit Cohn-koue-etanol-fraksie I te berei. Kazal et al. (1963) het bevind dat glisien in 'n waterige sisteem 'n insoutingsaksie het op alle plasmaproteïene, buiten fibrinogeen en β -globuliene. Die glisienpresipiteringsmetode maak voorsiening vir 'n relatief eenvoudige tegniek om fibrinogeen vanuit plasma te isoleer. Die metode is ongekompliseerd en maak dit vir die gemiddelde laboratorium moontlik om fibrinogeen op klein skaal, sonder enige gesofistikeerde infrastruktuur, by kamertemperatuur en met 'n hoë opbrengs te isoleer. Die

produk is stabiel en hanteerbaar. Die spoorhoeveelhede glisien in die produk het geen invloed op die stolvermoë van die fibrinogeen nie (Mosesson & Sherry, 1966).

Die hoeveelheid fibrinogeen wat presipiteer is 'n funksie van die glisienkonsentrasie. In die omgewing van 0.7 M tot 2 M glisien is die ongepresipiteerde fraksie fibrinogeen logaritmes eweredig aan die molêre glisienkonsentrasie.

Prosedure : Die metode van Mosesson & Sherry (1966), soos aangepas deur Lütjens et al. (1985) is gebruik. Die gevriesde plasma (kyk 3.4.1) is by kamertemperatuur ontvries. Die fibrinogeen is twee keer gepresipiteer deur byvoeging van glisien (2.1 mol/L : SAARCHEM, Kat.no. 267 66 00). Die laaste presipitaat is hersuspendeer in 'n natriumfosfaatbuffer (0.1 mol/L Na_2HPO_4 : Riedel-de Haen AG, Kat.no. 30427 : aangesuur tot pH 6.4 deur byvoeging van 0.1 mol/L NaH_2PO_4 : Holpro, Kat.no. 78082).

Na byvoeging van dieselfde hoeveelheid volume water, is die oplossing oornag by 4°C gelaat om alle koue onoplosbare β -globuliene te verwyder. Die oplossing is daarna teen 3660 rpm (2823 g) vir 20 minute gesentrifugeer. Die fibrinogeen-bevattende supernatant is daarna met etanol tot 'n konsentrasie van 8 % (volume/volume) behandel. Die oplossing is by 3660 rpm (2823 g) vir 10 minute gesentrifugeer en die supernatant weggegooi. Die geïsoleerde produk is by -72°C bewaar.

Die stolvermoë van die geïsoleerde fibrinogeen is bepaal deur die hoeveelheid fibrienvesels as die fraksie van onoplosbare materiaal voor te stel (Carr & Hermans, 1978). Dit word bewerkstellig deur die optiese digtheid wat na presies 3 minute tydens fibrienvorming (na byvoeging van 100 μL 3 IE/mL trombien : Behring, Kat.no. OSGE) ontwikkel, in kuvette met 'n ligweg van 1cm, te bepaal (Carr & Hermans, 1978 : Mihalyi, 1991). Alle monsters word vooraf vir 10 minute by 37°C geïnkubeer. Die oplosmiddel in

hierdie geval was die fosfaatbuffer (pH 6.4) wat vir die isolasie berei is, waarby kalsiumchloried (SAARCHM, Kat. no. 152934) tot 'n finale kalsiumkonsentrasie van 25 mM/L bygevoeg is. Die fosfaatbuffer sonder fibrinogeen is as blanko gebruik. Die ongestolde monster dien as referensie. Die stolvermoë word as 'n persentasie van die aanvanklike ongestolde monster uitgedruk (Gralnick et al., 1971 ; Nair & Dhall, 1991). Dit word verkry deur :

$$\text{stolvermoë (\%)} = \frac{\text{aanvanklike absorbansie}}{(\text{uiteindelijke absorbansie na 3 minute na byvoeging van trombien} - \text{aanvanklike absorbansie})} \times 100.$$

Die stolvermoë is by 'n golflengte van 630 nm bepaal (soos beskryf deur Carr & Powers, 1980).

Die konsentrasie van die fibrinogeen in oplossing is bepaal deur gebruik te maak van die optiese digtheid en $E_{1\%}/\text{cm} = 15.06$ by 280 nm (Mihalyi, 1991). Die konsentrasie is aangepas tot 10 mg/mL deur verdunning met die oplosmiddel. Die KvV vir die metode was 1.62 %.

3.5.2.5 Weefselplasminogeenaktiveerder-antigeen (tPA-Ag)

tPA-Ag in plasma is met 'n dubbelteenliggaam-metode (Imulyse tPA, Biopool, Swede) bepaal. Die metode is uniek omdat dit gebruik maak van normale sowel as versadigingsteenliggame as kontrole vir tPA-spesifisiteit (ISAC = Immunological Specificity and Accuracy Control). Die ELISA-metode saam met ISAC sluit die probleem van foutiewe positiewe resultate, soos soms verkry word wanneer daar net met ELISA gewerk word, uit. Die mikrotoetsplate is uitgevoer met teenliggame wat teen menslike tPA gemik is. Die een putjie is gevul met normale bok IgN (immunoglobulien-N : N-putjie) en die ander met bok anti-menslike-tPA IgG (immunoglobulien-G : A-putjie). By elke twee aangrensende putjies is plasma vanaf dieselfde monster gevoeg. Gedurende die inkubasietydperk bind die tPA-

antigeen in die monster aan die anti-tPA-IgG in die N-putjie, maar tPA-binding in die A-putjie word verhoed deur bok anti-menslike-tPA IgG. Die verskil in respons tussen die twee putjies is hoogs tPA-spesifiek. Konjugaat (peperwortel peroksidase gemerkte anti-tPA IgG) is by elke putjie gevoeg en bind aan die vry antigeniese determinante op die tPA-molekule. Na 'n inkubasie van twee uur is die ongebonde konjugaat uitgewas. Die hoeveelheid ensiem peroksidase wat in die putjie oorbly is eweredig aan die hoeveelheid tPA-Ag in die monster. 'n Peroksidase-substraat is bygevoeg en is katalities geoksideer deur die ensiem-peroksidase. Die hoeveelheid kleur wat ontwikkel het, is proporsioneel aan die hoeveelheid tPA-Ag wat aan die wande van die putjie gebind het en is by 'n golflengte van 492 nm met 'n mikrotoetsplaatleser (Uniskam II, Labsystems, Helsinki, Finland) gemeet. Die r^2 -waarde vir die metode was 0.972. Die intertoetsakkuraatheid vir die metode was 10 %. Normaalwaardes vir tPA-Ag word aangegee as tussen 3 en 10 ng/mL (Imulyse tPA, Biopool, Umeå, Swede).

3.5.2.6 Plasminogeenaktiveerderinhibeerder-1 (PAI-1)

PAI-1 aktiwiteit in plasma is met die indirekte ensiematiese metode van Chmielewska et al. (1993), (Spectrolyse/pL, Biopool, Umeå, Swede), gemeet. Die eerste stap behels die byvoeging van 'n sekere hoeveelheid tPA, wat dan met die PAI-1 in die monster bind. Die pH van die monster word dan na omtrent 5 verlaag om alle α_2 -antiplasminien aktiwiteit wat moontlik met die bepaling van tPA mag inmeng, te vernietig. In die tweede stap word die oorblywende tPA-aktiwiteit deur die byvoeging van 'n mengsel van Glu-plasminogeen, polilisien en chromogeniese substraat, by 'n neutrale pH gemeet. Die oorblywende tPA in die monster kataliseer die omsetting van Glu-plasminogeen na plasminien, wat op sy beurt die chromogeniese substraat hidroliseer. Die intensiteit van die kleur wat

ontwikkel is proporsioneel aan die hoeveelheid tPA in die monster en word by 405 nm met 'n mikrotoetsplaatleser (Uniskam II, Labsystems, Helsinki, Finland) gemeet. Die hoeveelheid PAI-1 in die monster is dan die verskil tussen die hoeveelheid tPA bygevoeg en die gemete hoeveelheid tPA. Die KvV vir die metode was 1.76 %. Die intertoetsakkuraatheid was 7.48 %. Normaalwaardes word deur die vervaardigers van die toetsstel aangegee as 5.5 E/mL (Spectrolyse/pL, Biopool, Umeå, Swede).

3.5.3 Glukose en geglikosileerde proteïene

3.5.3.1 Geglikosileerde fibrinogeen (Fgk)

'n Voorafbepaalde konsentrasie (10 % fibrinogeen in oplossing) van die geïsoleerde fibrinogeen, wat na die analise in afdeling 3.5.2.4 oorgebly het, is vir die bepaling van geglikosileerde fibrinogeen gebruik. Elke monster is vir 2 ure by 120°C met 2 mL oksaalsuur (1 mol/L : MERCK, Kat.no. 495) geïnkubeer. Na hierdie tydperk is die monsters toegelaat om af te koel. 1 mL Trichloorasynsuur (TCA : SAARCHEM, Kat.no. 611 050) van 'n oplossing van 20 % TCA, is by die inkubaat gevoeg. Die monsters is vir 10 minute teen 3660 rpm (2823 g) gesentrifugeer. Die supernatant is in twee verdeel en in verskillende buise geplaas. Daar word afsonderlik 0.25 mL tiobarbituraatsuur (TBS : Sigma, Kat.no. T5500 : van 'n versadigde oplossing) in buis een en 0.25 mL gedistilleerde water in buis 2, geplaas. Die monsters is vir 50 minute by 40°C geïnkubeer, waarna die absorbansie by 443 nm (die absorpsiemaksimum van die produk 5-hidroksiemetielfurfuraldehyd, 5-HMF) met die spektrofotometer (Spektrofotometer, CE 393, Cecil Series 2, Cambridge) bepaal is. In elke geval dien die waterinkubaat as blanko vir die afsonderlike monster (Dolhofer & Wieland, 1979 ; Flückiger & Winterhalter, 1976 ; Lütjens et al., 1985).

'n Reeks standarde van verskillende konsentrasies D(+) fruktose (SAARCHEM , Kat.no. 247 500) is saam met die monsters behandel, om 'n standaardkromme te verkry. Die konsentrasie geglikosileerde fibrinogeen van die monsters is van hierdie standaardkromme afgelees. Die KvV vir die metode was 1.6 %.

3.5.3.2 Geglikosileerde hemoglobien (HbA₁)

Achtergrond : Die bepaling van geglikosileerde hemoglobien (HbA₁) is met 'n chromatografiese metode (BM, Kat.no. 575 453) gedoen. Hemoglobien in gehemoliseerde heelbloed is aan 'n ioonuitruiler gebind en as 'n fraksie geskei. Hierdie fraksie HbA₁ is uitgedruk as 'n persentasie van die absorpsie van die totale konsentrasie hemoglobien. Die labiele HbA₁ is gedegradeer deur 'n eliminator in die hemoliseringsreagens.

Prosedure : Bloed wat in EDTA-behandelde (EDTA, SAARCHEM, Kat.no. 223 60 00) buise geberg is, is vir die uitvoering van hierdie analise gebruik. Die bloed kan vir twaalf dae by +2 tot +8°C gestoor word. 200 µL van 'n hemoliseringsreagens wat uit boraatbuffer (0.7 mol/L, pH 7.0) en oplosmiddel bestaan, is by 50 µL van die monster gevoeg. Hierdie mengsel is toegelaat om vir ten minste 30 minute te staan, waartydens dit herhaaldelik geskud is. Hierdie hemolisaat is vir drie dae by +2 tot +8°C stabiel.

Oplossing 2 (fosfaatbuffer, 40 mmol/L, pH 6.7) asook die kolom wat deur die toetsstel voorsien is, is vooraf (ten minste 15 minute) teen 23°C gestabiliseer deur gebruik te maak van 'n konstante-temperatuurrak (BM, HbA₁ Rak, Kat. no. 611948). 'n Versamelbuis is onder die kolom geplaas en die kolom voorberei vir die toevoeging van die monster. 50 µL hemolisaat, gevolg deur 200 µL oplossing fosfaatbuffer, is op die kolom geplaas. Die kolom begin vloei. Die eerste eluaat word weggegooi. 4.00 mL oplossing 2 is nou weer op die kolom geplaas en is hierdie

eluaat opgevang en die absorbansie binne 5 minute by 415 nm bepaal. 4.00 mL oplossing 3 (400 mmol/L NaCl) is nou by die kolom gevoeg en 'n tweede reeks eluaat verkry, waarvan die absorbansie by dieselfde golflengte bepaal is. 'n Normaalstandaard vir akkuraatheidsbeheer (BM, HbA₁ Control normal, Kat.no. 575 461) is saam met elke stel bepalings gedoen.

Die persentasie geglikosileerde hemoglobien is bepaal deur gebruik te maak van die volgende vergelyking :

$\% \text{HbA}_1 = (A_1 / (A_1 + (4.75 \times A_2))) \times 100$, met

A₁ = die absorbansie van die eerste eluaat, en

A₂ = die absorbansie van die tweede eluaat.

Die KvV vir die metode was 3.4 %. Normaalwaardes vir HbA₁ word aangegee as tussen 5 - 8 % HbA₁, met > 10 % HbA₁ as swak glukemiese beheer (Schnek & Schroeder, 1961).

3.5.3.3 Fruktosamien

Fruktosamien is met behulp van die nitro-blou tetrasoliummetode (NBT : BM, Kat.no. 1 054 686) bepaal. Die fruktosamien in die monster is na die enol-vorm omgesit deur byvoeging van 'n alkaliese medium (pH 10.3). Hierdie enol-vorm van die fruktosamien reduceer NBT na formazaan. Die kleur wat ontwikkel is proporsioneel aan die fruktosamienkonsentrasie in die monster. Alle berekenings is teen 'n standaard (Precimat^R Fructosamien, Kat.no. 1 098 993) gedoen.

Prosedure : 0.05 mL dubbelgedistilleerde water en 1.00 mL reagensoplossing (BM, Kat.no. 1 298 194) is saam met die serummonster in 'n proefbuis gepipetteer. Om 'n reagensblanko (RB) saam te stel, is slegs 0.05 mL dubbelgedistilleerde water in 'n buis gepipetteer. Die oplossings is goed gemeng en vir presies 10 minute by 37°C geïnkubeer. (Dieselfde prosedure word gevolg vir die standaardmonster : BM, Precimat^R Fruktosamien, Kat.no 1

098 993). Die absorbansie is by 550 nm afgelees. Na presies 5 minute is die absorbansie van elke monster weer eens afgelees.

Teoretiese berekening : Die absorbansieverskil tussen die eerste en tweede lesing ($A_2 - A_1 = G$) is bereken. Die konsentrasie fruktosamien kan dan soos volg bereken word :

$Y = \text{konsentrasie Precimat Fruktosamien}$ (1)

$Z = (G_{\text{monster}} - G_{\text{RB}}) / (G_{\text{standaard}} - G_{\text{RB}})$ (2)

Konsentrasie fruktosamien = $Y \times Z$ [$\mu\text{mol/L}$] (3)

Die KvV vir die metode was 5.7 %. Normaalwaardes vir fruktosamien word aangegee as onder 285 $\mu\text{mol/L}$ (BM, 1990) en tussen 200 en 300 $\mu\text{mol/L}$ deur die SAIMN (1991). Vir akkuraatheidsbeheer is 'n eksterne standaard (BM, Precinorm^R Fructosamien, Kat.no. 1 098 985) gebruik.

3.5.3.4 Glukose (Glc)

Serumglukose is bepaal met behulp van die GOD-PAP-metode (BM, Kat.no. 166 391). Dit is 'n ensiematies-kolorimetriesse metode, wat die oksidasie van glukose na glukoonsuur en waterstofperoksied deur glukose-oksidasie behels. Waterstofperoksied reageer in die teenwoordigheid van peroksidasie met fenol en 4-aminofenasoon om 'n kleurkompleks te vorm wat eweredig is aan die hoeveelheid glukose in die monster. Die intensiteit van die kleurkompleks word by 505 nm gemeet. Die KvV vir die metode was 0.97 %. Normaalwaardes vir serumglukose word aangegee as tussen 3.0 - 6.0 mmol/L vastende (SAIMN, 1991).

3.5.3.5 Veneuse bloedglukose (Glv)

Bloedglukose is ook op 'n tweede wyse bepaal, wat vinnige betroubare resultate beskikbaar gestel het en gebruik is om die vastende staat te bevestig en in diabetes mellitus pasiënte om hulle dadelik 'n aanduiding van hulle metaboliese beheer te gee. 'n Glukometer

(Refleksiefaktorfotometer-II, Model 5529, Ames Laboratories, V.S.A.) met Glukostix-reagensstroke (Ames, Kat.no. 2627H) is gebruik. Die Glucostix-reagensstrook bevat glukose-oksidase wat die glukose in die monster na glukoonsuur oksideer. Die neweproduk, peroksied, veroorsaak 'n kleurreaksie met die orto-tolidien op die stroke, waarvan die intensiteit eweredig aan die glukosekonsentrasie is. Die KvV vir die metode was 3.6 %.

3.5.4 Serumproteïene

3.5.4.1 Totale proteïen (TP)

Die serum totale proteïen is met behulp van die Biuret-metode (BM, Kat.no. 124 281) bepaal. Dit is 'n kolorimetriese metode waarin die proteïene 'n gekleurde kompleks met koper-(III)-ione in 'n alkaliese medium vorm. Die KvV vir die metode was 1.47 %. Normaalwaardes vir TP word aangegee as tussen 55-83 g/L (SAIMN, 1991).

3.5.4.2 Albumien (Alb)

Die serumalbumien is met behulp van die Broomkresol-groen metode (BM, Kat.no. 263 869) bepaal. Dit behels die vorming van 'n albumien/broomkresol-groen kompleks by pH 4.2, wat fotometries bepaal kan word. Die KvV vir die metode was 5.3 %. Normaalwaardes vir albumien word aangegee as tussen 30-55 g/L (SAIMN, 1991).

3.5.5 Elektronmikrografie

Geïsoleerde fibrinogeen in fosfaatbuffer (soos reeds beskryf) is vir die neem van elektronmikrograwe gebruik. Alle monsters is dieselde manier behandel. 'n Gespesifiseerde hoeveelheid van die fibrinogeenoplossing is op die roostertjie (G 200 TT, Cu/Pd) van die elektronmikrograaf wat met Formvar bedek is, geplaas. 'n Vasgestelde konsentrasie trombien (Behring, Kat.no. OSGE) is op die fibrinogeenoplossing gedrup, wat toegelaat is om

volledig teen kamertemperatuur te stol. 2 % uranielasetaat (EM Scope, C024, Londen) vir negatiewe kleuring is op die roostertjie gedrup. Die roostertjie is geklad en gedroog. Hantgan et al. (1980) het aangetoon dat die toevoeging van uranielasetaat die polimeriseringsreaksie ten volle staak.

Die monsters is vervolgens op 'n Phillips CM10 elektronmikrograaf teen 'n spanning van 80 kV by 'n reeks van vergrotings waargeneem.

3.5.6 Kwalitatiewe beheer (SDS-PAGE)

Om die kwalitatiewe eienskappe van die geïsoleerde fibrinogeen te bepaal, is gebruik gemaak van natriumdodesielsulfaat poliakrielamied jelelektroferese (SDS-PAGE) onder nie-reducerende asook reducerende omstandighede.

Die jel is soos volg saamgestel :

Prop (5 % AKA):

12.5 mL 0.5 M Tris (SAARCHM, Kat.no. 6116 000)
0.5 mL 10 % SDS (SIGMA, Kat.no. 1028 685)
50 µL TEMED (SAARCHM, Kat.no. 5985 900)
5 g APS (SAARCHM, Kat.no. 1123 760)
8.40 g 30 % AKA (SAARCHM, Kat.no 102 330)

Skei-jel (5 % AKA):

12.5 mL 30 % AKA
0.75 mL 10 % SDS
400 µL TEMED
18.75 mL Tris (pH 8.8)
11.4 mL Water
500 µL 10 % APS

Pakjel :

0.5 M Tris (pH 6.8)
0.50 mL 10 % SDS

7.29 mL 30 % AKA
50 µL TEMED
24.83 mL Water
633 µL 20 % APS

Elektrodebuffer :

30.28 g Tris
142.63 g Glisien (SAARCHM, Kat.no. 267 66 00)
Maak tot 1 L met water
Gebruik 1:1 met water

Fikseringsmiddel :

1 L Metanol (SAARCHM, Kat.no. 4164 000)
0.2 L Asynsuur (SAARCHM, Kat.no. 102 102)
0.8 L Water

Ontkleuringsmiddel :

100 mL Metanol
140 mL Asynsuur
60 mL Gliserol
Maak tot 2.00 L met water

Die monsterbuffer het soos volg uitgesien :

125 mmol/L Tris-HCl (pH 6.8)
2 % SDS
10 % Gliserol (SAARCHM, Kat.no. 267 648)
0.001 % BFB (SAARCHM, Kat.no. 143 750)
0.5 % DTT (SIGMA, Kat.no. D-0632)

Die gegewe konsentrasies geld vir na byvoeging van die proteïenmonster.

Die jel is vir ten minste twee uur voordat dit aan die elektrodebuffer onderwerp is, na gieting, gelaat om behoorlik af te koel. Die jel is vir 'n verdere tydperk in die elektrodebuffer gelaat, waartydens konstante verkoeling van die sisteem toegelaat is.

80 μ L Monsterbuffer is gemeng met 10 μ L van elke kalibrasieproteïen (BM, Combithek^R, Kat.no. 1317 474). Die fibrinogeenmonster is in 'n verhouding van 1:1 met die monsterbuffer aangemaak. 'n Fibrinogeenstandaard (BI, Test Fibrinogen, Kat.no. OTXF 40/41) is op dieselfde wyse aangemaak.

Stap 2 : DTT is by die monsters gevoeg indien redusering verlang is.

Stap 3 : Alle monsters is vir 10 minute by 95 - 100°C gekook, om totale reduksie van alle proteïene te verseker.

Stap 4 : Die monsters is toegelaat om tot kamertemperatuur af te koel.

Stap 5 : Na byvoeging van die monsters, is die jel teen 'n vertikale gradiënt tussen 5 - 10 °C teen 150 V konstant, vir ongeveer 75 minute, geloop.

Nadat die BFB driekwart deur die skeijel beweeg het, is die jel met Coomassie Blou R250 (SAARCHM, Kat.no.1663 850) gekleur. Na kleuring van ongeveer 8 uur is die jel ontkleur, waartydens dit konstant geskud is.

Resultaatverwerking :

Die migrasie-afstand van elke band is gemeet. Die algehele lengte van die jel is ook bepaal. Die logaritme van die molekulêre gewig van elke kalibrasieproteïen is teen die R_f -waarde (verhouding van migrasielengte tot die totale lengte) uiteengesit. 'n Liniêre kalibrasiekurwe is dus verkry. Die proteïene in die monsteroplossing met onbekende molekulêre massa se R_f -waarde kan ook bereken word en kan hierdie waarde gebruik word om die afsnitpunt op die y-as (Log Mw) te bepaal.

3.5.7 Algemene voorsorgmaatreëls

Bloedmonsters is sonder stase getrek, om aktivering van die stollings- en fibrinolitiese ensieme te voorkom. Om kontaminasie te vermy, veral tydens die bepaling van die stollingsfaktore, is óf wegdoenbare plastiese proefbuise, óf glasproefbuise wat na 'n was- en spoelproses, ook herhaaldelik met dubbelgedistilleerde water gespoel is, gebruik. Alle reagentiese is ook met dubbelgedistilleerde water aangemaak.

Die koëffisiënt van variasie (KvV) van die metode is vir elke reeks bepaling bereken om 'n aanduiding van die akkuraatheid en herhaalbaarheid van die metode te verkry. Herhaalde metings ($n = 5 - 10$) is telkens op 'n spesifieke serum- of plasmamonster of die kontroleserum of -plasma uitgevoer. Die KvV is bereken as :

$\text{standaardafwyking} / \text{gemiddeld} \times 100,$

en word as 'n % uitgedruk.

Die desimale punt en nie die komma nie, is deurgans gebruik.

3.6 Statistiese verwerkings

Alle statistiese verwerkings is met behulp van die StatSoftTM CSS : STATISTICA rekenarpakket (1991) uitgevoer. Betekenisvolle verskille tussen groepe is bepaal met Student-t-toetse. Pearson-korrelasiekoëffisiënte is tussen die verskillende veranderlikes bepaal. Gepaarde-t-toetse is vir veranderings binne die groepe uitgevoer. Student-Newman-Keuls-toetse en Tukey-Student-toetse is uitgevoer om veranderings tussen groepe aan te toon. 'n Stapsgewyse meervoudige liniêre regressie-analise is tussen veranderlikes binne 'n groep uitgevoer. Om die moontlike

meervoudige liniêre regressie-analise is tussen veranderlikes binne 'n groep uitgevoer. Om die moontlike effek wat ouderdom op die gemete veranderlikes in hierdie studie kon gehad het, uit te skakel, is 'n variansie-analise met ouderdom as kovariant uitgevoer. 'n P-waarde van < 0.05 is as statisties betekenisvol beskou.

HOOFSTUK 4

RESULTATE

4.1 VERGELYKENDE STUDIE

4.1.1 Inleiding

Die gemiddelde met standaardafwykings van die ouderdomme en sekere antropometriese veranderlikes van die drie groepe proefpersone is saam met persoonlike besonderhede in tabel 4.1 opgesom.

Tabel 4.1 Persoonlike besonderhede van die kontrole, hiperlipidemiese en diabetiese groepe

VERANDERLIKE	Proefgroep	KONTROLE	DIABETES MELLITUS	HIPERLI= PIDEMIES
GESLAG	Manlik	6	13	5
	Vroulik	12	5	16
OUDERDOM (JARE)	Reikwydte	22 - 49	49 - 77	17 - 66
	GEM	29.2	62.1	39.3
	SA	8.9	10.0	14.3
Sistoliese bloeddruk (mmHg)	GEM	114.7	133.3	125
	SA	10.7	12.4	20.1
Diastoliese bloeddruk (mmHg)	GEM	72.4	82.8	78.8
	SA	9.0	9.0	14.4
ROOK	% van groep	5.5	GEEN	9.5
	Jare	3.5	GEEN	3.5
AKTIWITEIT (%/groep)	Onaktief	33.3	16.67	23.8
	Matig	44.5	72.2	71.4
	Aktief	22.2	11.13	4.8
Familiële geskie- denis van KHS	(%/groep)	22.2	5.6	61.9
Mediese geskiedenis (%/groep)	Angina	GEEN	16.7	14.3
	Omleiding	GEEN	5.6	GEEN
	Miokardiale infarksie	GEEN	GEEN	4.8
	Trombose	GEEN	GEEN	19
	Xantoma	GEEN	GEEN	9.5
	Arcus	GEEN	GEEN	14.3
Gewig (kg)	GEM	73.4	89.7	78.0
	SA	15.9	13.6	19.2
LMI	GEM	24.3	31.1	28.3
	SA	3.5	2.7	6.2
Medikasie (%/groep)	LIPMED	GEEN	GEEN	33.3
	DMED1	GEEN	66.67	GEEN
	DMED2	GEEN	33.33	GEEN
	Voorbe= hoedmiddels	16.70	GEEN	4.80

DMED1 = gebruik slegs een tipe diabetiese medikasie

DMED2 = gebruik twee tipes diabetiese medikasie

LIPMED = gebruik cholesterolverlagende medikasie

Daar was nie 'n gelyke hoeveelheid mans en vrouens in die afsonderlike proefgroepe nie. Die gemiddelde ouderdom van die drie proefgroepe het verskil, aangesien geen afparing betreffende ouderdom uitgevoer is nie. Daar was geen betekenisvolle verskille in bloeddruk van die drie groepe nie. In die hiperlipidemiese groep het 9.5 % van die totale groep gerook, in die kontrolegroep 5.5 % en geen persone in die diabetiese mellitusgroep het gerook nie. Die mediese geskiedenis van die drie groepe het ingepas by hul omstandighede, en skep die voorkoms van trombose, angina, MI, xantoma en arcus by die hiperlipidemiese pasiënte en angina by die diabetes mellituspasiënte 'n goeie beeld van die risiko wat met beide hierdie metaboliese toestande gepaard gaan. Die tipe medikasie wat gebruik is, het by die omstandighede van elke groep aangepas. Die LMI van die kontrolegroep was laer as beide die hiperlipidemiese en diabetes mellituspasiënte.

4.1.2 Serumlipiede

Die gemiddelde met standaardafwykings vir die serumlipiede van die drie afsonderlike proefgroepe is in tabel 4.2 opgesom.

Tabel 4.2 Vergelykings van serumlipiede van die drie groepe

VERANDERLIKE		KONTROLE	DIABETES MELLITUS	HIPER- LIPIDEMIES
TC (mmol/L)	GEM	4.95 @ #	5.79 # *	9.46 @ *
	SA	0.80	1.19	1.07
LDL-C (mmol/L)	GEM	3.40 @ #	4.49 # *	7.95 @ *
	SA	0.76	1.24	1.06
HDL-C (mmol/L)	GEM	1.15	0.98	1.33
	SA	0.27	0.24	0.90
TG (mmol/L)	GEM	0.81 * #	2.24 #	1.81 *
	SA	0.30	1.00	1.15

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol;
 (p < 0.05); Student-t-toets.
 GEM = Gemiddeld; SA = Standaardafwyking

In die NIDDM-groep was TC, LDL-C asook TG statisties betekenisvol hoër as in die kontrolegroep (5.79 ± 1.19 mmol/L teenoor 4.96 ± 0.80 mmol/L : 4.49 ± 1.24 teenoor 3.40 ± 0.76 mmol/L : 2.24 ± 1.00 mmol/L teenoor 0.81 ± 0.30 mmol/L). Die resultate vergelyk goed met resultate wat deur Racciah (1993) vir TC, Lyons et al. (1986) vir LDL-C en Juhan-Vague (1989) vir TG gerapporteer word. Die HDL-C vir die diabetes mellitus pasiënte (0.98 ± 0.24 mmol/L) was egter in hierdie studie baie laer as die gemiddelde waarde van 1.34 ± 0.21 mmol/L wat deur Lyons (1986) gerapporteer is. In die hiperlipidemiese groep was TC, LDL-C en TG betekenisvol hoër as in die kontrolegroep (9.46 ± 1.07 mmol/L teenoor 4.95 ± 0.80 mmol/L : 7.95 ± 1.06 mmol/L teenoor 3.40 ± 0.76 mmol/L : 1.81 ± 1.15 teenoor 0.81 ± 0.30 mmol/L). Racciah (1993) rapporteer gemiddelde waardes van 1.33 ± 0.38 mmol/L vir TG en 7.89 ± 0.94 mmol/L vir TC. TC en LDL-C was ook betekenisvol hoër in die hiperlipidemiese groep as in die NIDDM-groep in hierdie studie. Volgens Rossouw et al. (1985) val die diabetes mellitusgroep se TC tussen die onderste 40e en 50e persentiel van die bevolking. Die hiperlipidemiese groep val in die boonste 5e persentiel van die bevolking. Die afsnitpunt vir LDL-C word deur die SAIMN (1990) as < 4.9 mmol/L vir persone bo 30 jaar aangegee. Die hiperlipidemiese pasiënte se LDL-C-vlakke was dus baie verhoog. Verhoogde TG-vlakke in diabetes mellitus pasiënte is deur Juhan-Vague (1989) gerapporteer. Racciah (1993) het ook verhoogde TG-vlakke in hiperlipidemiese pasiënte gerapporteer.

4.1.3 Stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes

Die gemiddelde met standaardafwykings vir die stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes van die drie afsonderlike proefgroepe is in tabel 4.3 opgesom.

Tabel 4.3 Vergelykings van stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes van die drie groepe

VERANDERLIKE		KONTROLE	DIABETES MELLITUS	HIPER- LIPIDEMIES
Fibrinogeen (g/L)	GEM	2.87 #*	3.83 #	3.50 *
	SA	0.60	0.84	0.92
Kompaksie (%)	GEM	73.16 #*	53.52 #	40.17 *
	SA	6.89	19.08	15.92
LMV (Dalt/cm x 10E+12)	GEM	20.02 #*	13.03 #	13.66 *
	SA	0.97	1.15	1.45
Stolbaarheid (%)	GEM	54.41 #*	68.60 #	66.52 *
	SA	6.27	9.30	9.09
tPA-Ag (ng/ml)	GEM	5.92 #@	17.81 # *	8.82 @ *
	SA	2.83	7.10	4.91
PAI-1 (E/ml)	GEM	9.84 #	22.52 #	13.65
	SA	9.17	12.64	9.71
PAI-1 x tPA(Ag)	GEM	61.2 #	475.0 #	153.5
	SA	65.6	371.1	202.0

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol;

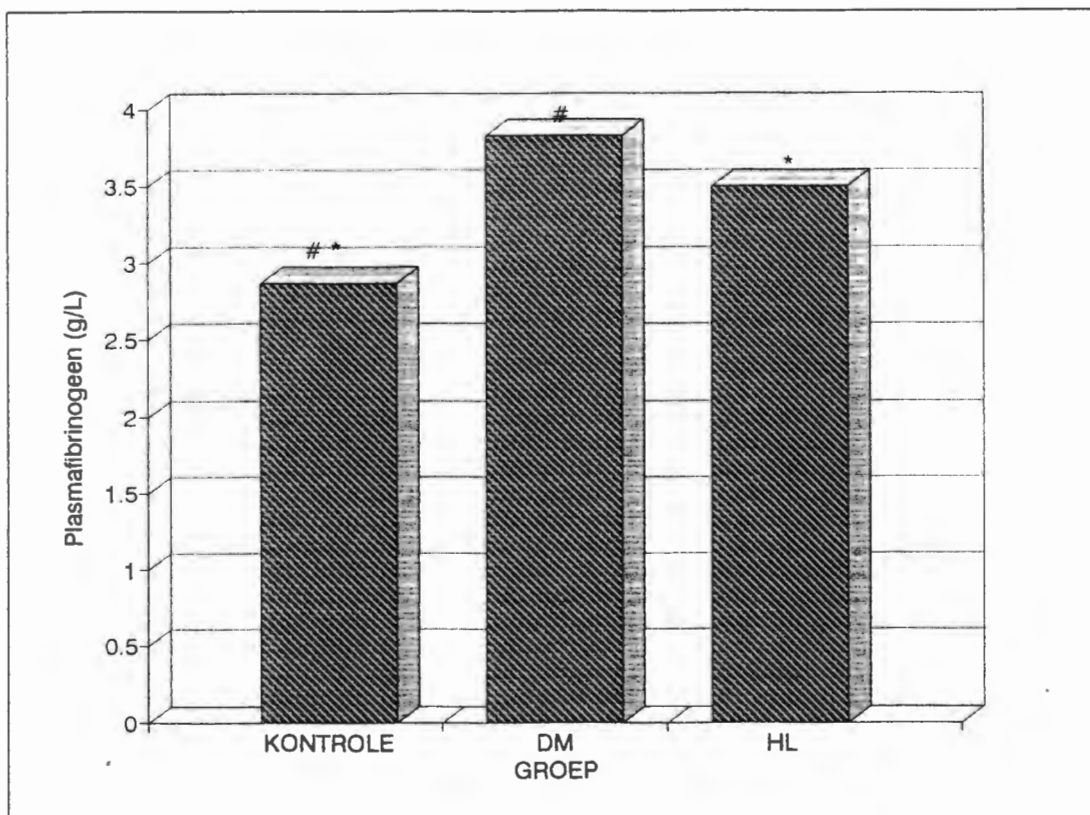
(p < 0.05); Student-t-toets.

GEM = Gemiddeld; SA = Standaardafwyking

LMV = lengte/massa-verhouding van vesels in fibrienstolsel

Kompaksie = saampersbaarheid van fibrienstolsel

Fibrinogeen (3.83 ± 0.84 g/L teenoor 2.87 ± 0.60 : kyk figuur 4.1), kompaksie van die fibrienstolsel (53.52 ± 19.08 % teenoor 73.16 ± 6.89 %), lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($13.03 \pm 1.15 \times 10^{12}$ Dalt/cm teenoor $20.02 \pm 0.97 \times 10^{12}$ Dalt/cm), stolbaarheid van fibrinogeen (68.60 ± 9.30 % teenoor 54.41 ± 6.27 %), tPA(Ag) (17.81 ± 7.10 ng/mL teenoor 5.92 ± 2.83 ng/mL : kyk figuur 4.2), PAI-1-aktiwiteit (22.52 ± 12.64 E/mL teenoor 9.84 ± 9.17 E/mL : kyk figuur 4.2) asook die produk van PAI-1-aktiwiteit en tPA(Ag) (475.0 ± 371.1 teenoor 61.2 ± 65.6) in die NIDDM-groep het betekenisvol verskil van die veranderlikes in die kontrolegroep. In die hiperlipidemiese groep het fibrinogeen (3.50 ± 0.92 g/L : kyk figuur 4.1), kompaksie van die fibrienstolsel (40.17 ± 15.92 %), lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($13.66 \pm 1.45 \times 10^{12}$ Dalt/cm : kyk figuur 4.2), stolbaarheid van fibrinogeen (66.52 ± 9.09 %) asook tPA(Ag) (8.82 ± 4.91 ng/mL) betekenisvol verskil van die kontrolegroep. tPA(Ag) het in die NIDDM-groep betekenisvol verskil van die hiperlipidemiese groep (17.81 ± 7.10 ng/mL teenoor 8.82 ± 4.91 ng/mL).

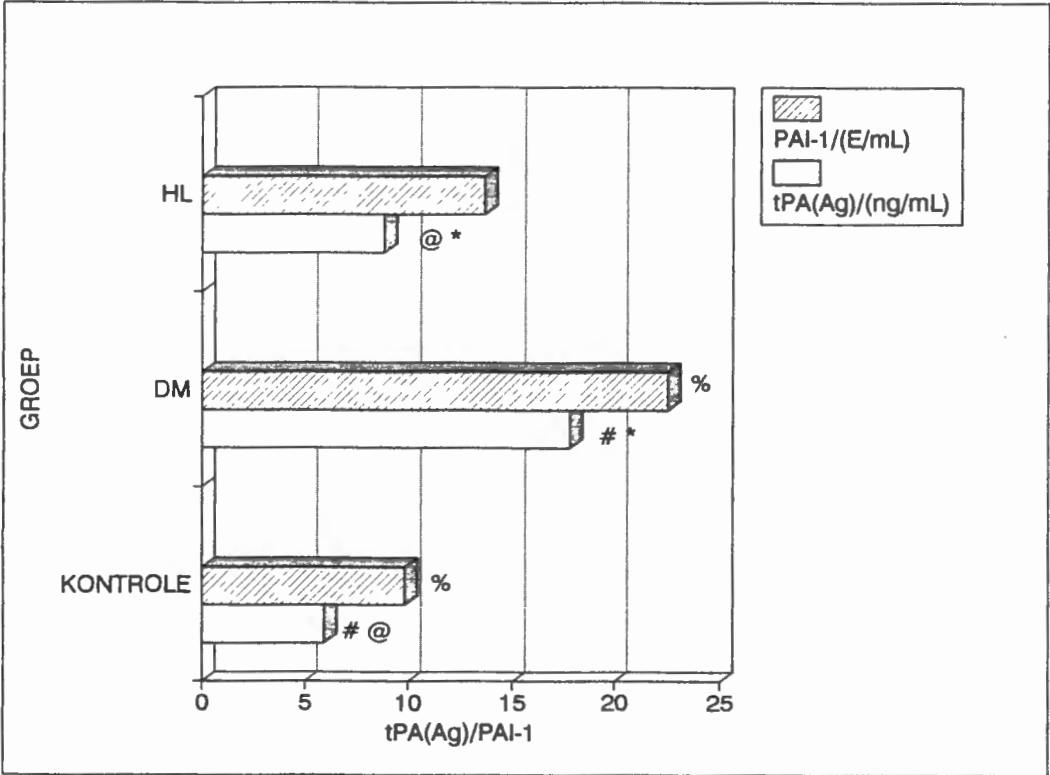


Figuur 4.1 Fibrinogeenkonsentrasies van die drie afsonderlike proefgroepe.

Die fibrinogeenvlakke van die diabetes mellitus- en hiperlipidemiese pasiënte was verhoog as dit met gemiddelde waardes van die Gothenbergstudie (3.30 g/L ; Wilhelmsen et al., 1984), "Northwick Park Heart"-studie (2.90 g/L ; Meade et al., 1986) en Leighstudie (3.00 g/L ; Stone & Thorpe, 1985) vergelyk word. Die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels van die hiperlipidemiese en diabetes mellituspasiënte, asook van die kontrolegroep, vergelyk goed met die resultate wat deur Blombäck et al. (1992) gerapporteer word (23.9 ± 2.5 Da/cm $\times 10^{12}$ vir kontroles, 25.5 ± 3.7 Da/cm $\times 10^{12}$ vir persone met hoë fibrinogeenvlakke). Die stolbaarheid van fibrinogeen van die diabetes mellituspasiënte ondersteun die resultate van Gunnarson (1980), wat rapporteer dat diabetes mellitus met verhoogde stolbaarheid van fibrinogeen gepaard gaan, maar is in teenstelling met die resultate van Mc Verry et al. (1981), wat 'n afname in die stolbaarheid van fibrinogeen in diabetes mellituspasiënte aangetoon het. Nair et al.

(1991) het 'n gemiddelde kompaksie van fibrienstolsels van 26 % in gesonde persone gerapporteer, wat baie laer is as die gemiddelde waarde van die kontrolegroep in hierdie studie (73.16 ± 6.89 %) en lê die oorsaak moontlik in die voorbereiding, bewaring en hantering van plasmamonsters, wat volgens Nair et al. (1991) 'n groot invloed op resultate mag hê.

Juhan-Vague (1989) rapporteer gemiddelde waardes vir PAI-1-aktiwiteit van 7.7 ± 3.2 E/mL vir gesonde en 21.8 ± 12.4 E/mL vir diabetes mellitus pasiënte. Raccach (1993) rapporteer 'n gemiddelde waarde vir PAI-1-aktiwiteit van 13.4 ± 8 E/mL vir hiperlipidemiese persone. In hierdie studie het resultate dieselfde neiging getoon (kyk figuur 4.2). Gandrille et al. (1990) het tPA(Ag)-waardes van onderskeidelik 15.7 ± 8.4 ng/mL vir diabetes mellitus pasiënte en 6.6 ± 2.9 ng/mL vir kontroles gerapporteer, wat goed ooreenstem met die resultate van hierdie studie. Die feit dat hiperlipidemie tPA(Ag) nie betekenisvol verhoog nie, word deur Jansson et al. (1991) ondersteun.



Figuur 4.2 tPA(Ag)- en PAI-1-konsentrasies in die afsonderlike drie proefgroepe.

4.1.4 Glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene.

Die gemiddelde met standaardafwykings vir die glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene van die drie afsonderlike proefgroepe is in tabel 4.4 opgesom.

Tabel 4.4 Vergelykings van glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene van die drie groepe

VERANDERLIKE		KONTROLE	DIABETES MELLITUS	HIPER- LIPIDEMIES
Glukose (mmol/L)	GEM	3.82 #	6.25 # *	3.82 *
(kapilêre metode)	SA	0.65	1.89	0.67
Glukose (mmol/L)	GEM	----	9.12	----
(serum)	SA		2.37	
Fruktosamien (umol/L)	GEM	----	334.0	----
	SA		106.4	
FGK (umol/100mgFib)	GEM	0.82 #	1.16 # *	0.90 *
	SA	0.07	0.19	0.06
HbA1 (%)	GEM	6.59 #	9.85 # *	6.67 *
	SA	0.63	2.25	0.56
TP (g/L)	GEM	66.96 #	80.28 # *	71.43 *
	SA	9.05	5.67	11.22
Albumien (g/L)	GEM	51.8 #	48.48 #	52.03
	SA	3.54	4.07	9.08

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol;

($p < 0.05$); Student-t-toets.

GEM = Gemiddeld; SA = Standaardafwyking

FGK = geglikosileerde fibrinogeen

Serumglukose, geglikosileerde fibrinogeen, HbA₁ en TP was betekenisvol hoër in die NIDDM-groep as in beide die kontrole- en hiperlipidemiese groep (6.25 ± 1.89 mmol/L teenoor 3.82 ± 0.65 mmol/L en 3.82 ± 0.67 mmol/L vir Glk : 1.16 ± 0.19 μ mol/100 mg fibrinogeen teenoor 0.82 ± 0.07 μ mol/100 mg fibrinogeen en 0.90 ± 0.06 μ mol/100 mg fibrinogeen vir Fgk : 9.85 ± 2.25 % teenoor 6.59 ± 0.63 % en 6.67 ± 0.56 % vir HbA₁ : 80.28 ± 5.67 g/L teenoor 66.96 ± 9.05 g/L en 71.43 ± 11.22 g/L vir TP). Uit die glukosewaardes was dit duidelik dat beide die hiperlipidemiese en kontroleproefpersone normoglukemies was, volgens die grense wat deur die SAIMN (1990) vasgestel

is. Die diabetes mellituspatiënte was in 'n hiperglukemiese staat. Albumien was betekenisvol laer in die NIDDM-groep as in die kontrolegroep (48.48 ± 4.07 g/L teenoor 51.8 ± 3.54 g/L).

Kennedy et al. (1981) rapporteer dat diabetes mellitus gepaard gaan met verhoogde vlakke geglikosileerde proteïen. Die gemiddelde HbA₁-waarde van die diabetes mellituspatiënte (9.85 ± 2.25 %) val goed binne die grense wat vir die klassifikasie van diabetes mellitus deur Stevens (1976) opgestel is. Lütjens (1985) het gemiddelde waardes vir geglikosileerde fibrinogeen van 1.06 ± 0.16 µmol glk/100 mg fibrinogeen vir gesonde persone, en 1.30 ± 0.09 µmol glk/100 mg fibrinogeen vir diabetes mellituspatiënte gerapporteer.

Verlaagde albumienvlakke in diabetes mellituspatiënte is reeds in 1980 deur Dolhofer & Wieland gerapporteer. Die meganisme word op genetiese vlak beheer, en is moontlik die gevolg van glikosilering van die molekule. Albumien word ook as 'n merker vir voedingstatus (Jay et al., 1991) asook langlewendheid (Phillips et al., 1989) aangegee.

4.1.5 Proteïen-indekse

Die gemiddelde met standaardafwykings vir die proteïen-indekse van die drie afsonderlike proefgroepe is in tabel 4.5 opgesom.

Tabel 4.5 Vergelyking van proteïen-indekse van die drie groepe

VERANDERLIKE		KONTROLE	DIABETES MELLITUS	HIPER- LIPIDEMIES
TP/Alb	GEM	1.30 #	1.66 # *	1.41 *
	SA	0.23	0.15	0.35
Alb/Fbg	GEM	18.76 #	13.21 # *	15.99 *
	SA	3.80	2.88	5.00

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol;
($p < 0.05$); Student-t-toets.

GEM = Gemiddeld; SA = Standaardafwyking

Die TP/Albumien-verhouding het betekenisvol verskil tussen die diabetes mellitus- en kontrolegroep (1.66 ± 0.15 teenoor 1.30 ± 0.23), asook die hiperlipidemiese en kontrolegroep (1.41 ± 0.35 teenoor 1.30 ± 0.23). Die albumien/fibrinogeen-indeks in die NIDDM-groep was betekenisvol laer as beide die kontrole- en hiperlipidemiese groepe (13.21 ± 2.88 teenoor 18.76 ± 3.80 en 15.99 ± 5.00). Dit is duidelik dat die hiperlipidemiese groep se verhouding geneig het om laer te wees as in die kontrolegroep, alhoewel dit nie van statisties-betekenisvolle waarde was nie.

'n Verlaagde albumien/fibrinogeen-indeks in diabetes mellitus pasiënte word deur Khodabandehlou & Devehat (1990) gerapporteer. Dit is 'n aanduiding van verhoogde risiko vir hemoreologies-verwante siektes. Hiperlipidemiese pasiënte in hierdie studie het hoë vlakke albumien ($41 - 49$ g/L) volgens Gandrille (1990) se resultate aangetoon, alhoewel fibrinogeenvlakke verhoog was.

4.1.6 Basislynkorrelasies

Betekenisvolle ($p < 0.05$) korrelasiekoëffisiënte (r-waarde) van basislynwaardes van die drie proefgroepe is in tabel 4.6 vir alle veranderlikes opgesom.

Tabel 4.6 Pearsonkorrelasiekoëffisiënte van basislynwaardes van die diabetis mellitus-, hiperlipidemiese, kontrole-
asook totale groep

PROEFGROEP		KONTROLE		DIABETES MELLITUS		HIPERLIPIDEMIES		TOTALE GROEP	
		r-waarde	p-waarde	r-waarde	p-waarde	r-waarde	p-waarde	r-waarde	p-waarde
VERANDERLIKES									
LDL-C	x LMV	- 0.47	0.05	----	NB	----	NB	- 0.61	< 0.00001
	x KOMPAKSIE	----	NB	----	NB	----	NB	-0.61	< 0.00001
	x STOL	----	NB	----	NB	----	NB	0.33	0.01
TC	x KOMPAKSIE	0.52	0.03	----	NB	----	NB	- 0.63	< 0.00001
	x LMV	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.57	< 0.00001
	x STOL	----	NB	----	NB	----	NB	0.27	0.037
HDL-C	x STOL	- 0.49	0.043	----	NB	----	NB	----	NB
TG	x Fbg	----	NB	----	NB	0.53	0.023	0.55	< 0.00001
	x STOL	0.65	0.004	----	NB	- 0.50	0.02	----	NB
	x KOMPAKSIE	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.35	0.017
Fbg	x LMV	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.47	0.001
	x Alb/Fbg	----	NB	- 0.52	0.03	----	NB	----	NB
	x Fgk	----	NB	----	NB	----	NB	0.3	0.019
	x tPA(Ag)	----	NB	----	NB	----	NB	0.47	0.0004
	x PAI	----	NB	----	NB	----	NB	0.33	0.034
	x LMV	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.41	0.005
	x Giv	----	NB	----	NB	----	NB	0.28	0.03
	x Fgk	----	NB	----	NB	----	NB	0.304	0.019
	x HbA1	----	NB	----	NB	----	NB	0.35	0.04
	x STOL	----	NB	----	NB	----	NB	0.36	0.004
KOMPAKSIE	x tPA(Ag)	----	NB	----	NB	----	NB	0.33	0.014
	x TP	----	NB	-0.82	0.003	----	NB	- 0.34	0.03
	x LMV	----	NB	----	NB	0.82	0.0002	0.76	< 0.00001
LMV	x STOL	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.37	0.011
	x Giv	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.30	0.048
	x Fgk	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.56	< 0.00001
	x HbA1	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.47	0.02
	x STOL	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.64	< 0.00001
	x TP	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.44	0.003
Giv	x tPA(Ag)	----	NB	----	NB	----	NB	- 0.54	< 0.00001
	x TP/Alb	----	NB	-0.82	0.004	----	NB	----	NB
	x STOL	----	NB	0.53	0.03	----	NB	0.35	0.007
Fgk	x tPA(Ag)	----	NB	----	NB	----	NB	0.41	0.0024
	x HbA1	----	NB	0.64	0.006	0.79	0.019	0.7	< 0.00001
	x Giv	----	NB	----	NB	----	NB	0.47	0.0002
	x STOL	----	NB	----	NB	----	NB	0.49	0.00
	x TP	----	NB	----	NB	----	NB	0.36	0.0056
	x tPA(Ag)	----	NB	----	NB	----	NB	0.58	< 0.00001
HbA1	x STOL	----	NB	----	NB	- 0.75	0.03	----	NB
	x tPA(Ag)	----	NB	----	NB	----	NB	0.42	0.019
FRUKT	x Alb	----	NB	0.54	0.03	----	NB	----	NB
tPA(Ag)	x PAI	----	NB	0.72	0.002	----	NB	0.73	< 0.00001
	x STOL	----	NB	----	NB	- 0.57	0.02	----	NB
STOL	x Alb/Fbg	----	NB	-0.58	0.02	----	NB	----	NB

NB = nie betekenisvol
r = Pearsonkorrelasiekoëffisiënte

'n Belangrike korrelasie tussen LDL-C en lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($p = 0.05 : r = - 0.47$) is in die kontrolegroep waargeneem. TC en kompaksie van die fibrienstolsels het in dieselfde groep gekorreleer ($p = 0.03 : r = 0.52$). 'n Verdere korrelasie is tussen HDL-C en stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.49 : r = - 0.04$) asook TG en stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.004 : r = 0.65$) aangetoon.

In die NIDDM-groep was 'n hoogs betekenisvolle korrelasie tussen kompaksie van die fibrienstolsels en TP ($p = 0.003 : r = - 0.82$) aangetoon. Lengte/massa-verhouding van fibrienvesels het betekenisvol met TP/albumien gekorreleer ($p = 0.004 : r = - 0.82$). Geglikosileerde fibrinogeen het met HbA₁ gekorreleer ($p = 0.006 : r = 0.64$). tPA(Ag) het met PAI gekorreleer ($p = 0.002 : r = 0.72$). Die stolbaarheid van fibrinogeen het met die albumien/fibrinogeen-indeks gekorreleer ($p = 0.02 : r = - 0.58$). TG het met die albumien/fibrinogeen-indeks gekorreleer ($p = 0.03 : r = - 0.52$).

In die hiperlipidemiese groep is aangetoon dat TG met fibrinogeen ($p = 0.02 : r = 0.53$) asook met stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.02 : r = - 0.50$) korreleer. Korrelasies is ook aangetoon tussen kompaksie van die fibrienstolsels en lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($p = 0.0002 : r = 0.82$), geglikosileerde fibrinogeen en HbA₁ ($p = 0.019 : r = 0.79$), HbA₁ en stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.03 : r = - 0.75$) en tPA(Ag) en stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.002 : r = - 0.570$).

Korrelasies wat moontlik belangrike verklarings verskaf, het in die resultate na vore gekom nadat die drie proefgroepe se data saamgevoeg is. Betekenisvolle korrelasies is gevind tussen kompaksie van die fibrienstolsels en TP ($p = 0.03 : r = - 0.34$), kompaksie van die fibrienstolsels en lengte/massa-verhouding van

fibrienvesels ($p = < 0.00001 : r = 0.76$), kompaksie van die
 fibrienstolsels en stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.01 : r = - 0.37$),
 lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en glukose ($p = 0.048 : r = -0.30$),
 lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en geglikosileerde fibrinogeen
 ($p = < 0.00001 : r = - 0.56$), lengte/massa-verhouding van
 fibrienvesels en HbA₁ ($p = 0.02 : r = - 0.47$),
 lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en stolbaarheid
 van fibrinogeen ($p = < 0.00001 : r = - 0.64$), lengte/massa-
 verhouding van fibrienvesels en TP ($p = 0.003 : r = - 0.44$),
 lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en tPA(Ag) ($p = < 0.00001 : r = - 0.54$),
 glukose en stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.007 : r = 0.35$),
 glukose en tPA(Ag) ($p = 0.0024 : r = 0.41$), geglikosileerde fibrinogeen en HbA₁
 ($p = < 0.00001 : r = 0.70$), geglikosileerde fibrinogeen en
 glukose ($p = 0.0002 : r = 0.47$), geglikosileerde fibrinogeen en
 stolbaarheid van fibrinogeen ($p = < 0.00001 : r = 0.49$),
 geglikosileerde fibrinogeen en TP ($p = 0.006 : r = 0.36$),
 geglikosileerde fibrinogeen en tPA(Ag) ($p = < 0.00001 : r = 0.58$),
 HbA₁ en tPA(Ag) ($p = 0.019 : r = 0.42$), tPA(Ag) en PAI
 ($p = < 0.00001 : r = 0.73$), LDL-C en lengte/massa-verhouding
 van fibrienvesels ($p = < 0.00001 : r = - 0.61$), LDL-C en kompaksie
 van die fibrienstolsels ($p = < 0.00001 : r = - 0.61$), LDL-C en
 stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.01 : r = 0.33$), TC en kompaksie
 van die fibrienstolsels ($p = < 0.00001 : r = - 0.63$), TC en
 lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($p = < 0.00001 : r = - 0.57$)
 : TC en stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.037 : r = 0.27$),
 TG en fibrinogeen ($p = < 0.00001 : r = 0.55$), TG en kompaksie
 van die fibrienstolsels ($p = 0.017 : r = -0.35$), TG en lengte/massa-
 verhouding van fibrienvesels ($p = 0.001 : r = - 0.470$), TG en
 geglikosileerde fibrinogeen ($p = 0.019 : r = 0.30$), fibrinogeen en
 lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($p = 0.005 : r = - 0.41$),
 fibrinogeen en glukose ($p = 0.03 : r = 0.28$), fibrinogeen en
 geglikosileerde fibrinogeen ($p = 0.019 : r = 0.304$), fibrinogeen en
 HbA₁ ($p = 0.04 : r = 0.35$), fibrinogeen en stolbaarheid van
 fibrinogeen ($p = 0.004 :$

$r = 0.36$), fibrinogeen en tPA(Ag) ($p = 0.014 : r = 0.33$).

Klassieke korrelasies soos dié tussen TC en LDL-C ($p = < 0.00001 : r = 0.99$) het ook voorgekom, maar hierdie korrelasies word nie behandel nie.

Korrelasies tussen fibrinolitiese veranderlikes en lengte/massa-verhouding van fibrienvesels is deur Gabriel et al. (1992) asook Gunnarson et al. (1980) gerapporteer. Nair et al. (1981) het 'n korrelasie tussen lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en kompaksie van die fibrienstolsels gerapporteer. Blombäck et al. (1992) het 'n korrelasie tussen lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en LDL-C aangetoon. Gunnarson (1980) het 'n korrelasie tussen die vermoë van fibrinogeen om te stol en fibrinolitiese vermoëns (gemeet aan tPA- en PAI-1-aktiwiteit) gevind. Die korrelasie tussen TG en PAI, asook tussen TG en tPA(Ag), word deur onderskeidelik Raccach et al. (1993) en Mehta et al. (1987) se resultate ondersteun. Fibrinolitiese vermoëns is ook met ouderdom gekorreleer (Mehta et al., 1987). Ernst (1992) het die korrelasie tussen TC en die albumien/fibrinogeen-indeks aangetoon.

4.1.7 Die moontlike effek van ouderdom op gemete veranderlikes

Nadat 'n variansie-analise met ouderdom as kovariant, om die moontlike effek wat die ouderdomsverskille tussen die drie groepe mag veroorsaak, uitgevoer is, uit te kanselleer, is die volgende verskille ten opsigte van die Student-t-toets aangetoon :

- tPA(Ag) in die hiperlipidemiese pasiënte het nie betekenisvol verskil van die kontroleproefpersone nie.

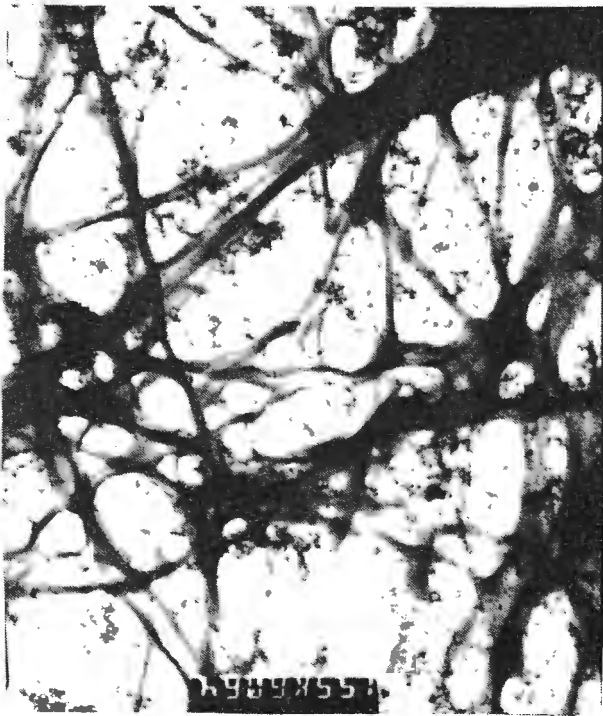
- HDL-C was betekenisvol laer in die diabetes mellituspasiënte as die kontroleproefpersone.

■ Geglikosileerde fibrinogeen was betekenisvol verhoog in die hiperlipidemiese proefpersone.

Geen verdere verskille is aangetoon nie.

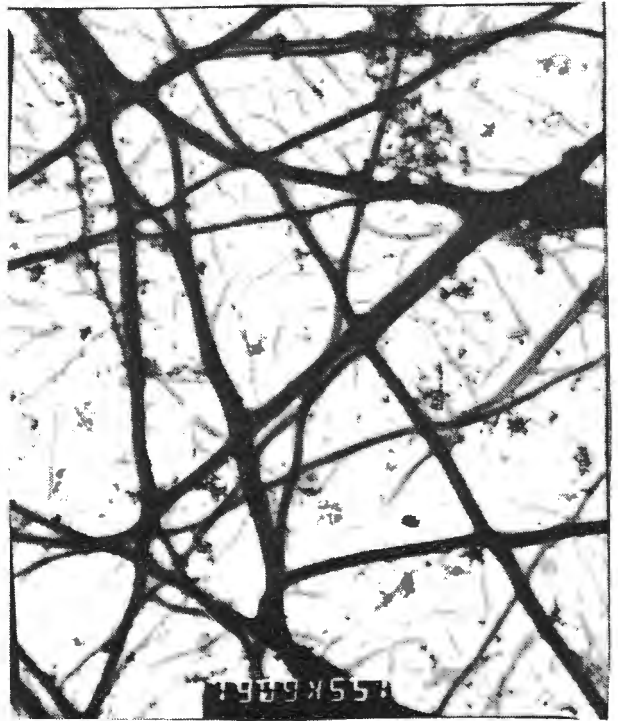
4.1.8 Elektronmikrografie

Die doel van die elektronmikrografie was nie om afleidings vanuit die elektronmikrograwe te maak nie, maar wel om ter illustrasie te dien vir dit wat kwantitatief bevind is. Figuur 4.3 (a), (b) en (c) is elektronmikrograwe wat by dieselfde vergroting geneem is. Figuur 4.3 (a) is 'n tipiese voorstelling van die tipe stolsel wat in gesonde proefpersone aangetref is. Die meerderheid van vesels is in die leptofibril-vorm (groot merkbare hoofvesels). Dit gee aanleiding tot die vorming van meer plastiese en vormbare stolsels. Die resultate ondersteun die werk van Shah et al. (1982). Beide elektronmikrograwe van die diabetes mellitus pasiënte (b) en hiperlipidemiese pasiënte (c) is 'n toonbeeld van stolsels wat onder sekere patologiese toestande ontstaan. Hierdie tipe stolsels bestaan uit hoofvesels wat verbind word met baie klein interverbinde vesels (pachifibrille). Sulke vesels lei tot stolsels wat sterk en baie rigied is. Hierdie tipe stolsels is ook meer bestand teen fibrinogenolitiese ensieme (Galanakis et al., 1987). Figuur 4.3 (e) dien as baie goeie voorbeeld vir die teenwoordigheid van pachifibrille in die stolsels van diabetes mellitus pasiënte (by 'n hoër vergroting as in 4.3 (a)). Figuur 4.3 (g) dien as goeie aanduiding van die dikte van fibrienvesels wat tydens patologiese toestande gevorm word. Figuur 4.3 (g) is by 'n vergroting van X 73000 ($73 \text{ mm} = 1 \text{ }\mu\text{m}$) geneem, terwyl figuur 4.3 (f) by 'n vergroting van X 39000 ($39 \text{ mm} = 1 \text{ }\mu\text{m}$) geneem is. Die dikste vesel in figuur (g) is $0.14 \text{ }\mu\text{m}$, terwyl die dikste vesel in figuur (f) $0.31 \text{ }\mu\text{m}$ is. Dit is 'n merkbare verskil.



KONTROLE

(a)



NIDDM

(b)

Figuur 4.3 (a) en (b) Elektronmikrograwe van 'n kontroleproefpersoon en NIDDM-pasiënt by dieselfde vergroting (X 15500).

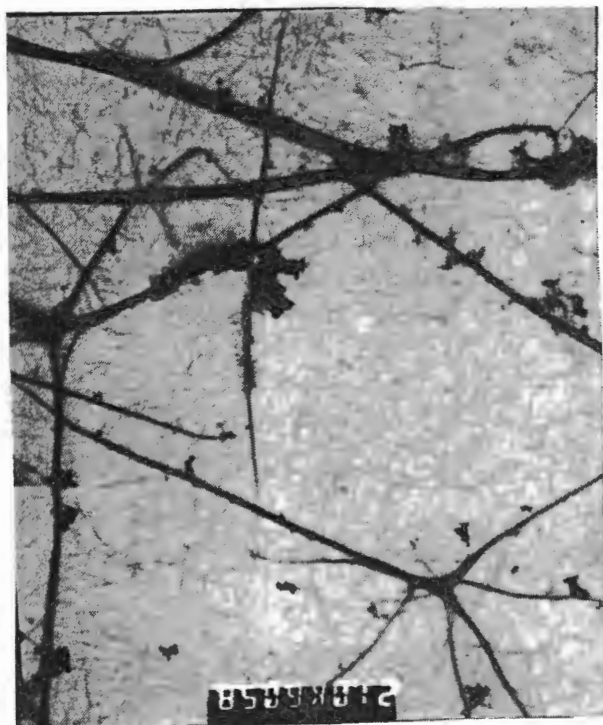


Figuur 4.3 (c) Elektronmikrograaf van 'n HL-pasiënt by dieselfde vergroting as in 4.3 (a) en (b), (X 15500).



KONTROLE

(d)



NIDDM

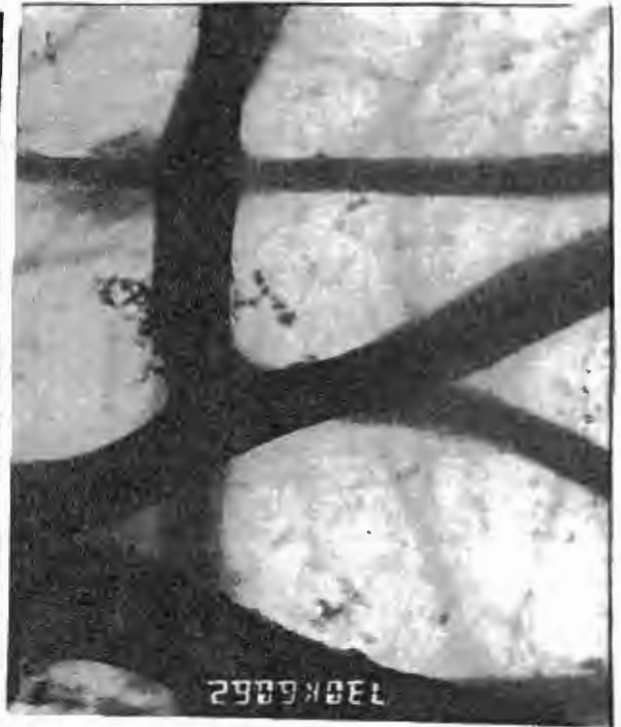
(e)

Figuur 4.3 (d) en (e) Elektronmikrograwe van 'n kontroleproefpersoon en NIDDM-pasiënt by dieselfde vergroting (X 21000).



KONTROLE

(f)



HL

(g)

Figuur 4.3 (f) en (g) Elektronmikrograaf van 'n kontroleproefpersoon en HL-pasiënt by twee verskillende vergrotings (f = X 39000 : g = X 73000).

4.2 INTERVENSIESTUDIE

4.2.1 Inleiding

Die gemiddelde met standaardafwykings van die ouderdomme en sekere antropometriese veranderlikes van beide groepe diabetes mellitus pasiënte is saam met persoonlike besonderhede in tabel 4.7 opgesom.

Tabel 4.7 Persoonlike besonderhede van beide groepe diabetese

VERANDERLIKE	Proefgroep	BONE	SOJA
GESLAG	Manlik	6	6
	Vroulik	2	2
OUDERDOM (JARE)	Reikwydte	51 - 71	49-76
	GEM	61.0	60.8
	SA	6.7	11.4
Sistoliese bloeddruk (mmHg)	GEM	133.8	131.3
	SA	13.0	11.3
Diastoliese bloeddruk (mmHg)	GEM	85.0	81.3
	SA	10.7	6.4
ROOK	% van groep	GEEN	GEEN
	Jare	GEEN	GEEN
AKTIWITEIT (%/groep)	Onaktief	25	25
	Matig	75	62.5
	Aktief	GEEN	12.5
Familiële geskiedenis van KHS	(%/groep)	12.5	GEEN
Mediese geskiedenis (%/groep)	Angina	12.5	25
	Omleiding	12.5	GEEN
	Miokardiale infarsie	GEEN	GEEN
	Trombose	GEEN	GEEN
	Xantoma	GEEN	GEEN
	Arcus	GEEN	GEEN
Gewig (kg)	GEM	90.52	83.10
	SA	17.17	16.50
LMI	GEM	30.59	30.43
	SA	2.46	1.92
Medikasie (%/groep)	DMED1	62.5	50
	DMED2	37.5	50
	Voorbehoedsmiddel	GEEN	GEEN

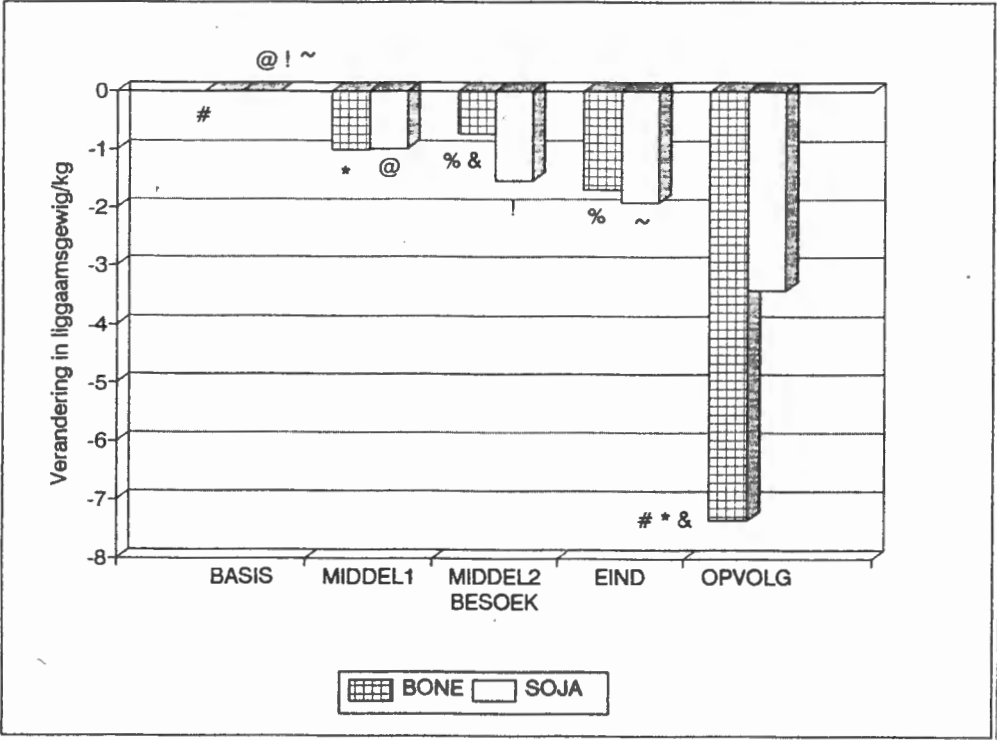
DMED1 = gebruik slegs een tipe diabetiese medikasie

DMED2 = gebruik twee tipes diabetiese medikasie

Vir die uitvoering van hierdie deel van die studie is die diabetes mellitus pasiënte afgepaar. Daar was dus geen groot verskille in ouderdom, geslag, gewig, asook LMI nie. Die enigste merkbare verskille tussen die twee proefgroepe het daarin gelê dat 12.5 % van die groep wat die bonedieet ontvang het, 'n omleiding ondergaan het, 12.5 % van die bonegroep het angina gerapporteer, terwyl 25 % in die sojagroep van dieselfde getuig het.

4.2.2 Gewigsverandering

Die gemiddelde gewigsverandering met standaardafwykings van beide groepe diabetes mellitus pasiënte tydens die verloop van die studie is in figuur 4.4 opgesom.



Figuur 4.4 Grafiek van die gewigsverandering van die twee verskillende groepe ingrepe oor die tydsduur van die studie. (besoeke met dieselfde simbole verskil betekenisvol : Gepaarde-t-toets : $p < 0.05$).

Die groep pasiënte wat soja ontvang het, se gewig het betekenisvol afgeneem vanaf die basislyn- tot die eindbesoek (86.85 ± 11.01 tot 84.93 ± 10.61). Die groep pasiënte wat droëbone ontvang het, se gewig het vanaf die basislyn- tot opvolgbesoek betekenisvol afgeneem (90.55 ± 17.20 tot 83.21 ± 12.07).

4.2.3 Serumlipiede

Die gemiddelde verandering van serumlipiede met standaardafwykings van beide groepe diabetes mellituspatiënte tydens die verloop van die studie word in tabel 4.8 en 4.9 opgesom.

Tabel 4.8 Betekenisvolle verskille van serumlipiede tussen besoeke met bone as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	END	OPVOLG
VERANDERLIKES						
TC (mmol/L)	GEM	5.71	6.32	5.20	5.42	5.49
	SA	1.44	1.96	1.31	1.57	1.28
LDL-C (mmol/L)	GEM	4.35	4.64	3.97	4.35	4.64
	SA	1.41	1.78	1.37	1.37	1.63
HDL-C (mmol/L)	GEM	0.95 # *	1.04	0.84 #	0.85	0.86 *
	SA	0.29	0.54	0.33	0.26	0.31
TG (mmol/L)	GEM	2.51 #	4.54	1.80 #	2.11	2.73
	SA	1.11	3.99	1.04	0.87	1.96

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.

GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

Tabel 4.9 Betekenisvolle verskille van serumlipiede tussen besoeke met soja as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	END	OPVOLG
VERANDERLIKES						
TC (mmol/L)	GEM	5.94 # *	6.11 #	5.83	5.43 * @	6.07 @
	SA	0.78	0.45	0.52	0.54	1.1
LDL-C (mmol/L)	GEM	4.83 #	4.85 *	4.60	4.35 # *	4.66
	SA	0.97	0.60	0.63	0.61	1.25
HDL-C (mmol/L)	GEM	0.96 #	0.96 *	0.92	0.82 # * @	1.02 @
	SA	0.13	0.21	0.05	0.18	0.24
TG (mmol/L)	GEM	1.81 #	2.29 #	2.00	1.87	1.88
	SA	0.51	0.73	0.74	0.54	0.81

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.

GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

HDL-C het in die bonegroep betekenisvol afgeneem vanaf die basislyn- tot middel2-besoek (0.95 ± 0.29 tot 0.84 ± 0.33). TG het in dieselfde tydperk betekenisvol afgeneem (2.51 ± 1.11 tot 1.80 ± 1.04).

In die sojagroep het TC, LDL-C en HDL-C betekenisvol afgeneem vanaf die basislyn- tot eindbesoek (5.94 ± 0.78 tot 5.43 ± 0.54 : 4.83 ± 0.97 tot 4.35 ± 0.61 : 0.96 ± 0.13 tot 0.82 ± 0.18). TG het betekenisvol toegeneem vanaf die basislyn- tot die middell-besoek (1.81 ± 0.51 tot 2.29 ± 0.73).

4.2.4 Stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes

Die gemiddelde verandering van die stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes van beide groepe diabetes mellituspasiënte tydens die verloop van die studie word in tabel 4.10 en 4.11 opgesom. Betekenisvolle verskille tussen die veranderlikes van die twee groepe word in tabel 4.12 opgesom.

Tabel 4.10 Betekenisvolle verskille van stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes tussen besoeke met bone as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	END	OPVOLG
VERANDERLIKES						
Fibrinogeen (g/L)	GEM	3.65	3.42	3.33	3.31	3.71
	SA	0.86	0.99	0.65	0.72	0.69
Kompaksie (%)	GEM	61.5	52.33 #	36.83	44.17	36.89 #
	SA	17.96	9.64	13.03	16.86	12.55
LMV (Dalt/cm x 10E+12)	GEM	13.25	12.72 #	12.62	13.21	11.47 #
	SA	1.76	1.80	2.29	2.25	0.92
Stolbaarheid (%)	GEM	64.27 # *	57.69 #	59.8 @	54.56 * @	61.39 !
	SA	9.35	11.40	11.47	11.52	12.02
tPA-Ag (ng/ml)	GEM	17.61	17.60	18.68	15.50	17.91
	SA	5.24	6.28	7.08	4.59	4.96
PAI-1 (E/ml)	GEM	24.36 #	21.33 *	18.33 # *	19.93	22.18
	SA	12.25	11.76	11.89	9.59	9.84
PAI-1 x tPA(Ag)	GEM	447.0	421.1	373.3	309.0	414.0
	SA	318.3	340.3	306.1	169.7	259.8

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.

GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

Tabel 4.11 Betekenisvolle verskille van stollings- en fibrino(geno)litiese veranderlikes tussen besoeke met soja as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	END	OPVOLG
VERANDERLIKES						
Fibrinogeen (g/L)	GEM	4.00 #	3.85	3.62 *	3.66 # @	3.98 * @
	SA	0.80	0.85	0.57	0.69	0.60
Kompaksie (%)	GEM	52.74	50.09	51.20	57.56	44.54
	SA	21.26	16.95	17.62	20.40	17.55
LMV (Dalt/cm x 10E+12)	GEM	13.15 #	13.97	14.41	14.58 # *	12.92 *
	SA	1.08	3.53	2.01	2.14	2.11
Stolbaarheid (%)	GEM	72.87 # * @	70.55 & %	62.91 # %	59.01 * & \$	64.52 @ \$
	SA	7.45	6.73	5.06	5.89	6.80
tPA-Ag (ng/ml)	GEM	18.06	14.56	16.44	13.40	16.01
	SA	8.66	5.19	8.13	3.05	5.65
PAI-1 (E/ml)	GEM	21.44	14.50 #	12.41	10.46 #	14.64
	SA	13.20	7.12	5.78	6.73	8.31
PAI-1 x tPA(Ag)	GEM	467.46	235.89 #	241.27	148.94 #	269.68
	SA	423.12	159.28	234.85	124.90	221.93

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.
GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

Tabel 4.12 Verandering in fibrino(geno)litiese en stollingsveranderlikes vanaf basis- tot opvolgtydperk in beide groepe ingrepe

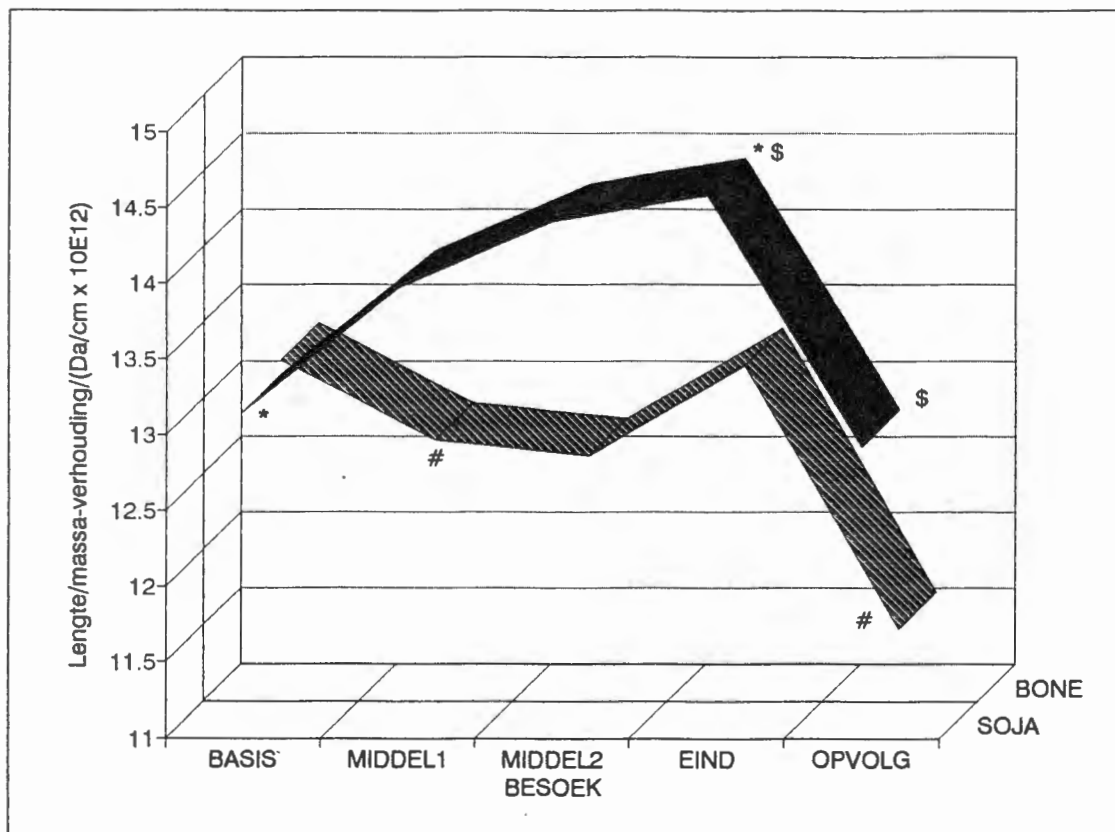
VERANDERLIKES		Stolbaarheid (%)		PAI (E/ml)	
		GEM	SA	GEM	SA
INGREEP	TYD				
BONE	BASIS	64.27 #	9.35	24.36	12.25
	MIDDEL1	57.69 *	11.4	21.33	11.76
	MIDDEL2	59.80	11.47	18.33	11.89
	EIND	54.56	11.52	19.93 #	9.59
	OPVOLG	61.39	12.02	22.18	9.84
SOJA	BASIS	72.87 #	7.45	21.44	13.20
	MIDDEL1	70.55 *	6.73	14.50	7.12
	MIDDEL2	62.91	5.06	12.41	5.78
	EIND	59.01	5.89	10.46 #	6.73
	OPVOLG	64.52	6.30	14.64	8.31

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (P < 0.05);
Newman-Keuls en Tukey.
* x 10E + 12
GEM = gemiddeld
SA = standaardafwyking

Stolbaarheid van fibrinogeen het in die bonegroepe betekenisvol afgeneem vanaf basislyn- tot die eindbesoek (64.27 ± 9.35 tot 54.56 ± 11.52). Kompaksie van die fibrienstolsels (kyk figuur 4.5) en lengte/massa-verhouding van fibrienvesels het onderskeidelik betekenisvol afgeneem en toegeneem vanaf die middell- tot die opvolgbesoek (52.33 ± 9.64 tot 36.89 ± 12.55 : 12.72 ± tot 11.47 ± 0.92). Stolbaarheid van fibrinogeen het betekenisvol afgeneem vanaf die basislyn- tot eindbesoek (64.27 ± 9.35 tot 54.56 ± 11.52). PAI-1-aktiwiteit het betekenisvol afgeneem vanaf die baslyn- tot middel2-besoek, asook middell- tot middel2-besoek (24.36 ± 12.25 tot 18.33 ± 11.89 : 21.33 ± 11.76 tot 18.33 ± 11.89).

In die sojagroep het fibrinogeen en stolbaarheid van fibrinogeen afgeneem vanaf die basislyn- tot eindbesoek (4.00 ± 0.80 tot 3.66 ± 0.69 : 72.87 ± 7.45 tot 59.01 ± 5.89). PAI-1-aktiwiteit en PAI-1-aktiwiteit X tPA(Ag) het betekenisvol afgeneem vanaf die middell- tot die eindbesoek (14.50 ± 7.12 tot 10.46 ± 6.73 : 235.89 ± 159.28 tot 148.94 ± 124.90).

PAI-1-aktiwiteit, fibrinogeen, kompaksie van die fibrienstolsels, lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en stolbaarheid van fibrinogeen het betekenisvol verskil tussen die bonedieet en sojadieet in die eindbesoek.



Figuur 4.5 Grafiek van die verandering in die LMV van fibrienvesels van beide groepe ingrepe tydens die verloop van die studie.

4.2.5 Glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene

Die gemiddelde verandering van die stollings- en fibrinogenolitiese veranderlikes van beide groepe diabetes mellitus pasiënte tydens die verloop van die studie word in tabel 4.13 en 4.14 opgesom. Betekenisvolle verskille

tussen die veranderlikes van die twee groepe word in tabel 4.15 opgesom.

Tabel 4.13 Betekenisvolle verskille van glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene tussen besoeke met bone as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	END	OPVOLG
VERANDERLIKES						
Glukose (mmol/L) (kapillêre metode)	GEM	6.25 #	5.56 #	5.53	5.51 *	6.09 *
	SA	1.54	1.73	1.36	1.46	1.55
Glukose (mmol/L) (serum)	GEM	8.98	8.99	8.36	8.21	8.64
	SA	1.69	2.42	1.31	0.75	2.03
Fgk (umol/100 mgFib)	GEM	1.07	1.06	1.03	0.98 #	1.12 #
	SA	0.11	0.13	0.09	0.09	0.10
HbA1 (%)	GEM	9.17 #	9.11 *	8.76 @ %	8.00 @	7.25 # * %
	SA	1.96	1.48	1.07	0.89	1.61
Fruktosamien (umol/L)	GEM	314.5 # *	290.75	283.14 #	289.85 *	313.7
	SA	49.3	39.92	59.31	43.07	52.89
TP (g/L)	GEM	81.46	82.26	80.78	76.93	75.80
	SA	5.06	5.37	6.62	8.49	7.77
Albumien (g/L)	GEM	46.84 #	54.94	56.60 #	53.05	50.56
	SA	3.26	9.08	9.37	8.64	8.45

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.

GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

Tabel 4.14 Betekenisvolle verskille van glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene tussen besoeke met soja as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	END	OPVOLG
VERANDERLIKES						
Glukose (mmol/L) (kapillêre metode)	GEM	6.36	5.88	5.59	5.86	6.80
	SA	2.35	1.67	2.05	2.15	3.21
Glukose (mmol/L) (serum)	GEM	9.51	8.68	8.84	9.19	8.91
	SA	3.19	3.17	2.62	3.37	2.28
Fgk (umol/100 mgFib)	GEM	1.28 # * %	1.20 * !	1.12 % !	1.09 # &	1.14 &
	SA	0.18	0.12	0.12	0.13	0.12
HbA1 (%)	GEM	10.83 # * @	9.89 ! & %	8.82 * ! \$	8.23 # & \$	8.66 @ %
	SA	2.36	1.63	1.83	1.42	1.56
Fruktosamien (umol/L)	GEM	372.75	317.80	301.28	292.77	331.25
	SA	145.56	93.12	87.40	102.08	89.46
TP (g/L)	GEM	78.18 @	77.04	73.74 @	71.06	76.36
	SA	6.16	7.63	5.58	6.10	6.65
Albumien (g/L)	GEM	50.18	50.98	45.90	49.37	46.83
	SA	7.47	7.14	2.89	6.30	4.73

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.

GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

Tabel 4.15 Verandering in glukose, proteïene en geglikosileerde proteïene vanaf basis- tot opvolgtydperk in beide groepe ingrepe

VERANDERLIKES		Fgk (umol/100 mgFib)		TP (g/L)		Albumien (g/L)	
		GEM	SA	GEM	SA	GEM	SA
BONE	TYD						
	BASIS	1.07 #	0.11	81.46	5.06	46.84	3.26
	MIDDEL1	1.06 *	0.13	82.26	5.37	54.94	9.08
	MIDDEL2	1.03	0.09	80.78 #	6.62	56.60 #	9.37
	EIND	0.98	0.09	76.93	8.49	53.05	8.64
SOJA	OPVOLG	1.12	0.10	75.80	7.77	50.56	8.45
	BASIS	2.00 #	0.18	78.18	6.16	50.18	4.74
	MIDDEL1	1.20 *	0.12	77.04	7.63	50.98	7.14
	MIDDEL2	1.12	0.12	73.74 #	5.58	45.90 #	2.89
	EIND	1.09	0.13	71.06	6.10	49.37	6.30
	OPVOLG	1.14	0.12	76.36	6.65	46.83	4.73

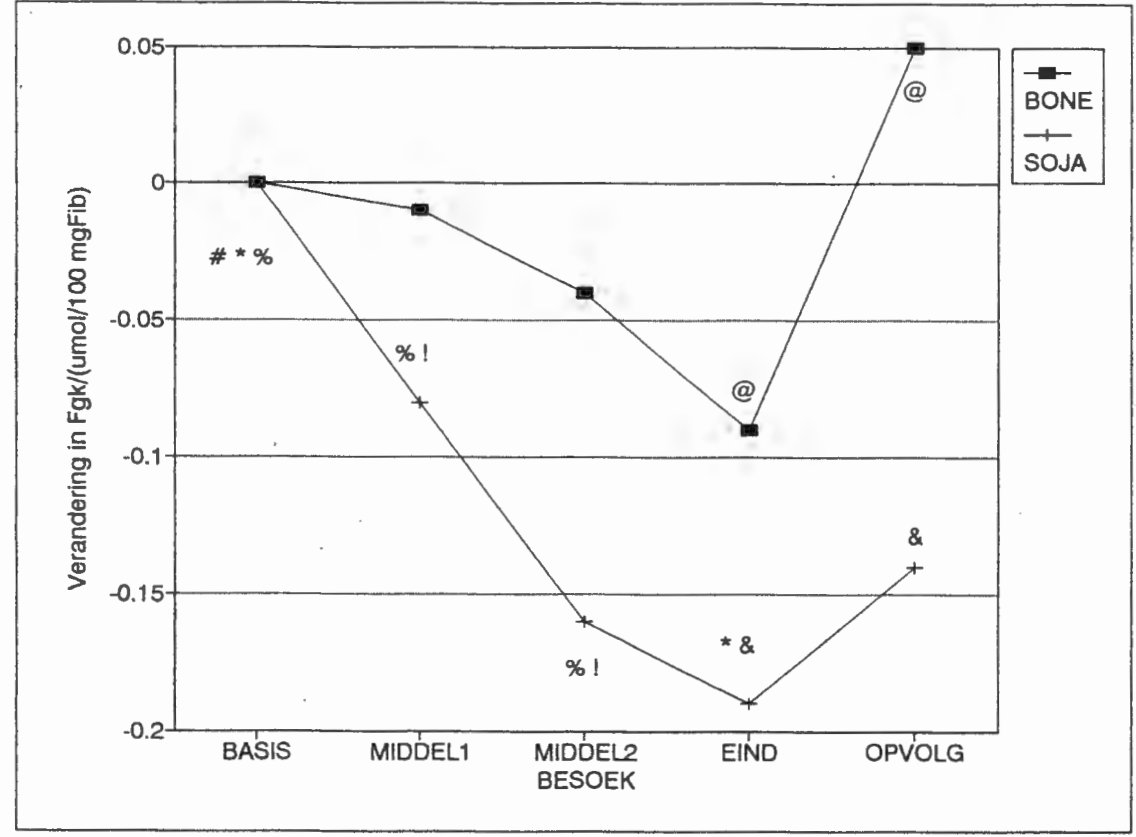
Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (P < 0.05); Newman-Keuls en Tukey.

GEM = gemiddeld

SA = standaardafwyking

Glukose het betekenisvol vanaf die basislyn- tot middel1-besoek in die bonegroep afgeneem (6.25 ± 1.54 tot 5.51 ± 1.46). HbA₁ het van die baslyn- tot eindbesoek betekenisvol afgeneem (9.17 ± 1.96 tot 8.00 ± 0.89). Fruktosamien het vanaf die basislyn- tot eindbesoek betekenisvol afgeneem (314.5 ± 49.3 tot 289.85 ± 43.07). Albumien het vanaf die basislyn- tot middel2-besoek betekenisvol afgeneem (46.84 ± 3.26 tot 56.60 ± 9.37). In die sojagroep het geglikosileerde fibrinogeen (kyk figuur 4.6) en HbA₁ betekenisvol afgeneem vanaf die basislyn- tot eindbesoek (1.28 ± 0.18 tot 1.09 ± 0.13 : 10.83 ± 2.36 tot 8.23 ± 1.42).

HbA₁, geglikosileerde fibrinogeen en TP het betekenisvol tussen die soja- en bonedieet verskil in die eindbesoek.



Figuur 4.6 Grafiek van die verandering in die konsentrasie geglikosileerde fibrinogeen tydens die verloop van die studie, van beide groepe ingrepe.

4.2.6 Proteïen-indekse

Die gemiddelde verandering van die proteïen-indekse van beide groepe diabetes mellitus pasiënte tydens die verloop van die studie word in tabel 4.16 en 4.17 opgesom. Betekenisvolle verskille tussen die veranderlikes van die twee groepe word in tabel 4.18 opgesom.

Tabel 4.16 Betekenisvolle verskille van proteïen-indekse tussen besoeke met bone as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	EIND	OPVOLG
VERANDERLIKES						
Alb/Fbg	GEM	13.38 # *	16.31 #	17.63 *	16.63	14.14
	SA	2.89	4.53	4.73	3.85	3.85
TP/Alb	GEM	1.74 # * %	1.54	1.46 #	1.46 *	1.52 %
	SA	0.13	0.37	0.27	0.11	0.18

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.
GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

Tabel 4.17 Betekenisvolle verskille van proteïen-indekse tussen besoeke met soja as ingreep

TYD		BASIS	MIDDEL1	MIDDEL2	EIND	OPVOLG
VERANDERLIKES						
Alb/Fbg	GEM	12.97	13.78	12.98 #	14.14	12.06 #
	SA	2.73	3.16	2.34	4.30	2.65
TP/Alb	GEM	1.57	1.53	1.61	1.46	1.64
	SA	0.14	0.18	0.17	0.19	0.17

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol; (p < 0.05); Gepaarde-t-toets.
GEM = gemiddeld; SA = standaardafwyking

Tabel 4.18 Verandering in proteïen-indekse vanaf basis- tot opvolgtydperk in beide groepe ingrepe

VERANDERLIKES		Alb/Fbg		TP/Alb	
		GEM	SA	GEM	SA
INGREEP	TYD				
BONE	BASIS	13.38	2.89	1.74 #	0.13
	MIDDEL1	16.31	4.53	1.54	0.37
	MIDDEL2	17.63 #	4.73	1.46	0.27
	EIND	16.63	3.85	1.46	0.11
	OPVOLG	14.14	3.85	1.52	0.18
SOJA	BASIS	12.97	2.73	1.57 #	0.14
	MIDDEL1	13.78	3.16	1.53	0.18
	MIDDEL2	12.98 #	2.34	1.61	0.17
	EIND	14.14	4.30	1.46	0.19
	OPVOLG	12.06	2.65	1.64	0.17

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol;
(p < 0.05); Newman-Keuls en Tukey.
GEM = gemiddeld
SA = standaardafwyking

Die albumien/fibrinogeen-indeks het in die bonegroep vanaf die basislyn- tot middell- en middel2-besoek betekenisvol toegeneem (13.38 ± 2.89 tot 17.63 ± 4.73). TP/albumien het vanaf basis tot die middel2- en eindbesoek betekenisvol afgeneem (1.74 ± 0.13 tot 1.46 ± 0.27 tot 1.46 ± 0.11).

In die sojagroep het die albumien/fibrinogeen-indeks vanaf die middel2- tot opvolgbesoek betekenisvol afgeneem (12.98 ± 2.34 tot 12.06 ± 2.65).

Die albumien/fibrinogeen-indeks het betekenisvol tussen die bone- en sojadieet in die eindbesoek verskil.

4.2.7 Korrelasies tussen gemete veranderlikes

Betekenisvolle korrelasies van die eindwaardes vir elke ingreep afsonderlik, asook die totale groep, word in tabel 4.19 opgesom.

Tabel 4.19 Betekenisvolle korrelasiekoëffisiënte van die eindwaardes in die bone- asook soja-groep.

INGREEP		Bone		Soja		Totale groep	
		r-waarde	p-waarde	r-waarde	p-waarde	r-waarde	p-waarde
VERANDERLIKES							
HDL-C	x KOMPAKSIE	---	NB	-0.77	0.04	---	NB
LDL-C	x LMV	---	NB	---	NB	0.64	0.02
	x TP/Alb	---	NB	---	NB	-0.57	0.04
TC	x LMV	---	NB	---	NB	0.61	0.03
	x Fbg	-0.92	0.009	---	NB	---	NB
	x Alb/Fbg	-0.97	0.001	---	NB	---	NB
TG	x Fbg	-0.81	0.05	---	NB	---	NB
	x ALB/FIB	0.87	0.023	---	NB	---	NB
	x PAI-1	0.89	0.02	---	NB	0.73	0.005
Fbg	x STOL	---	NB	0.76	0.05	0.73	0.005
	x PAI-1	---	NB	---	NB	-0.67	0.01
	x PAI-1 X tPA(Ag)	---	NB	---	NB	-0.60	0.03
KOMPAKSIE	x tPA(Ag)	---	NB	0.91	0.004	---	NB
	x PAI-1	-0.90	0.016	---	NB	---	NB
	x PAI-1 X tPA(Ag)	---	NB	0.77	0.045	---	NB
Giv	x HbA1	0.87	0.02	---	NB	---	NB
	x FRUKT	0.80	0.05	---	NB	0.72	0.005
Gik	x HbA1	0.93	0.007	---	NB	0.75	0.003
	x FRUKT	0.90	0.01	---	NB	0.73	0.005
HbA1	x STOL	---	NB	0.85	0.01	---	NB
	x FRUKT	---	NB	---	NB	0.62	0.02
	x TP/Alb	---	NB	---	NB	0.62	0.02
TP	x Fgk	---	NB	---	NB	-0.61	0.03
PAI-1	x Alb/Fbg	---	NB	---	NB	0.67	0.01
STOL	x TP/Alb	---	NB	0.77	0.04	---	NB
	2	---	NB	-0.75	0.05	---	NB

NB = nie betekenisvol

r = Pearson korrelasiekoëffisiënte

In die bonegroep het TC betekenisvol met fibrinogeen gekorreleer ($p = 0.009 : r = - 0.92$). TC het ook betekenisvol met die albumien/fibrinogeen-indeks gekorreleer ($p = 0.001 : r = - 0.97$). TG het betekenisvol met fibrinogeen ($p = 0.05 : r = - 0.81$), die albumien/fibrinogeen-indeks ($p = 0.023 : r = 0.87$) en PAI-1-aktiwiteit ($p = 0.02 : r = 0.89$) gekorreleer. Kompaksie van die fibrienstolsels het betekenisvol met PAI-1-aktiwiteit ($p = 0.016 : r = - 0.90$) gekorreleer. Serumglukose het betekenisvol met HbA_1 ($p = 0.007 : r = 0.93$) asook fruktosamien ($p = 0.01 : r = 0.90$) gekorreleer. In die sojagroep het HDL-C betekenisvol met kompaksie van die fibrienstolsels ($p = 0.04 : r = - 0.77$) gekorreleer. Fibrinogeen het betekenisvol met die stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.05 : r = 0.76$) gekorreleer. Kompaksie van die fibrienstolsels het betekenisvol met tPA(Ag) ($p = 0.004 : r = 0.91$) asook PAI-1-aktiwiteit X tPA(Ag) ($p = 0.045 : r = 0.77$) gekorreleer. HbA_1 het betekenisvol met die stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.01 : r = 0.85$) gekorreleer. Stolbaarheid van fibrinogeen het betekenisvol met die TP/albumien-indeks ($p = 0.04 : r = 0.77$) asook die albumien/fibrinogeen-indeks ($p = 0.05 : r = - 0.75$) gekorreleer.

In die totale groep het LDL-C betekenisvol met die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($p = 0.02 : r = 0.64$) asook die TP/albumien-indeks ($p = 0.04 : r = - 0.57$) gekorreleer. TC het betekenisvol met die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($p = 0.03 : r = 0.61$) gekorreleer. TG het betekenisvol met PAI-1-aktiwiteit ($p = 0.005 : r = 0.73$) gekorreleer. Fibrinogeen het betekenisvol met die stolbaarheid van fibrinogeen ($p = 0.005 : r = 0.73$) asook met PAI-1-aktiwiteit ($p = 0.01 : r = - 0.67$) en PAI-1-aktiwiteit X tPA(Ag) ($p = 0.03 : r = - 0.60$) gekorreleer. Serumglukose het betekenisvol met HbA_1 ($p = 0.003 : r = 0.75$) asook fruktosamien ($p = 0.005 : r = 0.73$) gekorreleer. HbA_1 het betekenisvol met fruktosamien ($p = 0.02 : r = 0.62$) gekorreleer.

Geglikosileerde fibrinogeen het betekenisvol met TP ($p = 0.03 : r = - 0.61$) gekorreleer. PAI-1-aktiwiteit het betekenisvol met die albumien/fibrinogeen-indeks ($p = 0.01 : r = 0.67$) gekorreleer.

4.2.8 Regressie-analise

Resultate van 'n meervoudige stapsgewyse regressie-analise, toegepas vanaf basis- tot eindbesoeke van beide ingrepe, word in tabel 4.20 opgesom.

Tabel 4.20 Stapsgewyse regressie-analise van beide groepe ingrepe, vanaf basis- tot eindtye

VERANDERLIKES		BONE		SOJA	
		β	p	β	p
TC	x KOMPAKSIE	-0.21	0.04	—	NB
	x tPA(Ag)	1.11	0.001	—	NB
	x Fgk	—	NB	0.88	0.02
LDL-C	x TP/ALB	0.77	0.043	—	NB
TG	x tPA(Ag)	—	NB	-0.54	0.04
	x PAI-1	—	NB	0.98	0.001
Fbg	x TP/ALB	-0.46	0.01	—	NB
	x STOL	0.6	0.03	0.73	0.002
	x ALB/FIB	—	NB	-1.0	3E-05
KOMPAKSIE	x Giv	2.00	0.05	—	NB
	x TP	-0.70	0.02	—	NB
	x LMV	0.82	0.01	0.62	0.04
Gik	x LMV	0.28	0.02	—	NB
Fgk	x HbA1	0.72	0.03	0.90	0.01
HbA1	x STOL	—	NB	0.45	0.03
FRUKT	x Fbg	0.40	0.01	0.39	0.04
	x Giv	0.76	0.0002	0.77	< 0.00001
	x Gik	0.64	0.007	0.51	< 0.00001
STOL	x Fbg	0.61	0.05	0.67	0.01
	x TP/ALB	-0.87	0.004	—	NB
	x ALB/FIB	-1.1	0.0006	—	NB
	x HbA1	—	NB	0.66	0.03
	x ALB/FIB	—	NB	-0.86	0.007
tPA(Ag)	x PAI-1	0.63	0.007	-0.90	< 0.00001
PAI-1	x tPA(Ag)	0.63	0.03	0.59	0.01
	x Alb/Fbg	—	NB	0.28	0.03
Alb/Fbg	x STOL	-0.54	< 0.00001	-0.53	0.004
	x TP	-0.27	0.04	—	NB

NB = nie betekenisvol

p = statistiese betekenisvolheid

β = gestandaardiseerde regressiegewig

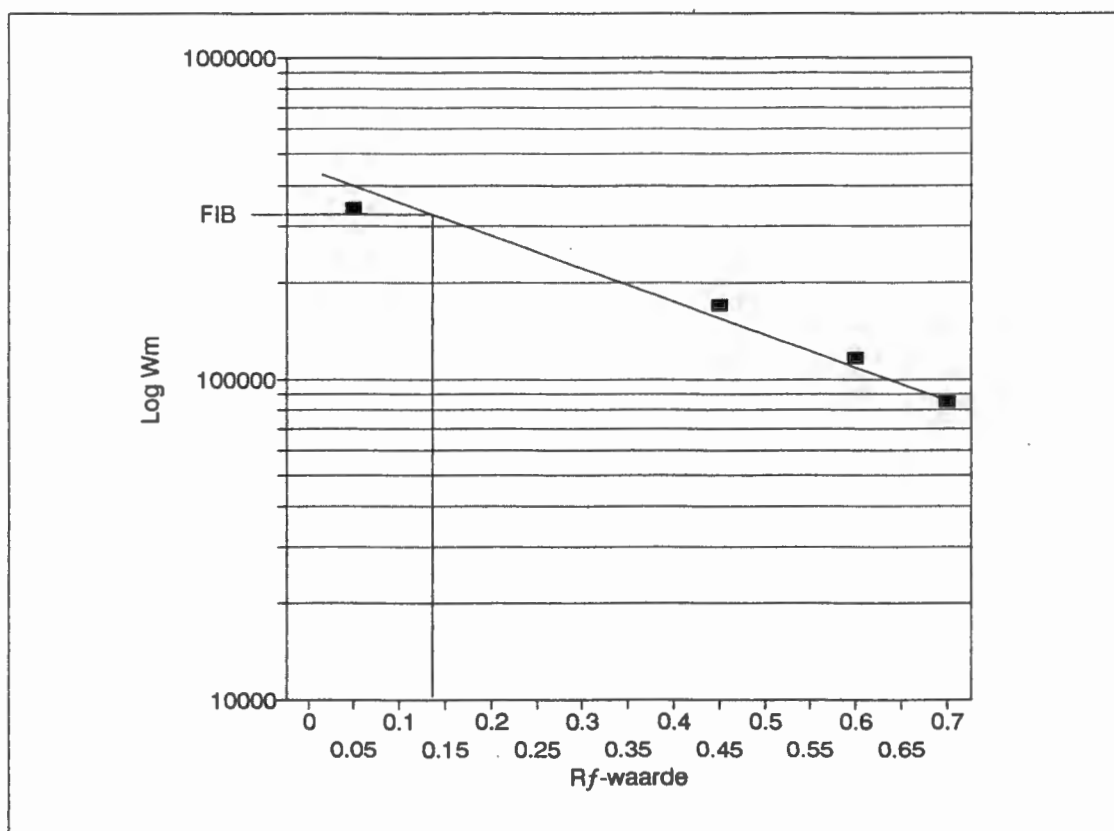
Veranderlikes in die bonegroep wat betekenisvol onafhanklik met TC gekorreleer was kompaksie van die fibrienstolsels ($\beta = - 0.21$) en tPA(Ag) ($\beta = 1.11$). In die sojagroep het geglikosileerde fibrinogeen ($\beta = 0.88$) betekenisvol met TC gekorreleer. In die bonegroep het fibrinogeen onafhanklik met die TP/albumien-indeks ($\beta = - 0.46$) asook met stolbaarheid van fibrinogeen ($\beta = 0.60$) gekorreleer. In die sojagroep het fibrinogeen betekenisvol onafhanklik met stolbaarheid van fibrinogeen ($\beta = 0.73$) asook met die albumien/fibrinogeen-indeks ($\beta = - 1.0$) gekorreleer. In die bonegroep het kompaksie van die fibrienstolsels betekenisvol onafhanklik met veneuse glukose ($\beta = 2.00$), TP ($\beta = - 0.70$) asook die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($\beta = 0.82$) gekorreleer. In die sojagroep het kompaksie van die fibrienstolsels onafhanklik met die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($\beta = 0.62$) gekorreleer. Serumglukose het in die bonegroep onafhanklik met die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels ($\beta = 0.28$) gekorreleer. HbA₁ het in die sojagroep betekenisvol onafhanklik met die stolbaarheid van fibrinogeen ($\beta = 0.45$) gekorreleer. Fruktosamien het betekenisvol met fibrinogeen in die bonegroep ($\beta = 0.40$) en in die sojagroep ($\beta = 0.39$) gekorreleer. Die stolbaarheid van fibrinogeen het betekenisvol onafhanklik met fibrinogeen in die sojagroep ($\beta = 0.67$) en die bonegroep ($\beta = 0.61$), met die TP/albumien-indeks in die bonegroep ($\beta = - 0.87$), met die albumien/fibrinogeen-indeks in die bonegroep ($\beta = - 1.1$) en sojagroep ($\beta = - 0.86$), asook met HbA₁ in die sojagroep ($\beta = 0.66$) gekorreleer. tPA(Ag) het betekenisvol onafhanklik met PAI-1-aktiwiteit in beide die bonegroep ($\beta = 0.63$) en sojagroep ($\beta = - 0.90$) gekorreleer. PAI-1-aktiwiteit het betekenisvol onafhanklik met tPA(Ag) in die bonegroep ($\beta = 0.63$) en die sojagroep ($\beta = 0.59$) gekorreleer. PAI-1-aktiwiteit het in die sojagroep ook betekenisvol met die albumien/fibrinogeen-indeks ($\beta = 0.28$) gekorreleer. Die albumien/fibrinogeen-indeks het in die sojagroep ($\beta = - 0.53$) en die bonegroep ($\beta = - 0.54$)

betekenisvol onafhanklik met die stolbaarheid van
fibrinogeen gekorreleer.

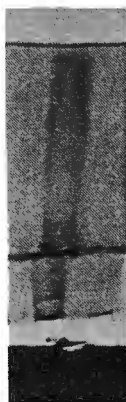
Baker et al. (1984) het 'n betekenisvolle afname in
fruktosamienvlakke met verbetering in glukemiese beheer
gerapporteer. Die afname in TC is moontlik die oorsaak van
die afname in HDL-C (Fossatti & Rousseaux, 1987). Folsom
et al. (1993) het afnames in TG, PAI-1, tPA(Ag) en
fibrinogeen, gepaardgaande met gewigsverlies, gerapporteer.
Mehrabian et al. (1984) rapporteer verlaging in
fibrinogeen, plasminogeenaktiwiteit, tPA(Ag) en PAI-1-
aktiwiteit in persone wat gewigsverlies ondergaan het
tydens die volg van 'n lae-vet, hoë-koolhidraatdieet.
Paisey et al. (1980) rapporteer dat enige dieet wat
glukemiese beheer verbeter, die hiperviskose toestand van
bloed sal verbeter. Hulle rapporteer ook dat TC, HbA₁, TG
en bloedglukose sal afneem onder dieselfde omstandighede.

4.3 SDS-PAGE

R_f -waardes vir die merkerproteïene was bereken op 0.7 (α_2 -makroglobulien ; $M_w = 340\ 000$), 0.6 (gereduseerde α_2 -makroglobulien ; $M_w = 170\ 000$), 0.45 (β -galaktosidase ; $M_w = 116.353$) en 0.05 (fruktose-6-fosfaat kinase ; $M_w = 85\ 204$). In figuur 4.7 word die standaardkromme van die R_f -waarde teenoor die logaritme van die molekulêre gewig aangetoon. Die geskatte molekulêre gewig van die geïsoleerde fibrinogeen, soos afgelees op die kromme, is 325 333. Die korrekte waarde is 320 000 (opgesom deur Cook & Ubben, 1990). 'n Voorbeeld van 'n gekleurde jel met fibrinogeen en merkerproteïene word in figuur 4.8 gegee.



Figuur 4.7 Standaardkromme van die merkerproteïene, waarmee die molekulêre gewig van fibrinogeen bereken is.



Figuur 4.8 Voorbeeld van 'n jel na kleuring.

HOOFSTUK 5

BESPREKING

5.1 INLEIDING

Die belangrikste waarnemings vanuit hoofstuk 4, met betrekking tot hoe glikosilering van fibrinogeen die konsentrasie en funksionele eienskappe daarvan beïnvloed, sal in hierdie hoofstuk bespreek word. Wat die vergelykende studie betref, is dit belangrik om daarop te let dat die hoeveelheid mans en vroue in elke groep, asook die gemiddelde ouderdomme van elke groep, verskil het. 'n Kovariansie-analise het egter getoon dat die effek van geslag op die gemete veranderlikes baie klein en nie betekenisvol was nie. Die effek van ouderdom kon in die volgende veranderlikes gesien word :

- tPA(Ag) in die hiperlipidemiese pasiënte het nie meer betekenisvol van die kontroleproefpersone verskil nie, nadat daar vir ouderdomsverskille gekorrigeer is.

- HDL-C was betekenisvol laer in die diabetes mellituspatiënte as die kontroleproefpersone en ouderdom het ook hier 'n invloed uitgeoefen.

Hierdie effekte sal in die bespreking aandag geniet. Die redes waarom die ouderdomme van die proefgroepe verskil het, was die volgende :

- Die doel van die eksperiment was om fibrinogeenfunksie by gesonde proefpersone, wat nog min aterosklerotiese letsels ontwikkel het, te ondersoek en te vergelyk met die

Tabel 5.1 Tabel met gemiddeldes en reikwijdtes van sekere veranderlikes wat in hierdie studie van belang mag wees

VERWYSING	VERANDERLIKE	TIPE	REIKWYDTE	GEM		KORRELASIES	VERWYSING
SAIMN, 1990 Gandrille et al., 1990 Racah, 1993	Albumien g/L	G	30 - 55 41 - 49			X Fibrinolise	Gandrille & Aisch, 1990
	Colesterol mmol/L	G HT HL DM		5.30 5.71 7.89 4.93		X Albumien X Albumien/Fbg	Phillips et al., 1989 Ernst, 1992
SAIMN, 1990	Fruktosamien umol/L	G	200 - 300				
SAIMN, 1990	Glukose mmol/L	G	3 - 6				
SAIMN, 1990 Flückiger & Winterhalter, 1976 Lyons et al., 1986 Stevens, 1976	HbA1 (%)	G G DM DM G	< 10 9 - 15 5 - 8	4 - 6 8.50		X Glukose	Kennedy et al., 1982
SAIMN, 1990 Lyons et al., 1986	HDL-C mmol/L	G Man G Vrou DM	> 0.8 > 0.9	1.34			
SAIMN, 1990 Lyons et al., 1986	LDL-C mmol/L	< 30 jaar > 30 jaar DM	< 4.4 < 4.9	2.90			
SAIMN, 1990	TP g/L	G	55 - 83				
SAIMN, 1990 Juhan-Vague, 1989 Racah, 1993 Lyons et al., 1986	Triasielgliserole mmol/L	G DM G HT HL DM	< 2 0.9 - 8.8 0.6 - 1.9	2.5 1.0 1.23 3.52 1.33 1.28		X PAI X tPA	Racah et al., 1993 Mehta et al., 1987
NPHS (1) Gothenberg (2) Leigh (3) Gandrille et al., 1990	Fibrinogeen g/L	G G G		2.90 3.30 3.00		X TC X TG X Glukose	Tarallo et al., 1992 Ernst, 1992 Ernst, 1992
Blombäck et al., 1992 Nair et al., 1991	LMV (Da/cm X 10E12)	G < Fbg > Fbg G		23.9 14.0 12.5 23.11		X Fibrinolitiese aktiwiteit X Kompaksie X LDL-C	Gabriel et al., 1992 Gunnarson, 1980 Nair et al., 1981 Blombäck et al., 1992
Nair et al., 1991	Kompaksie (%)	G		26			
Gunnarson, 1980 McVerry et al., 1981	Stolbaarheid (%)	DM DM		Verhoog Onverhoog		X Fibrinolitiese aktiwiteit	Gunnarson, 1980
Jones & Peterson, 1979 Brownlee et al., 1983	Leef tyd van plasmafibrinogeen	DM DM		Verminder Verleng			
Sprengers & Kluit, 1987 Juhan-Vague, 1989 Racah, 1993 Gandrille et al., 1990 Gandrille et al., 1990 Juhan-Vague, 1989 Janesson et al., 1991 Lütjens et al., 1985	PAI-aktiwiteit nmol/L E/ml E/ml tPA-aktiwiteit E/ml FGk umolGk/100 mg Fib	G DM G HT HL DM G HL G DM	0.0 - 1.3 21.8 7.7 9.76 15.2 13.4 0.1 - 2.4 15.7 6.6 0.1 1.06 1.30			X TG X Ouderdom X Fibrinolise	Racah et al., 1993 Mehta et al., 1987 Brownlee et al., 1983

G = Gesonde proefpersone ; HL = Hipertlipidemies ; HT = Hipertiglisieridemies
DM = Diabetes mellitus ; GEM = Gemiddeld ; FGK = Geglikosileerde fibrinogeen
LMV = Lengte/massa-verhouding van fibrinvesels
> Fbg = persone met hoë fibrinogeen ; < Fbg = persone met lae fibrinogeen
(1) = Meade (1984) ; (2) = Wilhelmssen et al. (1984)
(3) = Stone & Thorp (1985)

dieselfde veranderlikes onder patologiese toestande. In die literatuur word aangetoon dat die teenwoordigheid van aterosklerotiese letsels met ouderdom vermeerder en dat ouderdom beide fibrinogenolitiese veranderlikes en stollingsprosesse beïnvloed (Blombäck et al., 1992).

■ NIDDM is 'n patologiese toestand wat in die meerderheid van die populasie eers na 40-jarige ouderdom ontwikkel. Dit was dus noodwendig dat 'n ouderdomsverskil teenwoordig sou wees. Ouderdom is dus in hierdie studie as 'n onafhanklike veranderlike beskou.

5.2 VERGELYKENDE STUDIE

Die onderhawige studie is ontwerp om vas te stel of glikosilering van fibrinogeen die konsentrasie en eienskappe daarvan beïnvloed. Dit is die hoofrede waarom diabetes mellitus pasiënte wat verhoogde bloedglukosevlakke en dus ook verhoogde geglikosileerde proteïene vertoon, met kontroleproefpersone vergelyk is. Om te kontroleer vir die hiperlipidemie van diabetes mellitus pasiënte, is nie-diabetiese hiperlipidemiese pasiënte ook ingesluit.

5.2.1 Biochemiese veranderlikes

Die belangrikste en betekenisvolle ($p < 0.05$) resultate wat in hierdie studie by die diabetes mellitus pasiënte, in vergelyking met die kontroles na vore gekom het, kan as volg opgesom word :

■ TC, LDL-C en TG was verhoog in diabetes mellitus pasiënte, terwyl HDL-C verlaag was.

■ Glukose, geglikosileerde fibrinogeen, HbA₁ en albumien was verlaag. TP was verhoog.

■ Fibrinogeen, stolbaarheid van fibrinogeen, tPA(Ag) en PAI-1-aktiwiteit was verhoog.

■ Lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en kompaksie van die fibrienstolsels was verlaag.

■ Die TP/albumien- en die albumien/fibrinogeen-indeks was verlaag.

Die volgende resultate is in die hiperlipidemiese groep, in vergelyking met die kontrolegroep, waargeneem :

- TC, LDL-C en TG was verhoog.
- Fibrinogeen, geglikosileerde fibrinogeen en tPA(Ag) was verhoog.
- Lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en kompaksie van die fibrienstolsels was verlaag.

5.2.1.1 Verhoogde fibrinogeen

Resultate van die Framinghamstudie (Kannel et al., 1990) het aangetoon dat fibrinogeenvlakke in diabetes mellituspatiënte verhoog is. Die resultate van hierdie studie ondersteun hierdie bevinding. Kannel et al. (1990) rapporteer dat dit wil voorkom asof abnormale glukosetoleransie 'n invloed uitoefen wat onafhanklik is van die hoof-geïdentifiseerde koronêre risikofaktore. Hierdie unieke effek kan verwant wees aan die verhoogde trombogeniese faktore, soos fibrinogeen. Data uit die Framinghamstudie het ook aangetoon dat verhoogde fibrinogeenvlakke oor die hele reeks van verskillende bloedsuikervlakke voorkom. Kannel et al. (1990) korreleer diabetes ook met verhoogde aterogeniese faktore, insluitende obesiteit, lae vlakke van HDL-C en hipertriglisieriedemie. Die vraag ontstaan nou of geglikosileerde fibrinogeen, bygedra het tot die verhoogde vlakke van fibrinogeen, moontlik omdat geglikosileerde fibrinogeen moeiliker gekataboliseer word as ongeglisosileerde fibrinogeen (Brownlee et al., 1983). Die korrelasie tussen geglikosileerde fibrinogeen en fibrinogeenkonsentrasie in die totale groep was ($r = 0.30$: $p = 0.019$). Dit lyk dus of glikosilering van fibrinogeen mag bydra tot die hoë konsentrasie daarvan, nie net in by gesonde proefpersone, wat nog min aterosklerotiese letsels

ontwikkel het, te ondersoek en te vergelyk met die diabetes mellitus pasiënte nie, maar ook in die algemeen.

Verhoogde fibrinogeenvlakke in hiperlipidemiese pasiënte is ook deur verskeie ander studies aangetoon (Tarallo et al., 1992). In hierdie studie het die hiperlipidemiese pasiënte betekenisvol hoër fibrinogeenvlakke as die kontrolegroep gehad. In die hiperlipidemiese pasiënte kan verhoogde fibrinogeen nie aan die abnormaliteit van die glukosebeheer, soos in die geval van die NIDDM-pasiënte, toegeskryf word nie. Daar moet dus ander, tot nou toe onbekende, faktore wees wat die fibrinogeenvlakke in hiperlipidemiese pasiënte verhoog. Dit is moontlik dat die teenwoordigheid van verhoogde lipiedvlakke byvoorbeeld, die verwydering van fibrinogeen uit die sirkulasie beïnvloed. Die voorkoms van verhoogde fibrinogeenvlakke met verhoogde totale cholesterol sal die pasiënte se risiko vir KHS verder verhoog.

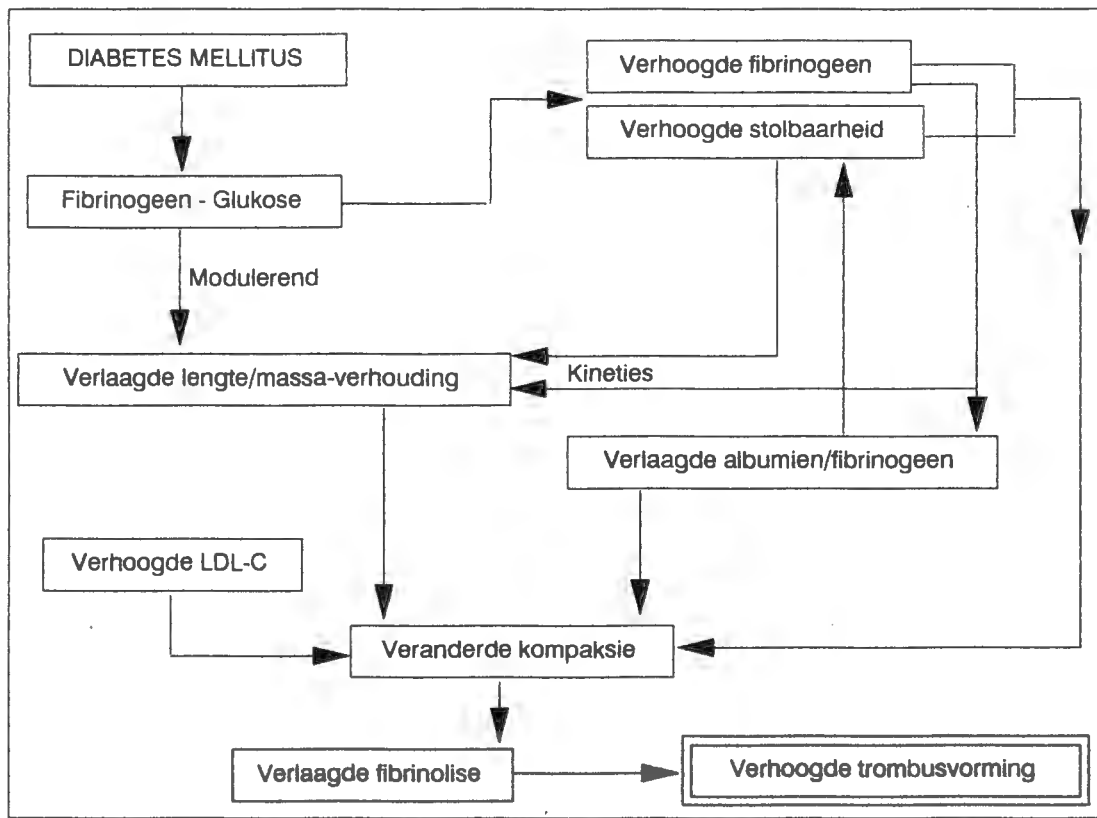
Daar is waargeneem dat albumienvlakke by diabetes mellituspasiënte verlaag was. Hierdie daling in albumienvlakke, wat met 'n toename in fibrinogeenvlakke gepaard gaan, verhoog die plasmaviskositeit (Khodabandehlou & Devehat, 1990) en waarskynlik ook risiko vir trombogenese (Blombäck et al., 1992) in die diabetiese pasiënte.

5.2.1.2 Die funksionele eienskappe van fibrinogeen (LMV, kompaksie en stolbaarheid)

Blombäck et al. (1992) rapporteer dat enige faktor wat met verhoogde fibrinogeen gekoppel is en die reologie of stolsselstruktuur beïnvloed, ook vir trombose en KHS in ag geneem moet word. In hierdie afdeling van die studie is daar ook gekyk of geglikosileerde fibrinogeen die funksionele eienskappe daarvan beïnvloed. Die geglikosileerde fibrinogeen was betekenisvol hoër in die NIDDM-pasiënte as in die kontroleproefpersone en hiperlipidemiese pasiënte. Die lengte/massa-verhouding van

fibrienvesels, kompaksie van die fibrienstolsels en % stolbaarheid van fibrinogeen was in beide hierdie groepe verskillend van die kontrolegroep. Dit laat die vermoede ontstaan dat die glikosilering van fibrinogeen, wel die funksionele eienskappe daarvan beïnvloed het (kyk figuur 5.1).

Glikosilering van fibrinogeen, wat op die vrye lisielkettings van die molekule plaasvind, kan moontlik die kwaternêre struktuur, asook funksie en die fibrinolitiese proses, beïnvloed (Lütjens et al., 1985). Lisielkettings speel ook 'n belangrike rol in die kruisbinding van fibrienmonomere. Hatton et al. (1993) het aangetoon dat geglikosileerde fibrinogeen 'n gedegradeerde vorm van die α -ketting besit. Hierdie fibrinogeenmolekule besit 'n veranderde vermoë om met trombiën te bind en dus te polimeriseer. Die α -ketting is 'n hoofsetel van binding met sekere ensieme. Dus kan dit die fibrinogeenmolekule se vermoë om met sekere ensieme te bind, verander. Hulle werk dui daarop dat fibrinogeen in die geglikosileerde vorm makliker deur die fibrinogenolitiese ensieme afgebreek kan word. Daarenteen het Brownlee et al. (1983) aangetoon dat glikosilering van fibrinogeen die molekule minder ontvanklik maak vir ensiematiese afbraak. Die geglikosileerde fibrinogeen het minder plek vir binding met FXIII, die fibrienstabiliseringsfaktor, wat aanleiding gee tot 'n verandering in die stolstruktuur wat deur fibrien gevorm word. McVerry (1981) se resultate toon geen verandering in die eienskappe van fibrinogeen tydens glikosilering van die molekule nie. Ravaglia (1992) het aangetoon dat glikosilering van fibrinogeen aanleiding gee tot beide verhoogde fibrinogeenvlakke asook verhoogde stolbaarheid van die fibrinogeenmolekule. Hierdie resultate word ook deur Gunnarson (1980) ondersteun.



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

Die verhoogde glikosilering van fibrinogeen wat in hierdie studie in hiperlipidemiese pasiënte waargeneem is, is ook moontlik vir 'n ander rede van belang : Ducroq et al. (1985) het aangetoon dat verhoogde glikosilering, onafhanklik van hiperglukemie, van ATIII kan plaasvind. Die oorsaak daarvan is nog onbekend, maar mag die belangrikheid van hierdie resultate nie onderskat word nie. Die moontlikheid bestaan dat sekere patologiese omstandighede die fibrinogeenmolekuul en ander stollingsfaktore, meer ontvanklik maak vir binding met ander molekule.

Fibrinogeen wat vorm tydens die teenwoordigheid van defektiëwe fibrinopeptied A, vorm stolsels waarvan die vesels langer en dunner is (Blombäck, 1978). Sulke stolsels is meer rigied. Die tipe stolsels wat by die diabetes mellitus pasiënte in hierdie studie verkry is, het getuig van 'n meer rigiede stolsel. 'n Moontlike verklaring daarvoor is dat geglikosileerde fibrinogeen, wat by die diabetes mellitus pasiënte verhoog was, hoofsaaklik punt-aan-punt polimerisering ondergaan. Dit gee aanleiding tot langer en dunner vesels. Hierdie tipe polimerisering vind hoofsaaklik plaas deur verwydering van fibrinopeptied B, wat die tempo van veselvorming versnel (Hantgan & Hermans, 1979 ; Nawarawong et al., 1991). Dit verskaf ook 'n moontlike rede vir die verhoogde stolbaarheid van die fibrinogeen in die diabetes mellitus pasiënte. Stolsels van hierdie aard, soos in die geval van die diabetes mellitus pasiënte, is 'n aanduiding daarvan dat meer kruisbindings tussen die fibrienmonomere in 'n stolsel gevorm word (Azhar et al., 1990).

5.2.1.3 Die albumien/fibrinogeen-indeks

'n Moontlikheid bestaan dat die lae albumienkonsentrasie in die diabetes mellitus pasiënte die stolselstruktuur verder nadelig kon beïnvloed. Dit is bekend dat albumien die netwerkeienskappe van fibrien verander deur binding met trombien, asook as gevolg van steriese hindernisse (Nair & Dhall, 1991). Albumien veroorsaak verhoogde vorming van klein fibrienstrukture (leptofibrille) in die fibrienstolsel (Galanakis et al., 1987). Alhoewel hierdie tipe stolsel minder plasties en vormbaar is, gaan die effek gepaard met 'n verhoogde fibrinolitiese aktiwiteit (Gandrilie & Aiach, 1990). Laasgenoemde geld egter slegs by hoë albumienkonsentrasies. Lae albumienkonsentrasies gee aanleiding tot die vorming van groter fibriendrade (pachifibrille) in 'n fibrienstolsel. Hierdie effek gaan gepaard met verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit (Galanakis et al., 1987). Die effek van albumien op die

fibrienstolsel kan egter as 'n beskermingsmeganisme in gesonde proefpersone beskou word. Albumien verhoog die kritiese monomeer/oligomeer-konsentrasie waarby jelvorming plaasvind. As 'n tweede effek verhoog dit fibrinogeenafhanklike fibrienoplosbaarheid (Galanakis et al., 1987). Albumien beskerm die individu dus teen die effek van verhoogde fibrinogeenkonsentrasies. Diabetes mellitus pasiënte het verhoogde fibrinogeenvlakke, met gepaardgaande verlaagde albumienvlakke. Dit is waarskynlik die verhouding van die konsentrasie van hierdie twee proteïene wat 'n beslissende rol speel in die onderhoud van hierdie beskermingsmeganisme (Galanakis et al., 1987). 'n Mens kan dus verwag dat albumien se beskermingsmeganisme verlore sal gaan in diabetes mellitus pasiënte. Die albumien/fibrinogeen-indeks was baie laer in die diabetes mellitus pasiënte as in die hiperlipidemiese en kontroleproefpersone.

Fibrinogeen- en albumiensintese is negatief verwant (Rupp & Fuller, 1979). 'n Versteuring in die albumien/fibrinogeen-indeks, mag moontlik ook die kompaksie van die fibrienstolsels beïnvloed. Blombäck et al. (1992) het aangetoon dat albumien, wat as 'n modulerende faktor tydens fibrienvorming optree, die kompaksie van die fibrienstolsels beïnvloed. Verlaagde modulerende faktore beïnvloed die kompaksie van die fibrienstolsel op 'n negatiewe wyse. Die gevolg is 'n stolsel wat meer rigied en ondeurlaatbaar is. Sulke stolsels is meer bestand teen ensiematiese afbraak.

Verlaagde albumienvlakke wat met verhoogde fibrinogeenvlakke gepaard gaan, lei tot verhoogde viskositeit van heelbloed (Khodabandehlou & Devehat, 1990 ; DiMinno et al., 1990). Dit is 'n indirekte gevolg van fibrinogeen se hoë molekulêre gewig en albumien se hoë konsentrasies in bloed. Viskositeit bepaal die interne weerstand van bloed om te vloei. Die fibrinogeen/albumien-indeks gee dus 'n belangrike aanduiding van die viskositeit

van bloed. Soos reeds genoem, was hierdie indeks verlaag in diabetes mellituspatiënte. Daar kan dus afgelei word dat die diabete se bloed meer viskoos was as dié van die kontroleproefpersone. Die verhoogde viskositeit van die bloed gee aanleiding tot verhoogde hemoreologiese risiko (Khodabandehlou & Devehat, 1990). Dit word weerspieël in die verhoogde sterftesyfer van diabetes mellituspatiënte aan hemoreologies-verwante siektes (Nair et al., 1990). Verlaagde albumienvlakke gee verder aanleiding tot verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit (Aiach, 1990).

Soria et al. (1992) skryf die voorkoms van trombose aan verlaagde fibrinolitiese ontvanklikheid van die fibrienstolsel toe. 'n Verandering in die stolselstruktuur, veroorsaak deur 'n foutiewe binding tussen fibrinogeen en trombien, mag volgens hom ook 'n rol speel. Fibrienstolsels met lang en dun fibrienvesels is minder ontvanklik vir fibrinolitiese ensieme (Gabriel et al., 1992). By lang vesels is daar 'n laer tempo van omset van plasminogeen na plasmien deur tPA en word die dun vesels dus stadiger verteer. Dik vesels beslaan 'n groter oppervlak waarop die vorming van die PAI-tPA-kompleks kan plaasvind (Gabriel et al., 1992). Dit blyk dus dat fibrienstolsels in die diabetes mellituspatiënte stadiger verteer sal word. Hierdie stelling word verder ondersteun deur die verlaagde kompaksie van die fibrienstolsels wat in die diabetes mellituspatiënte waargeneem is. 'n Verlaagde kompaksie van die fibrienstolsels dui op 'n rigiede stolsel met kleiner porieë, wat minder spasie laat vir ensieme wat vir die afbraak van die stolsel verantwoordelik is (Blombäck et al., 1992).

5.2.1.4 tPA, PAI-1 en fibrinolytiese vermoëns

In hierdie studie was beide PAI-1-aktiwiteit en tPA(Ag) in die diabetes mellituspatiënte verhoog. Slegs tPA(Ag) was in die hiperlipidemiese pasiënte verhoog. Haverkate (1990) meen dat insulienweerstand die oorsaak van verhoogde PAI-1-

vlakke is. Daar bestaan ook 'n sterk korrelasie tussen PAI-1-aktiwiteit en TG (Mehta et al., 1987). 'n Hoë PAI-1-konsentrasie kan die risiko vir trombose verhoog. Eliasson et al. (1993) noem dat PAI-1 'n bepaler is van tPA-aktiwiteit. Verhoogde PAI-1-vlakke kan dus 'n belangrike effek hê al sou tPA-vlakke verhoog wees. 'n Moontlike verklaring van die verhoogde tPA(Ag)-vlakke in die diabetes mellitus pasiënte is die hoë ouderdom van hierdie groep. tPA(Ag) word met 'n toename in ouderdom geassosieer (Eliasson et al., 1993). Om die moontlike effek van ouderdom op tPA(Ag) vas te stel, is 'n variansie-analise met ouderdom as kovariant uitgevoer. Die resultate het steeds op betekenisvolle hoër tPA(Ag)-vlakke in die diabetes mellitus pasiënte aangedui. tPA(Ag) was dus onafhanklik van ouderdom in hierdie groep verhoog.

Die verhoogde PAI-1-vlakke van die diabetes mellitus pasiënte lei tot verhoogde tPA-inhibering, wat tot verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit lei. Die verhoogde tPA(Ag)-vlakke tydens verlaagde fibrinolitiese aktiwiteit in die diabetes mellitus pasiënte, is moontlik as gevolg van die voorkoms van onaktiewe tPA-PAI-1-komplekse, wat tot verlaagde vlakke vry tPA in die sirkulasie aanleiding gee. Die liggaam probeer vir hierdie tekort aan tPA kompenseer, deur tPA-produksie te verhoog. Sodoende verhoog die tPA(Ag)-vlakke (Auwerx et al., 1988). In die diabetes mellitus pasiënte het die liggaam dus vir die tekort aan tPA gekompenseer. Dit het in 'n mindere mate in die hiperlipidemiese pasiënte plaasgevind. Die hiperlipidemiese pasiënte se verhoogde PAI-1-vlakke gepaardgaande met normale tPA(Ag)-vlakke getuig dus van lae fibrinolitiese aktiwiteit, waarvoor die liggaam nie ten volle kompenseer nie. ('n Variansie-analise met ouderdom as kovariant, het aangetoon dat tPA(Ag)-vlakke nie verhoog was in die hiperlipidemiese pasiënte nie.)

Van Wersch et al. (1991) het bevind dat verhoogde fibrinolitiese aktiwiteit in diabetes mellitus pasiënte

teenwoordig is. Aangesien tPA(Ag) in hierdie studie gemeet is en nie tPA-aktiwiteit nie, is dit moeilik om tPA(Ag) te gebruik as aanduider van die mate waartoe fibrinolise plaasvind. Dit is meer 'n aanduiding van fibrinolitiese vermoëns.

Indien die verhoogde stolbaarheid van fibrinogeen, verlaagde lengte/massa-verhouding van fibrienvesels en verlaagde kompaksie van die fibrienstolsels in die diabetes mellitus pasiënte aan abnormale glukosebeheer toegeskryf word, word die vraag afgevra waarom hierdie faktore in die hiperlipidemiese pasiënte van dieselfde getuig, alhoewel daar 'n normale glukosebeheer teenwoordig is. Blombäck et al. (1992) skryf hierdie effek toe aan verhoogde LDL-C-vlakke. Hierdie groep se navorsing dui daarop dat verhoogde vlakke LDL-C 'n modulerende effek op stolselstruktuur uitoefen, maar dat die oorsaak nog onbekend is. Die LDL-C verander dus nie die struktuur van die fibrinogeenmolekuul soos in die geval van glikosilering nie. In hierdie studie was LDL-C in die diabetes mellitus pasiënte ook betekenisvol verhoog. Indien Blombäck se bevinding by hierdie studie gereken word, kan gesê word dat die diabetes mellitus pasiënte 'n tweede faktor, verhoogde LDL-C het wat die stolselstruktuur verder benadeel. Blombäck et al. (1992) se resultate verskaf egter nie 'n verduideliking waarom die stolbaarheid van die geïsoleerde fibrinogeen in die hiperlipidemiese pasiënte verhoog is nie. Hierdie effek word moontlik op genetiese vlak, tydens fibrinogeensintese, bemiddel.

5.2.2 Elektronmikroskopie

Die resultate van die elektronmikrograwe van die fibrienstolsels, het die resultate van die biochemiese veranderinge en die afleidings wat daaruit hierbo gedoen is, ondersteun.

Die belangrikste resultate vanuit hierdie afdeling van die studie kan as volg opgesom word :

▪ Abnormale metabolisme soos diabetes mellitus en hiperlipidemie wat met glikosilering van proteïene en verhoogde LDL-C gepaard gaan, affekteer die argitektuur van fibrienstolsels. Die funksionele eienskappe van fibrinogeen word dus verander.

▪ Die tipe stolsel wat tydens diabetes mellitus en hiperlipidemie gevorm word, lei tot rigiede stolsels wat harder en minder vormbaar is. Die oorsaak hiervan lê in die lengte/massa-verhouding van die fibrienvesels in die stolsel, wat getuig van langer en dunner vesels met 'n hoër knooppuntdigtheid. Hierdie stolsels is meer bestand teen ensiematiese afbraak (Blombäck et al., 1992).

5.3. INTERVENSIESTUDIE

5.3.1 Inleiding

Die oorkoepelende doel van die intervensiestudie, was om vas te stel tot watter mate metaboliese beheer ten opsigte van bloedglukose en -lipoproteïene, asook konsentrasie en funksionele eienskappe van plasmafibrinogeen deur dieet by diabetes mellitus pasiënte beïnvloedbaar is. 'n Basiese energie-beperkte agtergronddieet (hoë-koolhidraat- , hoë-vesel, lae-vetdieet) is aan die pasiënte voorgeskryf. 'n Groep van 16 diabete het hierdie dieet vir 16 weke gevolg. Hierdie groep is in twee groepe afgepaar. Die een groep se dieet is met 'n porsie 150 g gaar droëbone per dag gesupplementeer en die ander groep se dieet met 50 g (rou gewig) sojaproteïen. Die droëbone groep het dus 'n plantproteïen-plus-dieetvesel supplement ontvang en die sojagroep slegs die plantproteïen. Beide die droëbone en sojakonsentraat het waarskynlik anti-nutriënte bevat. Om die onafhanklike effek van vesel op die veranderlikes waar te neem, moes die verskil tussen die twee proefgroepe se

eindresultate uitgedissekteer word.

Die belangrikste betekenisvolle effekte wat in hierdie studie tussen basislyn- en eindbesoek (16 weke) na vore gekom het, kan as volg opgesom word :

Die bonedieet :

- % Stolbaarheid van fibrinogeen het betekenisvol afgeneem.
- Fruktosamien het betekenisvol afgeneem.
- Die TP/albumien-indeks het betekenisvol afgeneem.

Die sojadieset :

- Gewig van die pasiënte het betekenisvol afgeneem
- TC, LDL-C, HDL-C en fibrinogeen het betekenisvol afgeneem.
- % Stolbaarheid van fibrinogeen het betekenisvol afgeneem.
- Beide geglikosileerde fibrinogeen en hemoglobien het betekenisvol verlaag.
- Die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels het betekenisvol toegeneem.

5.3.2 Bespreking van beide diëte se resultate

Die effek van 'n dieet op fisiologiese veranderlikes kan toegeskryf word aan primêre en/of sekondêre effekte. Primêre effekte, soos gewigsverlies as gevolg van 'n verlaagde energie-inname of die bekende effek van dieetvesel op serumcholesterolvlakke, word direk deur die inhoud van die dieet gemedieer. Sekondêre effekte word deur 'n primêre effek gemedieer, byvoorbeeld gewigsverlies kan ook serumcholesterolvlakke beïnvloed.

▪ Primêre effekte

Die sojadieet se primêre effek word in die betekenisvolle verlaging van die pasiënte se liggaamsgewig weerspieël. Die bonedieet het ook tot gewigsverlies aanleiding gegee, maar die afname was nie betekenisvol nie.

▪ Sekondêre effekte

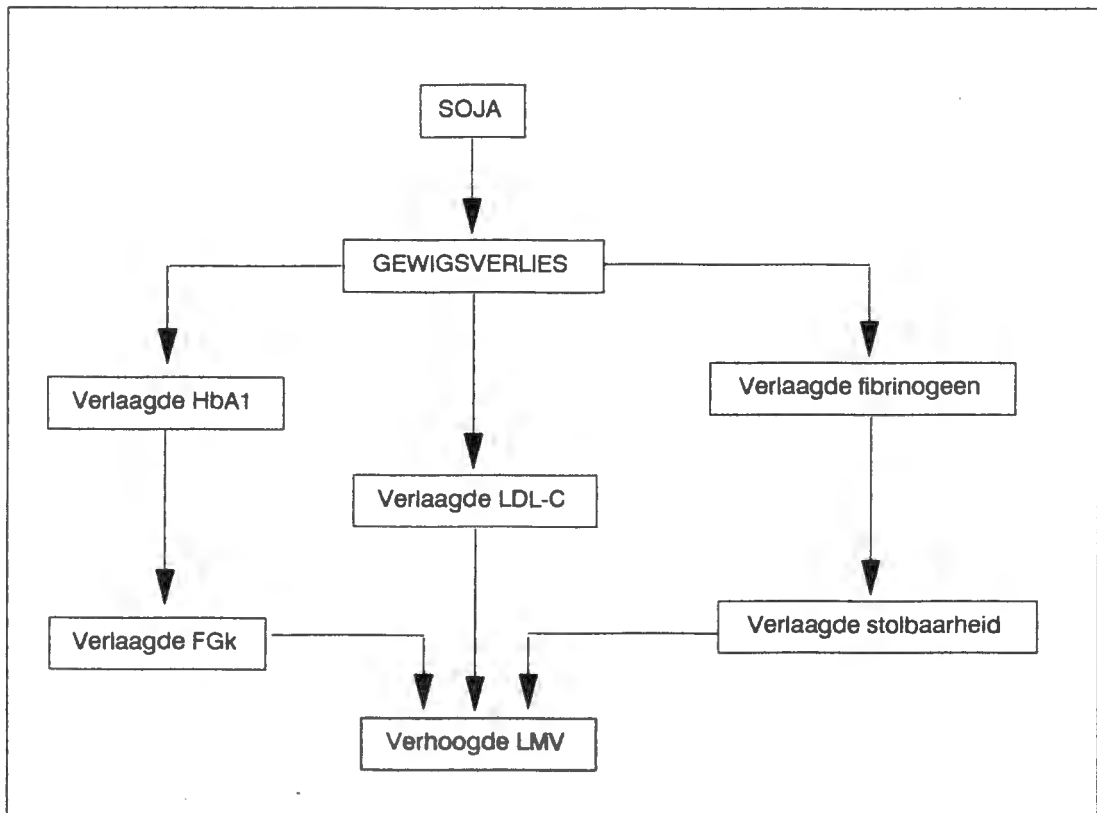
Die sojagroep :

Die afname in liggaamsgewig in die sojagroep was heel moontlik die oorsaak van die afname in serumlipiede (veral LDL-C), fibrinogeen en HbA₁ (dus 'n sekondêre effek ; kyk figuur 5.2). 'n Regressie-analise het aangetoon dat die korrelasie tussen die afname in HbA₁ en die afname in geglikosileerde fibrinogeen hoogs-betekenisvol was ($\beta = 0.90$: $p = 0.01$). Dit wil dus voorkom asof die afname in geglikosileerde fibrinogeen, met die afname in HbA₁ gepaard gegaan het. Die afname in stolbaarheid van die fibrinogeenmolekuul was vermoedelik gereguleer deur die afname in fibrinogeenvlakke ($\beta = 0.67$: $p = 0.01$).

Die afname in stolbaarheid van fibrinogeen, LDL-C en geglikosileerde fibrinogeen het moontlik gesamentlik tot die afname in die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels aanleiding gegee (kyk figuur 5.2).

Die verandering in konsentrasies van geglikosileerde proteïene was 'n aanduiding van 'n verandering in die langtermyn hiperglukemie (soos gerapporteer deur Koskinen et al., 1993). Geglikosileerde proteïene in hierdie studie, het nie net langtermynbeheer gereflekteer nie, maar ook korttermynbeheer. HbA₁ reflekteer glukemiese beheer oor 'n tydperk van 3 maande (Koskinen et al., 1993), fruktosamien oor 'n tydperk van 20 dae (Baker et al., 1984), geglikosileerde fibrinogeen oor 'n tydperk van 3 - 4 dae (Lütjens et al., 1985) en glukose self, die onmiddellike toestand van glukemiese beheer op 'n gegewe oomblik (Mc

Verry et al., 1981). Die effek van die sojadieet was op beide langtermynbeheer (HbA_1) en korttermynbeheer (geglikosileerde fibrinogeen) sigbaar.



Figuur 5.2 Moontlike oorsake vir die afname in LMV van fibrienvesels tydens die volg van die sojadieet.

Die boneegroep:

Aangesien die primêre effek van die bonedieet kleiner was as in die sojadieet, kan dit te wagte wees dat die sekondêre effekte nie so groot sou wees nie. Dit word deur die gemete veranderlikes weerspieël.

Die betekenisvolle afname in stolbaarheid van fibrinogeen was vermoedelik gemedieer deur die afname in fibrinogeen- en toename in albumienvlakke (waarvan nie een betekenisvol verander het nie, maar wel in daardie rigting geneig het).

Die korrelasie tussen die afname in % stolbaarheid van fibrinogeen en die verandering in die albumien/fibrinogeen-indeks was hoogs-betekenisvol ($\beta = - 1.1 : p = 0.0006$). Die vermoede bestaan dus dat die gesamentlike effek van fibrinogeen en albumien groot genoeg was om die stolbaarheid van fibrinogeen betekenisvol te laat daal.

TP/albumien-indeks het ook betekenisvol afgeneem in die bonedieet. Dit toon aan dat die verhouding van albumien tot die totale proteïenkonsentrasie toegeneem het. Daar was dus meer albumien, in verhouding, as tydens basislyn. Soos reeds hierbo vermeld, veroorsaak 'n toename in albumien die afname van die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels. Die verhouding albumien tot totale proteïen het moontlik hierdie effek op die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels gehad. Dit word vermoed dat geen betekenisvolle verskille in die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels waargeneem is nie, aangesien die ander faktore wat hierdie veranderlike bevoordeel, nie genoegsaam verander het om die effek van albumien uit te kanselleer nie. Die vraag ontstaan egter of 'n onveranderde lengte/massa-verhouding van fibrienvesels, in hierdie geval, nie as 'n voordelige effek beskou moet word nie, aangesien die effek hoofsaaklik deur albumien gemedieër was. Soos reeds vermeld, verhoog 'n albumiengemedieërde verlaging in lengte/massa-verhouding van fibrienvesels die ensiematiese afbraak, ten spyte van langer en dunner vesels, van die stolsel.

Die afname in fruktosamien was 'n duidelike bewys van verbetering in glukemiese beheer oor 'n tydperk van ongeveer 20 dae (Baker et al., 1984), alhoewel HbA₁ nie betekenisvol afgeneem het nie. Dit is moontlik dat met 'n groter groep, hierdie veranderinge in fruktosamien meer betekenisvol sou gewees het.

5.3.3 Die effek van vesel op die gemete veranderlikes

Die verskil tussen die twee diëte se eindresultate, verteenwoordig waarskynlik die onafhanklike effek van die vesel in die bonedieet. Die enigste veranderlike wat betekenisvol tussen die soja- en bonegroep verskil het, was PAI-1. PAI-1-aktiwiteit was betekenisvol laer in die sojagroep. Dit mag aanvanklik na 'n klein verskil lyk, maar dit mag van groot kliniese belang wees.

PAI-1 is 'n belangrike faktor in die proses van fibrino(geno)lise (2.3.1.6). PAI-1 inhibeer die fibrino(geno)litiese proses. 'n Afname in PAI-1-vlakke sal dus 'n toename in fibrino(geno)lise aandui. Die effek van vesel op die PAI-1-vlakke was dus nie so voordelig as die effek van plantproteïene van die sojaproduk alleen nie.

Daar kan dus tot die slotsom gekom word dat die effek van vesel in samewerking met die plantproteïene, nie dieselfde gewenste uitwerking soos die sojaproduk op hierdie veranderlike gehad het nie en moet dié effek verder bestudeer word. Die moontlike oorsake hiervoor is nog onduidelik.

HOOFSTUK 6

GEVOLGTREKKING EN AANBEVELINGS

6.1 Gevolgtrekkings

6.1.1 Verhoogde fibrinogeen en geglikosileerde fibrinogeen

Glikosilering van fibrinogeen het waarskynlik bygedra tot die hoë konsentrasie daarvan in diabetes mellituspatiënte. Die hiperlipidemiese pasiënte het egter nie abnormale glukosebeheer gehad nie en daarom kan verhoogde fibrinogeen nie net aan die abnormaliteit van die glukosebeheer toegeskryf word nie. Dit is duidelik dat 'n kombinasie van faktore wat fibrinogeensintese, -sekresie en -afbraak affekteer, die konsentrasie daarvan in plasma beïnvloed.

Hierdie studie het aanduiding verskaf dat faktore wat verantwoordelik is vir die hiperlipidemiese toestand, ook moontlik plasmafibrinogeenvlakke mag beïnvloed.

Verbetering in glukemiese beheer van diabetes mellituspatiënte, wat waarskynlik die gevolg van die HVHKLV-dieet kan wees, verminder die mate waartoe glikosilering van fibrinogeen plaasvind.

6.1.2 Funksionele eienskappe van fibrinogeen

Glikosilering van fibrinogeen speel waarskynlik 'n belangrike rol in die verandering van sommige funksionele eienskappe daarvan. Die tipe stolsel van diabetes mellituspatiënte se plasma word aan 'n hoë digtheid van fibrienvesels gekenmerk.

Volgens resente literatuur is hierdie stolsels meer bestand teen ensiematiese afbraak as in die geval van die plastiese

en vormbare stolsels wat by gesonde persone vorm ((Blombäck et al., 1992). Fibrinogeen is self 'n hoofreguleerder van die stolbaarheid van die fibrinogeenmolekuul. Die verhouding van albumien/fibrinogeen speel 'n belangrike rol in die bepaling van die stolselstruktuur. 'n Afname in stolbaarheid van fibrinogeen, LDL-C en geglikosileerde fibrinogeen lei gesamentlik tot 'n afname in die lengte/massa-verhouding van fibrienvesels. Hierdie effek kan waarskynlik deur 'n HVHKLVD-dieet geïndusseer word.

6.1.3 Fibrino(geno)litiese vermoëns

Die waargenome verswakte fibrino(geno)litiese vermoëns in diabetes mellitus pasiënte, gekenmerk deur verhoogde PAI-1-aktiwiteit, gaan waarskynlik gepaard met die patologie wat met diabetes mellitus geassosieer word. Volgens die literatuur word verlaagde fibrino(geno)litiese vermoëns geassosieer met fibrienstolsels wat meer bestand teen fibrinolise is. Beide hierdie eienskappe besit definitiewe aterogeniese sowel as trombogeniese eienskappe.

6.1.4 Die albumien/fibrinogeen-indeks

Diabetes mellitus se patologie, wat met 'n verhoogde albumien/fibrinogeen-indeks geassosieer word, getuig van verhoogde risiko vir die voorkoms van hemoreologies-verwante siektes. Hierdie risiko is deur 'n verbetering in glukemiese beheer verminder na die volg van 'n HVHKLVD-dieet.

6.2 Aanbevelings

6.2.1 Glikosilering van fibrinogeen

Die strukturele verandering van fibrinogeen, wat deur glikosilering van fibrinogeen geïnduseer word, benodig verdere ondersoek. Die meganisme waardeur glikosilering van fibrinogeen die funksie daarvan beïnvloed, kan moontlik hierdeur bepaal word. So 'n ondersoek sal ook meer lig werp op die faktore wat stolselstruktuur beïnvloed.

6.2.2 Lipiede en hemostase

Hierdie studie het aangetoon dat serumlipiedvlakke ook 'n rol speel in die abnormaliteite van die hemostatiese sisteem. Die mate waartoe en die meganisme(s) waardeur serumlipiede die funksionele eienskappe van die hemostatiese sisteem beïnvloed, benodig egter verdere ondersoek. So 'n studie is van besondere belang omdat dit die behandeling van hiperlipidemiese pasiënte mag verander.

6.2.3 Dieet en hemostase

Die effekte van droëbone en 'n sojasupplement op die funksionele eienskappe van die fibrinogeenmolekuul, het verskil. Beide het egter voordelige effekte op glukemiese beheer en stollingseienskappe gehad. Die optimale dieet om stollings- en fibrinolitiese aktiwiteit by diabetes mellituspatiënte te normaliseer, benodig nog verdere ondersoek. Meer kennis oor die rol van dieetvesel en plantproteïene versus dierlike proteïene in die dieet, behoort by te dra tot die ontwikkeling van diëte wat ook die abnormale hemostase van pasiënte voordelig sal beïnvloed.

BEDANKINGS

- ! God, die Allerhoogste, vir inspirasie en verstandelike vermoëns.
- ! My studieleier en departementshoof, prof. H.H. Vorster, vir aansporing, bereidwilligheid om te help, opoffering en geldelike ondersteuning.
- ! Mev. Annemarie Kruger, my mede-leier, vir raad en hulp met die statistiek en proeflees.
- ! My ouers vir hulle bydrae tot my sukses en groei tydens my studies en vir hulle gebede en opoffering.
- ! Suster Chrissie Lessing vir die trek van alle bloedmonsters.
- ! Prof. C.S. Venter vir wyse leiding, raad en hulp.
- ! Dr. Nelly Silvis vir belangstelling en raad.
- ! My medestudente, Handri en Anesta, vir hulle gewaardeerde geduld en hulp tydens die studie en Anesta vir die dieetkontrole van die pasiënte.
- ! My seniorstudente, Johann en Welma, vir hulle hulp en ondersteuning.
- ! Die Suid-Afrikaanse Suikerassosiasie (SASA) , wat die projek geldelik moontlik maak het.
- ! Alle personeel van die Departement Voeding en Gesinsekologie, wie altyd tyd vir luister en aansporing maak het.
- ! Personeel van die Ferdinand Postma-Biblioteek, veral Interbiblioteeklenings, vir hulle hulp en betroubare diens.
- ! Personeel van Elektronmikroskopie, vir hulle hulp en neem van fotos.

KONGRESSE

Die resultate wat in hierdie verhandeling weergegee word, is reeds gedeeltelik op die volgende kongresse voorgedra :

* F.J.Veldman, H.H.Vorster, C.S.Venter, J.Jerling, J.Kellerman. 1992. Increased clottability of plasma fibrinogen in familial hypercholesterolaemic and diabetic subjects. (Annual Physiology Congress, 15-18 September 1992, Club Mykonos, Langebaan).

* F.J.Veldman, A.Verster, J.Jerling, J.Kellerman, W.J.H.Vermaak, C.S.Venter, H.H.Vorster 1993. Die invloed van tipe II diabetes mellitus op die funksie en eienskappe van plasmafibrinogeen. (Jaarlikse Kongres van die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns, 22 Junie 1993, Universiteit van Suid-Afrika, Pretoria).

* F.J.Veldman, A.Verster, J.Jerling, J.Kellerman, W.J.H.Vermaak, C.S.Venter, H.H.Vorster 1993. Function and characteristics of plasma fibrinogen in NIDDM patients. (Nutrition Congress, 6-8 Oktober 1993, Universiteit van die Oranje Vrystaat, Bloemfontein).

BIBLIOGRAFIE

- ALMER, L., SUNDKVIST, G. & LILJA, B. 1983. Fibrinolytic activity, autonomic neuropathy, and circulation in diabetes mellitus. Diabetes, 32(2):4-7.
- ARDAWI, M.S., NASRAT, H.N., MIRA, S.A. & FATANI, H.H. 1990. Comparison of glycosylated fibrinogen, albumin, and haemoglobin as indices of blood glucose control in diabetic patients. Diabetes medicine, 7(9):819-824.
- ARNOU, J., VERHAEGHE, R. & VERMYLEN, J. 1992. Diagnostisch belang van de D-dimeer bepaling. Klinische biologie, 48(14-15):1085-1088.
- AUSTIN, M.A. 1991. Triglycerides and coronary heart disease. Epidemiologic, statistical, and genetic issues. Atherosclerosis reviews, 22:65-69.
- AZHAR, A. 1990. Fibrin network structure and diabetes : effects of antidiabetic drugs. (In Zaidi & Abassi, eds. Protein structure-function. Sydney : TWEL. 41-48p.)
- BAKER, J.R., JOHNSON, R.N. & SCOTT, D.J. 1984. Serum fructosamine concentrations in patients with type II (non-insulin-dependant) diabetes mellitus during changes in management. British medical journal, 288:1484-1486.
- BAKER, J.R., O'CONNER, J.P., METCALF, P.A., LAWSON, M.R. & JOHNSON, R.N. 1983. Clinical usefulness of estimation of serum fructosamine concentration as a screening test for diabetes mellitus. British medical journal, 287(6396):863-876.
- BERN, M.M., KLUMPAR, D.I., WHEELER, W.E. & DAVIS, G.L. 1983. Factor VIII complex in chronic renal failure : influence of protein C, fibrinolysis and diabetes mellitus. Thrombosis research, 31:177-186.

BLOMBÄCK, B., BLOMBÄCK, M., CARLSSON, K., FATAH, K., HAMSTEN, A. & HESSEL, B. 1992. Fibrin gel structure in health and disease. (In Ernst, E., Koenig, W., Lowe, G.D.O., Meade, T.W., reds. Fibrinogen : a "new" cardiovascular risk factor. Wenen : Blackwell-MZV. 11-18 p.)

BLOMBÄCK, B., HESSEL, B., HOGG, D. & THERKILDSEN, L. 1978. A two-step fibrinogen-fibrin transition in blood coagulation. Nature, 275:501-505.

BOYER, M., SHAINOFF, J.R. & RATNOFF, O.D. 1972. Acceleration of fibrin polymerization by calcium ions. Blood, 39(2):382-389.

BRASS, E.P., FORMAN, W.B., EDWARDS, W.B. & LINDAN, R.V. 1976. Fibrin formation : the role of the fibrinogen-fibrin monomer complex. Thrombosis and haemostasis, 36:36-48.

BREZNIAK, D.V., BROWER, M.S., WITTING, J.I., WALZ, D.A. & FENTON, J.W. 1990. Human α - to δ -thrombin cleavage occurs with neutrophil cathepsin G or chymotrypsin while fibrinogen clotting activity is retained. Biochemistry, 29(14):3536-3541.

BRESNICK, G.H. 1986. Diabetic retinopathy viewed as a neurosensory disorder. Archives of ophthalmology, 104(7):989-990, Julie.

BROWNLEE, M. 1990. Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis in diabetic complications. (In Rifkin, H. & Porte, D., reds. Diabetes mellitus - theory and practice, 4e uitgawe. New York : Elsevier. 279-292p.)

BROWNLEE, M., VLASSARA, H. & CERAMI, A. 1983. Nonenzymatic glycosylation reduces the susceptibility of fibrin to degradation by plasmin. Diabetes, 32:680-684.

BUNN, H.F., HANEY, D.N., KAMIN, S., GABBAY, K.H. & GALLOP, P.M. 1976. The biosynthesis of human hemoglobin A_{1c} - slow glycosylation of hemoglobin in vivo. The journal of clinical investigation, 57:1652-1659.

- CARR, M.E. 1987. Turbidimetric evaluation of the impact of albumin on the structure of thrombin-mediated fibrin gelation. Haemostasis, 17:189-194.
- CARR, M.E., CROMARTIE, R. & GABRIEL, D.A. 1989. Effect of homo poly (L-amino acids) on fibrin assembly: role of charge and molecular weight. Biochemistry, 28(3):1384-1388.
- CARR, M.E. & GABRIEL, D.A. 1980. Dextran-induced changes in fibrin fiber size and density based on wavelength dependance of gel turbidity. Macromolecules, 13(6):1473-1477.
- CARR, M.E. & HARDIN, C.L. 1987. Fibrin has larger pores when formed in the presence of erythrocytes. American journal of physiology , 253:H1069-H1073.
- CARR, M.E. & HERMANS, J. 1978. Size and density of fibrin fibers from turbidity. Macromolecules, 11(1):46-51.
- CARR, M.E. & POWERS, P.L. 1991. Differential effects of divalent cations on fibrin structure. Blood coagulation and fibrinolysis, 2:741-747.
- CARREL, N., GABRIEL, D.A., BLATT, P.M., CARR, M.E. & MC DONAGH, J. 1983. Hereditary dysfibrinogenemia in a patient with thrombotic disease. Blood, 62(2):439-447.
- CASASSUS, P., FONTBONNE, A, THIBULT, N., DUCIMETIERE, P., RICHARD, J.L., CLAUDE, J., WARNET, J., ROSSELIN, G. & ESCHWEGE, E. 1992. Upper-body fat distribution: a hyperinsulinemia-independant predictor of coronary heart disease. Arteriosclerosis and thrombosis, 12(12):1387-1392.
- CARRELL, N., GABRIEL, D.A., BLATT, P.M., CARR, M.E. & MC DONAGH, J. 1983. Hereditary dysfibrinogenemia in a patient with thrombotic disease. Blood, 62(2):439-447.

- CASTELLINO, F.J. 1984. Biochemistry of human plasmin. Seminars on thrombosis and hemostasis, 10(1):18-23.
- CEDERHOLM-WILLIAMS, S.A. 1981. The metabolism of fibrinogen and plasminogen related to diabetic retinopathy in man. Journal of clinical investigation, 11:133-138.
- CERAMI, A., STEVENS, V.J. & MONNIER, V.M. 1979. Role of nonenzymatic glycosylation in the development of the sequelae of diabetes mellitus. Metabolism, 28(4):431-437.
- CERIELLO, A., RUSSO, P.D., ZUCCOTTI, C., FLORIO, A., NAZZARO, S., PIETRANTUONO, C. & ROSATO, G.B. 1983. Decreased antithrombin III activity in diabetes may be due to non-enzymatic glycosylation - a preliminary report. Thrombosis and haemostasis, 50(3):633-634.
- CHEN, R. & DOOLITTLE, R.F. 1971. γ - γ Cross-linking sites in human and bovine fibrin. Biochemistry, 10(24):4486-449.
- CHRISTE, M., GATTLEN, P., FRITSCHI, P., LÄMMLE, B., BERGER, W., MARBET, W. & DUCKERT, F. 1984. The contact phase of blood coagulation in diabetes mellitus and in patients with vasculopathy. Thrombosis and haemostasis, 52:221-223.
- CHUNG, D.W. & DAVIE, E.W. 1984. γ and γ' Chains of human fibrinogen are produced by alternative mRNA processing. Biochemistry, 23(18):4232-4236.
- CHUNG, D. & ICHINOSE, A. 1989. Hereditary disorders related to fibrinogen and factor XIII. (In Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D., reds. The metabolic basis of inherited disease. 6e uitgawe. VSA : Mc Graw Hill. 375-780 p.)
- COLLEN, D. & LIJNEN, H.R., reds. 1992. Fibrin-specific fibrinolysis. (Annals of the New York Academy of Sciences. Plasminogen activation in fibrinolysis, in tissue remodeling, and in development. New York: Brakman & Kluft. 667:259-271 p.)

- COLLEN, D. & LIJNEN, H.R. 1990. The fibrinolytic enzyme system. (In Sawaya, R., red. Fibrinolysis and the central nervous system. Philadelphia: Hanley & Belfus. 14-25 p.)
- COMINACINI, L., GARBIN, U., DAVOLI, A., CENCI, B., PASINI, C. & BOSELLO, O. 1991. Influence of weight reduction on plasma high-density-lipoprotein cholesterol concentrations in severe obesity: interrelationships with plasma insulin levels. Annals of nutrition and metabolism, 35:339-346.
- COOK, N.S. & UBBEN, D. 1990. Fibrinogen as a major risk factor in cardiovascular disease. TIPS, 11:444-451.
- COPLEY, L.A. 1979. Fibrin(ogen), platelets and a new theory of atherogenesis. Thrombosis research, 14(2/3):249-263.
- COPPOLA, L., GIUGLIANO, D., TIRELLI, D., MISSO, L., SGAMBATO, S. & D'ONOFRIO, F. 1980. Circulating platelet aggregates induced by somatostatin in insulin-dependant diabetic subjects. Diabetes metabolism, 6:245-249.
- COTTRELL, B.A., STRONG, D.D., WATT, K.W.K. & DOOLITTLE, R.F. 1979. Amino acid sequence studies on the α chain of human fibrinogen. Exact location of cross-linking acceptor sites. Biochemistry, 18(24):5405-5410.
- DANG, C.V. & BELL, W.R. 1989. The normal and morbit biology of fibrinogen. The American journal of medicine, 87:567-574.
- DANG, C.V., SHIN, C.K., BELL, W.R., NAGASWAMI, C. & WEISEL, J.W. 1989. Fibrinogen sialic acid residues are low affinity calcium-binding sites that influence fibrin assembly. The journal of biological chemistry, 264(25):15104-15108.
- DAVIS, W., HARTMAN, C.R. & KYNER, J.L. 1982. Platelet aggregate ratio in diabetes mellitus. Acta haematologia, 67:222-224.

- DAY, J.F., THORPE, S.R. & BAYNES, J.W. 1979. Nonenzymatically glucosylated albumin: in vitro preparation and isolation from human serum. The journal of biological chemistry, 254(3):595-597.
- DE MINNO, G., GERBONE, A.M., MARGAGLIONE, M., CIRILLO, F., VECCHIONE, G., GRANDONE, E., AMES, P.R.J. & TREMOLI, E. 1990. Searching for the thrombogenic mechanism (s) of fibrinogen. Thrombosis research, suppl.XI:61-67.
- DE MINNO, G., SILVER, M.J., CERBONE, A.M., RAINONE, A., POSTIGLIONE, A. & MANCINI, M. 1986. Increased fibrinogen binding to platelets from patients with familial hypercholesterolemia. Arteriosclerosis, 6(2):206-211.
- DE SILVA, S.R., SHAW, J.E.H., PATEL, H. & CUDWORTH, A.G. 1979. Plasma fibrinogen in diabetes mellitus. Diabetes metabolism, 5:201-206.
- DISTILLER, L.A. 1983. The achievement of diabetic control. Continuing medical education, 1:25-29, Maart.
- DOLHOFF, R. & WIELAND, O.H. 1979. Glycosylation of serum albumin: elevated glycosyl-albumin in diabetic patients. FEBS Letters, 103(2):282-286.
- DOLHOFF, R. & WIELAND, O.H. 1980. Increased glycosylation of serum albumin in diabetes mellitus. Diabetes, 29:417-422.
- DONOVAN, J.W. & MIHALYI, J.W. 1985. 1. Scanning calorimetric study of the effect of calcium. Biochemistry, 24(14):3434-3443.
- DUCROQ, R., BACHOUR, H., BELKHODJA, R., BERRICHE, S. & ELIO, J. 1985. Evidence for nonenzymatic glycation of antithrombin III in diabetic mellitus. Clinical chemistry, 31:338-339.
- ECKEL, R H 1992. Insulin resistance: an adaptation for weight maintenance. The Lancet, 340(ii):1452-1453.
- EGEBERG, O. 1963. The blood coagulability in diabetic retinopathy. Scandinavian journal of clinical laboratory investigation, 15:522-535.

- EMERSON, T.E. 1989. Unique features of albumin : a brief review. Critical care medicine, 17(7):690-694.
- ENGESSER, L., KOOPMAN, J., DE MUNK, G., HAVERKATE, F., NOVAKOVA, I., VERHEIJEN, J.H., BRIET, E. & BROMMER, J.P. 1988. Fibrinogen Nijmegen : congenital dysfibrinogenemia associated with impaired t-PA mediated plasminogen activation and decreased binding of t-PA. Thrombosis and haemostasis, 60(1):113-120.
- ERNST, E. 1993. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor : a meta-analysis and review of the literature. Annals of internal medicine, 118(12):956-963.
- ERNST, E. 1992. Fibrinogen, a cardiovascular risk factor. Clinical hemorheology, 12(6):805-816.
- ERNST, E. 1990. Plasma fibrinogen - an independent cardiovascular risk factor. Journal of internal medicine, 227:365-372.
- FINLAYSON, J.S. & MOSESSON, M.W. 1963. Heterogeneity of human fibrinogen. Biochemistry, 2(1):42-46.
- FLACK, J M 1991. Epidemiologic and clinical aspects of insulin resistance and hyperinsulinemia. The American journal of medicine, 91(1A):11s-20s.
- FLÜCKIGER, R. & WINTERHALTER, K.H. 1976. In vitro synthesis of hemoglobin A_{1c}. FEBS Letters, 71(2):356-360.
- FOLSOM, A.R., QAMHIEH, H.T., WING, R.R., JEFFREY, R.W., STINSON, V.L., KULLER, L.H. & WU, K.K. 1993. Impact of weight loss on plasminogen activator inhibitor (PAI-1), factor VII, and other hemostatic factors in moderately overweight adults. Arteriosclerosis and thrombosis, 13(2):162-169.
- FOSTER, D.W. 1989. Diabetes mellitus. (In Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D., eds. The metabolic basis of inherited disease. 6de uitgawe. VSA : Mc Graw Hill. 375-780 p.)

- FOSATI, P. & ROMON-ROUSSEAU, M. 1987. Insulin and HDL-C metabolism. Diabete et metabolisme, 13:390-394.
- FRADE, L.J.G., DE LA CALLE, H., ALAVA, I., NAVARRO, J.L., CREIGHTON, L.J. & GAFFNEY, P.J. 1987. Diabetes mellitus as a hypercoagulable state : its relationship with fibrin fragments and vascular damage. Thrombosis research, 47(5):533-540.
- FRANCIS, C.W. & MARDER, V.J. 1982. A molecular model of plasmic degradation of crosslinked fibrin. Seminars in thrombosis and hemostasis, 8(1):25-35.
- FRANCIS, C.W., NACHMAN, R.L. & MARDER, V.J. 1984. Plasma and platelet fibrinogen differ in γ chain content. Thrombosis and haemostasis, 51(1):84-88.
- FRANKS, J.J., KIRSCH, R.E., FRITH, L.O'C, PURVES, L.R., FRANKS, W.T. & FRANKS, J.A. 1981. Effect of fibrinogenolytic products D and E on fibrinogen and albumin synthesis in the rat. Journal of clinical investigation, 67:575-580.
- FRETTO, L.J., FERGUSON, E.W., STEINMAN, H.M. & MC KEE, P.A. 1978. Localization of the α -chain cross-link acceptor sites of human fibrin. The journal of biological chemistry, 253(7):2184-2195.
- FULLER, J.H., KEEN, H., JARRETT, R.J., OMER, T., MEADE, T.W., CHAKRABARTI, R., NORTH, W.R.S. & STIRLING, Y. 1979. Haemostatic variables associated with diabetes and its complications. British medical journal, 2:964-966.
- FULTON, R.M. & DUCKETT, K. 1976. Plasma-fibrinogen and thromboemboli after myocardial infarction. The Lancet, (ii):1161-1167.
- FURIE, B. & FURIE, B.C. 1992. Molecular and cellular biology of blood coagulation. The New England journal of medicine, 326(12):800-806.

- FUSTER, V., BADIMON, L., BADIMON, J.J. & CHESEBRO, J.H. 1992. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (I). The New England journal of medicine, 326(4):242-250.
- GABRIEL, D.A., MUGA, K. & BOOTHROYD, E.M. 1992. The effect of fibrin structure on fibrinolysis. The journal of biological chemistry, 267(34):24259-24263.
- GALANAKIS, D.K., LANE, B.P. & SIMON, S.R. 1987. Albumin modulates lateral assembly of fibrin polymers : evidence of enhanced fine fibril formation and of unique synergism with fibrinogen. Biochemistry, 26:2389-2400.
- GANDRILLE, S. & AIACH, M. 1990. Albumin concentration influences fibrinolytic activity in plasma and purified systems. Fibrinolysis, 4:225-232.
- GE, M., TANG, G., RYAN, T.J. & MALIK, A.B. 1992. Fibrinogen degradation product fragment D induces endothelial cell detachment by activation of cell-mediated fibrinolysis. Journal of clinical investigation, 90:2508-2516.
- GENSINI, G.F., ABBATE, R., FAVILLA, S. & SERNERI, G.G.N. 1979. Changes of platelet function and blood clotting in diabetes mellitus. Thrombosis and haemostasis, 42:983-993.
- GILMAN, P.B., KEANE, P. & MARTINEZ, J. 1984. The role of the carbohydrate moiety in the biological properties of fibrinogen. The journal of biological chemistry, 259(5):3248-3253.
- GRALNICK, H.R., GIVELBER, H.M. & ABRAMS, E. 1978. Dysfibrinogenemia associated with hepatoma - increased carbohydrate content of the fibrinogen molecule. The New England journal of medicine, 299(5):221-226.

GRALNICK, H.R., GIVELBER, H.M., SHAINOFF, J.R. & FINLAYSON, J.S. 1971. Fibrinogen Bethesda : a congenital dysfibrinogenemia with delayed fibrinopeptide release. The journal of clinical investigation, 50:1819-1829.

GUNNARSON, R., NYMAN, D., WALINDER, O. & ÖSTMAN, J. 1980. Fibrinolytic activity and diabetes control - evidence for a relationship. Acta medica Scandinavia, Suppl.63:23-24.

HAMSTEN, A., BLOMBÄCK, M., WIMAN, B., SVENSSON, J., SZAMOSLI, S., DE FAIRE, U. & METTINGER, L. 1986. Haemostatic function in myocardial infarction. British heart journal, 55:58-66.

HANTGAN, R., FOWLER, W., ERICKSON, H. & HERMANS, J. 1980. Fibrin assembly : a comparison of electron microscopic and light scattering results. Thrombosis and haemostasis, 44(3):119-124.

HANTGAN, R. & HERMANS, J. 1979. Assembly of fibrin - a light scattering study. The journal of biological chemistry, 254(22):11272-11281.

HARTWIG, R. & DANISHEFSKY, K.J. 1991. Studies on the assembly and secretion of fibrinogen. The journal of biological chemistry, 266(10):6578-6585.

HATTON, M.W.C., SOUTHWARD, S., ROSS-OUELLET, B., RICHARDSON, M. & WONOCOUR, P.D. 1993. Catabolism of unglycated and naturally glycosylated forms of rabbit fibrinogen : their interaction with the healthy and deendothelialized aorta wall in normal and diabetic rabbits. Journal of laboratory clinical medicine, 121(4):588-597.

HIGAZI, A.A. & MAYER, M. 1990. Inhibition of plasmin by fibrinogen. Biochemical journal, 269:299-302.

HORTIN, G.L. & TRIMPE, B.L. 1991. Allosteric changes in thrombin's activity produced by peptides corresponding to segments of natural inhibitors and substrates. The journal of biological chemistry, 266(11):6866-6871.

- HOYLAERTS, M., RIJKEN, D.C., LIJNEN, H.R. & COLLEN, D. 1982. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. The journal of biological chemistry, 257(6):2912-2919.
- HUBER, P., LAURENT, M. & DALMON, J. 1990. Human β -fibrinogen gene expression - upstream sequences involved in its tissue specific expression and its dexamethasone and interleukin 6 stimulation. The journal of biological chemistry, 265(10):5695-5701.
- HUSAIN, S.S., WEISEL, J.W. & BUDZYNSKI, A.Z. 1989. Interaction of fibrinogen and its derivatives with fibrin. The journal of biological chemistry, 264(19):11414-11420.
- HUGHES, A., MC VERRY, B.A., WILKINSON, L., GOLDSTONE, A.H., LEWIS, D. & BLOOM, A. 1983. Diabetes, a hypercoagulable state? Haemostatic variables in newly diagnosed type 2 diabetic patients. Acta haematologica, 69:254-259.
- HULTIN, M.B. 1991. Fibrinogen and factor VII as risk factors in vascular disease. Progress in hemostasis and thrombosis, 10:215-241.
- JAY, R.H., JONES, S.L., RICHMOND, W., VIBERTI, G.C., RAMPLING, M.W. & BETTERIDGE, D.J. 1991. Blood rheology and cardiovascular risk factors in type 1 diabetes : relationship with microalbuminuria. Diabetes medicine, 8:662-667.
- JOHNSON, N. & BAKER, J.R. 1986. More on fructosamine assay as index to glycated protein. Clinical chemistry, 32(10):1994-1996.
- JONES, R.L. & PETERSON, C.M. 1981. The fluid phase of coagulation and the accelerated atherosclerosis of diabetes mellitus. Diabetes, 30(2):33-38.
- JONES, R.L. & PETERSON, C.M. 1979. Reduced fibrinogen survival in diabetes mellitus - a reversible phenomenon. Journal of clinical investigation, 63:485-493.

- JUHAN-VAGUE, I. & ALESSI, M.C. 1993. Plasminogen activator inhibitor 1 and atherothrombosis. Thrombosis and haemostasis, 70(1):138-143.
- JUHAN-VAGUE, I., ALESSI, M.C. & VAGUE, P. 1991. Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. Diabetologia, 34:457-462.
- JUHAN-VAGUE, I. & COLLEN, D. 1992. On the role of coagulation and fibrinolysis in atherosclerosis. Advances in Endocrine Physiology, 2(4):427-431.
- KADISH, J.L. 1979. Fibrin and atherogenesis - a hypothesis. Arteriosclerosis, 33(4):409-413.
- KANNEL, W.B., D'AGOSTINO, R.B., WILSON, P.W.F., BELANGER, A.J. & GAGNON, D.R. 1990. Diabetes, fibrinogen, and risk of cardiovascular disease : the Framingham experience. Progress in cardiology, 120(3):672-676.
- KANNEL, W.B., WOLF, P.A., CASTELLI, W.P., D'AGOSTINO & R.B. 1987. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. Journal of the American medical association, 258(9):1183-1186.
- KARHAPÄÄ, P., VOUTILAINEN, E., KOVANEN, P.T. & LAAKSO, M. 1993. Insulin resistance in familial and nonfamilial hypercholesterolemia. Arteriosclerosis and thrombosis, 13(1):41-47.
- KENNEDY, L. & BAYNES, J.W. 1984. Non-enzymatic glycosylation and the chronic complications of diabetes: an overview. Diabetologia, 26:93-98.
- KENNEDY, L., MEHL, T.D., ELDER, E., VARGHESE, M. & MERIMEE, T.J. 1982. Nonenzymatic glycosylation of serum and plasma proteins. Diabetes, 31(3):52-56.
- KENNEDY, A.L., MEHL, T.D. & MERIMEE, T.J. 1980. Nonenzymatically glycosylated serum protein: spurious elevation due to free glucose in serum. Diabetes, 29:413-415.

KENNEDY, L., MEHL, T.D., RILEY, W.J. & MERIMEE, T.J. 1982. Non-enzymatic glycosylated serum protein in diabetes mellitus : an index of short-term glycaemia. Diabetologia, 21:94-98.

KHAN, R. 1983. The insulin receptor and insulin: the lock and key to diabetes. Clinical research, 31:326-335.

KHODABANDEHLOU, T. & LE DEVEHAT, C. 1990. Role of albumin and fibrinogen on red cell aggregation-disaggregation in diabetes mellitus. Clinical hemorheology, 10:557-560.

KING, T.P. 1961. On the sulfhydryl group of human plasma albumin. The journal of biological chemistry, 236(2):PC5.

KIRSCHBAUM, N.E. & BUDZYNSKI, A.Z. 1990. A unique proteolytic fragment of human fibrinogen containing the A α COOH-terminal domain of the native molecule. The journal of biological chemistry, 265(23):13669-13676.

KLOCZEWIAK, M., TIMMONS, S., LUKAS, T.J. & HAWIGER, J. 1984. Platelet receptor recognition site on human fibrinogen. Synthesis and structure-function relationship of peptides corresponding to the carboxy-terminal segment of the γ chain. Biochemistry, 23(8):1767-1774.

KLUFT, C., VAN LOON, B.J.P. & DE MAAT, M.P.M. 1992. Insulin resistance and changes in haemostatic variables. Fibrinolysis, 6(3):11-16.

KOVACS, I.B., RATNATUNGA, C.P., RIDLER, C.D., GÖRÖG, P., EDMONDSON, S.J. & REES, G.M. 1992. Significance of plasma fibrinogen in coronary arterial disease : marker or causative risk factor for arterial thrombosis ? International journal of cardiology, 35:57-64.

KRAKOW, W., ENDRES, G.F., SIEGEL, B.M. & SCHERAGA, H.A. 1972. An electron microscopic investigation of the polymerization of bovine fibrin monomer. The journal of molecular biology, 71:95-103.

- LEE, A.J., SMITH, W.C.S., LOWE, G.D.O. & TUNSTALL-PEDOE, H. 1990. Plasma fibrinogen and coronary risk factors: the Scottish Heart Health Study. Journal of clinical epidemiology, 43(9):913-919.
- LEKO, M., SAWADA, K., SAKURAMA, S., YAMAGISHI, I., ISOGAWA, S., NAKAGAWA, S., SATOH, M., YASUKOUCHI, T. & MATSUDA, M. 1991. Fibrinogen date : congenital hypodysfibrinogenemia associated with decreased binding of tissue-plasminogen activator. American journal of hematology, 37:228-233.
- LEVITT, N.S., KATZENELLENBOGEN, J., BRADSHAW, D., HOFFMAN, M.N. & BONNICI, F. The pervalence and identification of risk factors for NIDDM in urban Africans in Cape Town, South Africa. Diabetes care, 16(4):601-607.
- LEWIS, S.D., SHIELDS, P.P. & SHAFER, J.A. 1985. Characterization of the kinetic pathway for liberation of fibrinopeptides during assembly of fibrin. The journal of biological chemistry, 260(18):10192-10199.
- LIJNEN, H.R., SORIA, J., COLLEN, D. & CAEN, J.P. 1984. Dysfibrinogenemia (fibrinogen Dusard) associated with impaired fibrin-enhanced plasminogen activation. Thrombosis and haemostasis, 51(1):108-109.
- LOIRDIGHI, N., MENARD, D. & LEVY, E. 1992. Insulin decreases chylomicron production in human fetal small intestine. Biochemica et biophysica acta, 1175:100-106.
- LYONS, T.J., BAYNES, J.W., PATRICK, J.S., COLWELL, J.A. & LOPES-VIRELLA, M.F. 1986. Glycosylation of low density lipoprotein in patients with type 1 (insulin-dependant) diabetes : correlations with other parameters of glycaemic control. Diabetologia, 29:685-689.
- MARTIN, D.W. 1985. Blood plasma and clotting. (In Martin, D.W., Maynes, P.A., Rodwell, V.W., Granner, D.K., reds. Harper's review of biochemistry. 20e uitgawe. Los Altos : Lange Medical Publications. 635-648 p.)

- MARX, G. & HARARI, N. 1989. Albumin indirectly modulates fibrin and protofibrin ultrastructure. Biochemistry, 28:8242-8248.
- MASPERI, R., MUSSONI, L., BINI, A., DONATI & CHIUMELLO, G. 1980. Haemostatic variables in uncomplicated diabetic children. Thrombosis and haemostasis, 43:227.
- MAYO, K.H. & BURKE, C. 1990. ^1H NMR sequential assignments and secondary structure analysis of human fibrinogen γ -chain C-terminal residues 385-411*. Biochemistry, 29(13):3277-3286.
- MC FARLAND, K.F., CATALANO, E.W., DAY, J.F., THORPE, S.R. & BAYNES, J.W. 1979. Nonenzymatic glucosylation of serum proteins in diabetes mellitus. Diabetes, 28:1011-1014.
- MC FARLANE, C.M., TSAKALAKOS, N. & TALJAARD, J.J.F. 1985. Value of glycosylated haemoglobin determination in diabetic pregnancy. South African Medical Journal, 68:310-312.
- MC FERRY, B.A., THORPE, S., GAFFNEY, P. & HUEHNS, E.R. 1981. Non-enzymatic glucosylation of fibrinogen. Haemostasis, 10:261-270.
- MC MILLAN, D.E. 1974. Disturbance of serum viscosity in diabetes mellitus. The journal of clinical investigation, 53:1071-1079.
- MEADE, T.W., BROZOVIC, M., CHAKRABARTI, R.R., HAINES, A.P., IMESON, J.D., MELLOWS, S., MILLER, G.J., NORTH, W.R.S., STIRLING, Y. & THOMPSON, S.G. 1986. Haemostatic and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. The Lancet, (ii):533-537.
- MEADE, T.W., CHAKRABARTI, R., HAINES, A.P., NORTH, W.R.S., STIRLING, Y. & THOMPSON, S.G. 1980. Haemostatic function and cardiovascular disease: early results of a prospective study. The Lancet, (ii):1050-1054.
- MEADE, T.W. & NORTH, W.R.S. 1977. Population-based distributions of haemostatic variables. British medical bulletin, 33(3):283-288.

MEADE, T.W., STIRLING, Y., THOMPSON, S.G., VICKERS, M.V., WOOLF, L., AJDUKIEWICZ, A.B., STEWART, G., DAVIDSON, J.F., WALKER, I.D., DOUGLAS, A.S., RICHARDSON, I.M., WEIR, R.D., AROMAA, A., IMPIVAARA, O., MAATELA, J. & HLADOVEC, J. 1986. An international and interregional comparison of haemostatic variables in the study of ischaemic heart disease. International journal of epidemiology, 14(3):331-336.

MEYER, B.J., red. 1988. Die fisiologiese basis van geneeskunde. 4de uitgawe. Pretoria : HAUM. 27.6-27.16 p.

MIHALYI, E. 1991. Changes in pH associated with clotting of fibrinogen. Kinetic studies of the pH shift and correlation of the pH change with the release of fibrinopeptides and the ensuing polymerization. Biochemistry, 30(19):4753-4762.

MIHALYI, E. 1988. Clotting of bovine fibrinogen. Calcium binding to fibrin during clotting and its dependance on release of fibrinopeptide B. Biochemistry, 27(3):967-976.

MILLER, G.J., MARTIN, J.C., WEBSTER, J., WILKES, H., MILLER, N.E., WILKINSON, W.H. & MEADE, T.W. 1986. Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity - a predictor of cardiovascular mortality. Atherosclerosis, 60:269-277.

MØLLER, L. & KRISTENSEN, T.S. 1991. Plasma fibrinogen and ischaemic heart disease risk factors. Arteriosclerosis and thrombosis, 11(2):344-350.

MOSHAGE, H.J., KLETER, B.E.M., VAN PELT, J.F., ROELOFS, H.M.J., KLEUSKENS, J.A.G.M. & YAP, S.H. 1988. Fibrinogen and albumin synthesis are regulated at the transcriptional level during the acute phase respons. Biochimica et biophysica acta, 950:450-454.

MURTHY, S.N.P., WILSON, J., GUY, S.L. & LORAND, L. 1991. Intramolecular crosslinking of monomeric fibrinogen by tissue transglutaminase. Proclamation of the National Academy of Science, 88:10601-10604.

- NAIR, C.H., AZHAR, A. & DHALL, D.P. 1991. Studies on fibrin network structure in human plasma. Part one : methods for clinical application. Thrombosis research, 64(4):455-476.
- NAIR, C.H., AZHAR, A., WILSON, J.D. & DHALL, D.P. 1991. Studies on fibrin network structure in human plasma, part II - clinical application : diabetes and antidiabetic drugs. Thrombosis research, 64(4):477-485.
- NAIR, C.H. & DHALL, D.P. 1991. Studies on fibrin network structure: the effect of some plasma proteins. Thrombosis research, 61:315-325.
- NAIR, C.H., SHAH, G.A. & DHALL, D.P. 1986. Effect of temperature, pH and ionic strength and composition on fibrin network structure and its development. Thrombosis research, 42(6):809-816.
- NAITO, M., HAYASHI, T., KUZUYA, M., FUNAKI, C., ASAI, K. & KUZUYA, F. 1990. Effects of fibrinogen and fibrin on the migration of vascular smooth muscle cells in vitro. Atherosclerosis, 83:9-14.
- NAKANASHI, H., CHRUSCIEL, R.A., SHEN, R., BERTENSHAW, S., JONSON, M.E., RYDEL, T.J., TULINSKY, A. & KAHN, M. 1992. Peptide mimetics of the thrombin-bound structure of fibrinopeptide A. Proclamation of the National Academy of Science, 89:1705-1709.
- NASKI, M.C., FENTON, J.W., MARAGANORE, J.M., OLSON, S.T. & SHAFER, J.A. 1990. The COOH-terminal of hirudin. The journal of biological chemistry, 265(23):13484-13489.
- NAWARAWONG, W., WYSHOCK, E., MELONI, F.J., WEITZ, J. & SCHMAIER, A. 1991. The rate of fibrinopeptide B release modulates the rate of clot formation : a study with an acquired inhibitor to fibrinopeptide B release. British journal of haematology, 79:296-301.
- NEGLIA, C.I., COHEN, H.J., GARBER, A.R., THORPE, S.R. & BAYNES, J.W. 1985. Characterization of glycated proteins by ¹³C NMR spectroscopy - identification of specific sites of protein modification by glucose. The journal of biological chemistry, 260(9):5406-5410.

- NEY, K.A., PASQUA, J.J., COLLEY, K.J., GUTHROW, C.E. & PIZZO, S.V. 1985. In vitro preparation of nonenzymatically glucosylated human transferrin, α_2 -macroglobulin, and fibrinogen with preservation of function. Diabetes, 34:462-470.
- OKADA, M. & BLOMBÄCK, B. 1983. Calcium and fibrin gel structure. Thrombosis research, 29:269-280.
- OLIVER, M. 1992. New horizons in the pathogenesis of coronary heart disease. European journal of clinical investigation, 22:761-763.
- OMAR, M.A.K. & JIALAL, I. 1983. Insulin resistance. Joernaal vir voortgesette geneeskudige onderrig, 1:72-74.
- OSTERMAN, H. & VAN DE LOO, J. 1986. Factors of the hemostatic system in diabetic patients - a survey of controlled studies. haemostasis, 16:386-416.
- PAISEY, R.B., HARKNESS, J., HARTOG, M. & CHADWICK, T. 1980. The effect of improvement in diabetic control on plasma and whole blood viscosity. Diabetologia, 19:345-349.
- PASTORI, R.L., MOSKAITIS, J.E., SMITH, L.H. & SCHOENBERG, D.R. 1990. Estrogen regulation of Xenopus laevis γ -fibrinogen gene expression. Biochemistry, 29(10):2599-2605.
- PATRASSI, G.M., PICCHINENNA, R., VETTOR, R., CAPPELLATO, G., CACCARIELLI, D. & GIROLAMI, A. 1985. Antithrombin III activity and concentration in diabetes mellitus. Thrombosis research, 54:415-417.
- PETERSON, C.M. & JONES, R.L. 1977. Minor hemoglobins, diabetic "control," and diseases of postsynthetic protein modification. Annals of internal medicine, 87(4):489-491.
- PHILLIPE, J., OFFNER, F., DECLERCK, P.J., LEROUX-ROELS, G., VOGELAERS, D., BAELE, G. & COLLEN, D. 1991. Fibrinolysis and coagulation in patients with infectious disease and sepsis. Thrombosis and haemostasis, 65(3):291-295.

PHILLIPS, A., SHAPER, A.G. & WHINCUP, P.H. 1989. Association between serum albumin and mortality from cardiovascular disease, cancer, and other causes. The Lancet, 16:1434-1436.

PILGERAM, L.O. & PICKART, L.R. 1968. Control of fibrinogen biosynthesis : the role of free fatty acid. Journal of atherosclerosis research, 8:155-166.

PILLAY, T.S. & MAKGOBA, M.W. 1991. Molecular mechanisms of insulin resistance. South African Medical Journal, 79:607-613.

PROCYK, R. & BLOMBÄCK, B. 1990. Disulfide bond reduction in fibrinogen : calcium protection and effect on clottability. Biochemistry, 29(6):1501-1507.

RACCAH, D., ALESSI, M.C., SCHELLES, V., MENARD, C., JUHAN-VAGUE, I. & VAGUE, P. 1993. Plasminogen activator inhibitor activity in various types of endogenous hypertriglyceridemia. Fibrinolysis, 7:171-176.

RAVAGLIA, F., TESTA, I., REFE, A., IPPOLITI, M. & TESTA, R. 1992. Acute hyperglycemia and its effects on fibrinogen. (In Ernst, E., Koenig, W., Lowe, G.D.O., Meade, T.W., eds. Fibrinogen : a "new" cardiovascular risk factor. Wenen : Blackwell-MZV. 263-266 p.)

REAVEN, G.M. 1993. Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): an expanded definition. Annual review of medicine, 44:121-31.

REID, H.L. 1982. Plasma fibrinogen levels in Nigerian (Ibos): normal adults, pregnancy and in fetal cord blood. East African medical journal, 59(8):523-528.

RIJKEN, D.C., HOYLAERTS, M. & COLLEN, D. 1982. Fibrinolytic properties of one-chain and two-chain human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator. The journal of biological chemistry, 257(6):2920-2925.

ROSS, R.R. 1986. The pathogenesis of atherosclerosis - an update. The New England journal of medicine, 314(8):488-500.

- ROSSOUW, J.E., JOOSTE, P.L., STEYN, K. & BENADE, A.J.S. 1985. Serum total and high-density lipoprotein cholesterol - reference values obtained in the coronary risk factor study baseline survey. South African medical journal, 67:533-538.
- ROY, S., YU, S., BANERJEE, D., OVERTON, O., MUKHOPADHYAY, G., ODDOUX, C., GRIENINGER, G. & REDMAN, C. 1992. Assembly and secretion of fibrinogen. The journal of biological chemistry, 267(32):23151-23158.
- RUPP, R.G. & FULLER, G.M. 1979. Comparison of albumin and fibrinogen biosynthesis in stimulated rats and cultured fetal rat hepatocytes. Biochemical and biophysical research communications, 88(1):327-334.
- SAKURAI, T., KIMURA, S., NAKANO, M., KIMURA, H. 1991. The oxidative modification of low density lipoprotein by nonenzymatically glycated peptide-Fe complex. Biochimica et biophysica acta, 1086:273-278.
- SAKURAI, T. & TSUCHIYA, S. 1988. Superoxide production from nonenzymatically glycated protein. FEBS Letters, 236(2):406-410.
- SAMPIETRO, T., COLANTUONI, A., LENZI, S., BERTUGLIA, S., BIONDA, A. & DONATO, L. 1987. Increased permeability of hamster microcirculation to glycosylated albumin. The Lancet, 31(ii):994-995.
- SAPHIRO, R., MC MANUS, M.J., ZALUT, C. & BUNN, H.F. 1980. Sites of nonenzymatic glycosylation of human hemoglobin A₁. The journal of biological chemistry, 255(7):3120-3126.
- SCHMIDT, R.F. & THEWS, G., reds. 1983. Human physiology. 20e uitgawe. New York : Springer-Verlag. 725 p.
- SHAH, G.A., FERGUSON, I.A., DHALL, T.Z. & DHALL, D.P. 1982. Polydispersion in the diameter of fibers in fibrin networks : Consequences on the measurement of mass-length ratio by permeability and turbidity. Biopolymers, 21:1037-1047.

- SHERMAN, L.A. 1977. Catabolism of fibrinogen and its derivatives. Thrombosis and haemostasis, 38:809-822.
- SHIMIZU, A., SAITO, Y., MATSUSHIMA, A. & INADA, Y. 1983. The journal of biological chemistry, 258(13):7915-7917.
- SILVIS, N. 1988. Fish oil, prostaglandin metabolism and cardiovascular disease. Journal of dietetics and home economics, 16(3):95-99.
- SIMPSON, H.C.R., MEADE, T.W., STIRLING, Y., MANN, J.I., CHAKRABARTI, R. & WOOLF, L. 1983. Hypertriglyceridaemia and hypercoagulability. The Lancet, (i):786-789.
- SINGH, M.T., KADOWAKI, M.H., GLAGOV, S. & ZARINS, C.K. 1990. Role of fibrinopeptide B in early atherosclerotic lesion formation. The American journal of surgery, 160:156-159.
- SMITH, E.B. & CROSBIE, L. 1992. Fibrinogen and fibrin in atherogenesis. (In Ernst, E., Koenig, W., Lowe, G.D.O., Meade, T.W., reds. Fibrinogen : a "new" cardiovascular risk factor. Wenen : Blackwell-MZV. 11-18 p.)
- SMITH, C. & MILES, H. 1991. Laboratory users handbook - chemical pathology. Johannesburg : South African Institute for Medical Research.
- SORIA, C., SORIA, J., COLLET, J.P., MIRSHAHI, M., KOOPMAN, J., HAVERKATE, F., MOESSON, M. & CAEN, J.P. 1992. Thrombotic disorder with decreased fibrinolysis related to fibrinogen abnormality. (In Ernst, E., Koenig, W., Lowe, G.D.O., Meade, T.W., reds. Fibrinogen : a "new" cardiovascular risk factor. Wenen : Blackwell-MZV. 315-319 p.)
- SOWERS, J.R., TUCK, M.L. & SOWERS, D.K. 1980. Plasma antithrombin III and thrombin generation time : correlation with hemoglobin A1 and fasting serum glucose in young diabetic women. Diabetes care, 3:655-658.

- SPRENGERS, E.D. & KLUFT, C. 1987. Plasminogen activator inhibitors. Blood, 69(2):381-387.
- STEVENS, V.J., VLASSARA, H., ABATI, A. & CERAMI, A. 1977. Nonenzymatic glycosylation of hemoglobin. The journal of biological chemistry, 252(9):2998-3002.
- STONE, M.C. & THORPE, J.M. 1985. Plasma fibrinogen - a major coronary risk factor. Journal of the Royal College of General Practitioners, 35:565-569.
- STRATTON, J.R., CHANDLER, W.L., SCHWARTZ, R.S., CERQUEIRA, M.D., LEVY, W.C., KAHN, S.E., LARSON, V.G., CAIN, K.C., BEARD, J.C. & ABRASS, I.B. 1991. Effects of physical conditioning on fibrinolytic variables and fibrinogen in young and old healthy adults. Circulation, 83(5):1692-1696.
- SUNDELL, B.I., NILSSON, T.K., RANBY, M., HALLMANS, G. & HELLSTEIN, G. 1989. Fibrinolytic variables are related to age, sex, blood pressure, and body build measurements: a cross-sectional study in Norsjö, Sweden. Journal of clinical epidemiology, 42(8):719-723.
- SUSHIL, K.J., MC VIE, R., DUETT, J. & HERBST, J.J. 1989. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. Diabetes, 38(12):1539-1543.
- SUZUKI, S., ARGRAVES, W.S., ARAI, H., LANGUINO, PIERSHBACHER & RUOSLAHTI, E. 1987. Amino acid sequence of the vitronectin receptor α subunit and comparative expression of adhesion receptor mRNAs. Journal of biological chemistry, 262:14080-14085.
- TARALLO, P., HENNY, J., GUEGUEN, R. & SIEST, G. 1992. Reference limits of plasma fibrinogen. European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry, 30(11):745-751.
- THOMPSON, W.D. & SMITH, E.B. 1989. Atherosclerosis and the coagulation system. Journal of pathology, 159:97-106.

- TORBET, J. 1986. Fibrin assembly in human plasma and fibrinogen/albumin mixtures. Biochemistry, 25(18):5309-5314.
- TORTORA, G.J. & ANAGNOSTAKOS, N.P., reds. 1987. Principles of anatomy and physiology. 5e uitgawe. New York : Harper & Row. 764 p.
- ULUTIN, O.N. 1986. Atherosclerosis and hemostasis. Seminars in thrombosis and hemostasis, 12(2):156-170.
- VAN WERSCH, J.W.J., WESTERHUIS, L.W.J.J.M. & VENEKAMP, W.J.R.R. 1991. HbA_{1c} and serum fructosamine in diabetic patients: relationship to age, clotting and fibrinolysis parameters and urinary microalbumin excretion. Clinica Chimica Acta, 201:99-104.
- VORSTER, H.H., VENTER, C.S., SILVIS, N., VAN EEDEN, T.S., HUISMAN, H.W. & WALKER, A.R.P. 1988. Dietary influences on haemostasis may affect risk for coronary heart disease. Suid-Afrikaanse tydskrif vir wetenskap, 84:289-292.
- VOSKUILEN, M., VERMOND, A., VEENEMANS, G.H., VAN BOOM, J.H., KLASEN, E.A., ZEGERS, N.D. & NIEUWENHUIZEN, W. 1987. The journal of biological chemistry, 262(13):5944-5946.
- WANG, Y & FULLER, G.M. 1991. The putative role of fibrin fragments in the biosynthesis of fibrinogen by hepatoma cells. Biochemical and biophysical research communications, 175(2):562-567.
- WEITZ, J.I. & LESLIE, B. 1990. Urokinase has direct catalytic activity against fibrinogen and renders it less clottable by thrombin. The journal of clinical investigation, 86:203-212.
- WIELAND, O.H. 1983. Protein modification by non-enzymatic glucosylation: possible role in the development of diabetic complications. Molecular and cellular endocrinology, 29:125-131.
- WILF, J. & MINTON, A.P. 1986. Soluble fibrin-fibrinogen complexes as intermediates in fibrin gel formation. Biochemistry, 25(11):3124-3133.

WILHELMSEN, L., SVÄRDSUDD, K., KORSAN-BENGSTEN, K., LARSSON, B.,
WELIN, L. & TIBBLIN, G. 1984. Fibrinogen as a risk factor for stroke
and myocardial infarction. The New England journal of medicine,
311(8):501-505.

WILLICH, S.N. 1992. Klassische sowie neue, hämostaseologische
Risikofaktoren der Koronaren Herzkrankheit. Deutsche medizinische
wochenschrift, 117:749-756.

WOLFF, S.P., JIANG, Z.Y. & HUNT, J.V. 1991. Protein glycation and
oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. Free radical
biology & medicine, 10:339-352.

YOUNG, R.J. & LOVELL, P.A., reds. 1991. Introduction to polymers.
2e uitgawe. London : Chapman Hall. 443 p.

YU, S., SHER, B., KUDRYK, B. & REDMAN, C.M. 1984. Fibrinogen
precursors - order of assembly of fibrinogen chains. The journal of
biological chemistry, 259(16):10574-10581.

ZIMMET, P. 1982. Type 2 (non-insulin-dependant) diabetes - an
epidemiological overview. Diabetologia, 22:399-411.