

**CHOLESTEROLMETABOLISME TYDENS DIE
OPWEKKING EN REGENERASIE
VAN EKSPERIMENTELE
ATEROSKLEROSE**

LEENDERT DEKKER SNYMAN

(Honns. B.Sc.)

Verhandeling voorgelê ter gedeeltelike nakoming van die vereistes vir die graad MAGISTER SCIENTIAE (Biochemie) aan die Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys.

Promotor : Dr. C.J. Reinecke

Potchefstroom
1971

aan Elise

INHOUDSOPGAWE

1.	INLEIDING	1
2.	LITERATUUROORSIG	3
3.	EKSPERIMENTELE OPSTELLING	11
3.1	Inleiding	11
3.2	Dieet	11
3.3	Proefopstelling	13
3.4	Eksperimentele besonderhede	13
4.	INVLOED VAN DIE ATEROGENE- EN REGENERATIEWE- DIEET OP DIE CHOLESTEROL-METABOLISME EN SKILDKLIER-AKTIWITEIT	17
4.1	Inleiding	17
4.2	Sintese van cholesterol	18
4.3	Katabolisme van cholesterol	31
4.4	Sintese:katabolisme-verhouding	39
4.5	Proteïen-gebonde-jodium	40
4.6	Samevattende bespreking	43
5.	DIE INVLOED VAN DIE DIEET OP DIE CHOLESTEROL-, FOSFOLIPIED-, CHOLESTEROL:FOSFOLIPIED-VERHOU- DING-, EN MAGNESIUM-WAARDES VAN DIE BLOEDSERUM	46
5.1	Inleiding	46
5.2	Metodes	46
5.3	Resultate	47
5.4	Bespreking	76
6.	DIE INVLOED VAN DIE DIEET OP DIE CHOLESTEROL- KONSENTRASIE VAN DIE AORTAWAND	84
6.1	Inleiding	84

6.2	Metode	85
6.3	Resultate	87
6.4	Bespreking	89
7.	SAMEVATTENDE BESPREKING TEN OPSIGTE VAN DIE EFFEK VAN DIE DIEET OP DIE CHOLESTEROL- METABOLISME TYDENS DIE OPWEKKING EN REGENERA- SIE VAN EKSPERIMENTELE ATEROSKLEROSE	91
7.1	Die aterogene fase of opwekking van ateroskle- rose	91
7.2	Die regeneratiewe fase of regenerasie van aterosklerose	95
7.3	Verdere navorsing	97
8.	SAMEVATTING	99
	SUMMARY	101

HOOFSTUK 1

Inleiding

Aterosklerose is 'n siekteverskynsel wat hoofsaaklik in die middelslag en groter arteries van die bloedvatsisteem voorkom. Dit word gekarakteriseer deur 'n intimale verdikking vanweë 'n lipied ateroos, fibrose, verkalking, nekrose en bloeding. Die bloedvat vernouende effek wat die gevorderde letsels tot gevolg het, het velerlei komplikasies tot gevolg. In die koronêre arteries lei dit maklik tot 'n blokkering van die bloedvoorsiening aan sekere dele van die hartweefsel met 'n gevolglike miokardiale infaraksie waarop die dood in baie gevalle volg.

In die tydperk 1954 - 1956 is 'n derde van die totale sterftes in Amerika toegeskryf aan hartsiektes (Hilleboe, 1967). Die aktualiteit van die siekte wat uit die statistieke blyk, het daartoe gelei dat navorsing op aterosklerose 'n geweldige omvang aangeneem het.

Moontlike oorsake van aterosklerose is van 'n uiteenlopende aard. Van die belangrikste is dieetsfaktore, erflikheidsfaktore, psigiese spanning en onaktiwiteit. Hiervan word die dieetsfaktore waaronder versadigde vette en cholesterol, as die belangrikste oorsakende faktor beskou.

Dit is bekend dat 'n dieet met 'n hoë persentasie versadigde vette 'n hipercholesteremiese neiging besit. Die verband tussen 'n hoë serumcholesterol-konsentrasie en aterosklerose is ook lank reeds bekend alhoewel die primêre of sekondêre betrokkenheid van cholesterol by die letselvorming nog nie duidelik is nie (Groom, 1967). Enige faktor wat daarom aanleiding gee tot 'n verhoogde serumcholesterol-konsentrasie verhoog die kans vir aterosklerose: so ook die versadigde vette in die dieet.

In hierdie laboratorium is heelwat navorsing gedoen omtrent die aard en karakterisering van aterosklerose. Van der Walt (1968) het veral aandag gegee aan die veranderinge van die plasma proteïene en tiroïed aktiwiteit gedurende die aterogene fase terwyl Rade-meyer (1963) meer klem gelê het op 'n moontlike regenerasie van die opgewekte aterogene toestand. Green (1970) gee veral aandag aan die standaardisering van metodes om aterosklerose in vivo by proefdiere te bestudeer.

In hierdie verhandeling is die klem gelê op die volgende aspekte van aterosklerose en die faktore wat daarby betrokke is:

- 1.1 Die opwekking van eksperimentele aterosklerose (aterogene toestand), soos gemeet aan die hand van die aortacholesterol-waarde en die cholesterol- en C/P-waardes van die serum, met behulp van 'n semi-sintetiese hoë-vet-dieet (hoofstukke 5 en 6).
- 1.2 Die regenerasie van eksperimentele aterosklerose (geïnduseerde aterogene toestand), soos gemeet aan die hand van die aortacholesterol-waarde en die cholesterol- en C/P-waardes van die serum, met behulp van 'n mielie-meelbevattende semi-sintetiese dieet (hoofstukke 5 en 6).
- 1.3 'n Bestudering van die meganisme waarvolgens die dieet die bloedcholesterol-konsentrasie beïnvloed (hoofstuk 4).

'n Samevattende bespreking van die resultate word in hoofstuk 7 gegee.

HOOFSTUK 2

LITERATUUROORSIG

Aterosklerose is 'n siekteverskynsel wat hoofsaaklik in die groter arteries van die liggaam voorkom en gekarakteriseer word deur 'n intimale verdikking vanweë 'n lipied ateroos, fibrose, verkalking, nekrose en bloeding (Friedberg, 1966a). 'n Oorsig oor die ontwikkeling van letsels tydens bogenoemde veranderinge word volledig beskrywe deur Constantinides (1965). Die aard van die bloedvatwand is skynbaar 'n bepalende faktor vir die tempo van ateroos vorming (Heyden, 1969). Prior et al (1961) het aangetoon dat aterosklerose by konyne hoofsaaklik in die aorta-boog ontwikkel tydens die toediening van 'n cholesterol-vet-dieet.

Van die belangrikste faktore wat blykbaar 'n hidrae lewer tot die etiologie van koronêre (aterosklerotiese) hartsiektes is:

1. genetiese faktore, wat die algemene metabolisme en die struktuur en metabolisme van die bloedvatwand bepaal,
2. geslag,
3. dieetfaktore, onder andere 'n oormaat kalorieë, versadigde vette, cholesterol en suiker,
4. hoë bloeddruk,
5. diabetes,
6. rook gewoonte (sigarette),
7. gebrek aan fisiese aktiwiteit en
8. emosionele spanning (Friedberg, 1966).

Hiervan blyk die dieet, en veral die versadigde vette daarin, een van die belangrikste oorsakende faktore te wees (Keys, 1967).

Voordat die effek van die dieet op die ontwikkeling van aterosklerose nagegaan sal word, sal die verband van aterosklerose met

sekere parameters in die aortawand en die bloedserum aangetoon word, sodat dit tydens die bespreking van die dieet-effek gebruik kan word as 'n indikasie van die aterogeniese toestand.

Die cholesterol-konsentrasie in die aortawand kan geneem word as 'n aanduiding van die mate waartoe ateroomvorming plaasgevind het. Groom (1967) beweer dat cholesterol saam met ander lipiedes, intiem betrokke is by die vorming van ateriosklerose. Hierdie stelling bevestig die bevindings van Windaus (1910), wat aangetoon het dat die ateriosklerotiese letsels in die aortawand ongeveer twintig maal meer veresterde cholesterol bevat as die normale weefsel en dié van Schönheimer (1943), wat gevind het dat die ateriosklerotiese veranderinge in die weefsel gepaard gaan met 'n tipiese styging van die cholesterol-konsentrasie van veral die cholesterol-ester fraksie. 'n Vyfhonderd persent hoër konsentrasie van cholesterol in die intimale vetagtige streke teenoor die aangrensende normale weefsel is deur Insull et al (1966), aangetoon. Hierdie navorsers het ook tot die gevolgtrekking gekom dat die intima 'n drempelwaarde van 10 milligram cholesterol per gram weefsel besit. 'n Styging van die cholesterol-konsentrasie bokant hierdie waarde het die vorming van 'n vet-streek tot gevolg. Uit hierdie bevindings blyk dit dus dat die cholesterol-konsentrasie van die aortawand as 'n indikasie gebruik kan word vir die mate van ateriosklerose daarin teenwoordig.

Uit die literatuur blyk ook dat daar 'n verband bestaan tussen die bloedserumcholesterol-waardes en die cholesterol-konsentrasie van die aortawand en/of ateriosklerose. Hierdie verband is veral deur epidemiologiese studies aangetoon (Paul et al, 1963; Die Framingham Mass. studie, Friedberg, 1966b), dog ook deur meer direkte metodes. Navorsers waaronder Buck (1958), Parker (1960), Groszogeat et al (1962), Still & Marriott (1964) en Parker & Odland (1966), kon almal aantoon dat 'n hoër bloedcholesterol-kon-

sentrasie in konyne, wat eksperimenteel verkry is deur die toevoeging van cholesterol in die dieet, ateroom vorming in die aortawand tot gevolg het. Dat die hoë cholesterol-konsentrasie in die letsels moontlik deur die hoë bloedcholesterol-konsentrasie geïnduseer word, blyk uit die bevindings van Biggs et al (1952), dat (^{14}C)-cholesterol wat in die dieet toegevoeg is, in die aortawand en in die letsels daarin, geïnkorporeer is. 'n Soortgelyke waarneming is gedoen deur Gould et al (1950, 1959). Newman & Zilversmit (1966) het gevind dat die fluks van cholesterol na die aorta direk varieer met die cholesterol-konsentrasie van die plasma.

Ahrens & Kunkel (1949) beweer dat die cholesterol:fosfolipied-verhoudings (C/P), en nie die cholesterol-konsentrasie alleen nie, 'n bepalende faktor is in die ontwikkeling van aterosklerose. Hierdie navorsers beweer dat die C/P-waarde van die bloed die stabiliteit van die cholesterol in die bloed bepaal. 'n Verhoging van die C/P-waarde sal volgens hulle, lei tot 'n verlaging van die stabiliteit van die opgeloste cholesterol wat dan kan lei tot 'n presipitasie daarvan in die intima van die arterie. Hierdie stelling berus waarskynlik op gegewens soos dié van Page & Bernhard (1935), wat 'n C/P-waarde van kleiner as 1.0 by normale konyne en groter as 1.0 by konyne met 'n cholesterol-geïnduseerde aterosklerose gevind het. Hierdie gegewens dui daarop dat nie slegs die konsentrasie van cholesterol nie, maar ook die kondisies waaronder dit in die bloed verkeer (naamlik die C/P-verhouding) verband hou met die kans tot aterosklerose. Hierdie verband kom ook na vore in die eksperimente van ander navorsers soos Davidson et al (1949), Gordon & Kobernick, (1954) en Steiner et al (1952).

Uit die voorafgaande literatuuroorsig blyk dit duidelik dat sowel die cholesterol-konsentrasie in die aortawand as die cho-

lesterol- en C/P-waardes van die serum in verband staan met aterosklerose en geneem kan word as 'n indikasie van die aterogene toestand van die proefdiere.

Vervolgens sal die effek van die dieet op die aterogene toestand en aterosklerose self, soos wat dit uit die literatuur na vore kom, bespreek word.

Friedberg (1966d) beweer dat 'n hoë vet inname, 'n hoë serumcholesterol-waarde en 'n hoë voorkoms van gevorderde koronêre aterosklerose met mekaar geassosieerd is en dat elke parameter dikwels as 'n indeks van die ander gebruik word. Hierdie verband word ook onderskryf deur Keys (1967) en Christakis & Rinzler (1969) wat veral wys op die versadigde vette as 'n aterogene faktor in die dieet, soos ook uit die epidemiologiese studies van Keys (1956) en Keys et al (1958) blyk. By proefdiere kon Gresham en Howard (1962) met 'n hoë-vet-bevattende semi-sintetiese dieet eksperimentele aterosklerose na vier maande induseer, wat baie ooreengestem het met dié van die mens. Van der Walt (1968) het met 'n soortgelyke dieet die bloedcholesterol-konsentrasie van konyne verhoog, terwyl Funch et al (1960) hipercholesteremie en 'n aansienlike mate van ateroom vorming by konyne geïnduseer het met 'n hoë-botter-dieet.

Die moontlikheid van regenerasie van 'n aterogene toestand en/of aterosklerose deur middel van 'n dieet is deur verskeie navorsers ondersoek. Gofman (1958) het die serumcholesterol-waardes van rotte wat cholsuur en cholesterol in die dieet ontvang het, nagegaan waar melkiestysel, sukrose, glukose of fruktose telkens as enigste koolhidraat-bron gedien het. Na 'n maand was die serumcholesterol-konsentrasie van dié groep wat melkiestysel ontvang het, betekenisvol laer in vergelyking met die ander groepe. Die toediening van sulfasuxidine, 'n swak absorbeerbare anti-biotikum, het geen invloed gehad op die serumcholesterol-waarde

van die sukrose groep nie, maar het die hipocholesteremiese effek van mieliestysel heeltemal opgehef. Die hipocholesteremiese werking van mieliestysel blyk dus afhanklik te wees van die mikroflora. Rademeyer (1963) wat eweneens die hipocholesteremiese eienskappe van mieliemeel ondersoek het, het 'n daling van die serumcholesterol-waarde vasgestel by rotte nadat die glukose in 'n lae-magnesium-dieet vervang is met mieliemeel. Hierdie daling wat plaasgevind het ten spyte van die teenwoordigheid van botter in die dieet, het gepaard gegaan met 'n styging van die serummagnesium-waarde.

Die moontlike verband wat die magnesium met die aterogene toestand het ten opsigte van 'n verlaging daarvan, blyk uit die ondersoeke van Bersohn & Oelofse (1957), Vitale et al (1957) en Cerven et al (1967).

Die meganisme waarvolgens 'n vet- en 'n mielie-bevattende dieet die aterogene toestand ten opsigte van die serumcholesterol-waarde kan verander, indien wel, is in laasgenoemde geval nog onbekend. Ten opsigte van die hipercholesteremiese meganisme van die versadigde vette is heelwat al gedoen.

Die lewer is waarskynlik die hooforgaan wat betrokke is by die regulering van die bloedcholesterol-konsentrasie, waarskynlik deur middel van 'n homeostatiese regulering van die dinamiese ewewig tussen die absorpsie en sintese van cholesterol teenoor die metabolisme (waarskynlik onder andere die katabolisme) en ekskresie daarvan aan die ander kant (Friedberg, 1966c).

Die sintese van cholesterol vind by die mens plaas vanaf asetaat, asetoasetaat, piruvaat, butiraat en stearaat wat afkomstig is vanaf koolhidrate, proteïene en vette in die dieet (Friedberg, 1966c). Bortz (1967) het 'n verhoogde cholesterol sintese in vitro vanaf (^{14}C)-asetaat gevind na 'n tyd van hoë vet inname

deur rotte. Dat hierdie verhoogde sintese van cholesterol waarskynlik volg op 'n verhoogde produksie van asetaat vanaf die vetsure in die dieet, blyk uit die bevinding van Dupont (1966) wat die (^{14}C)-cholesterol in die serum eweredig gevind het aan die oksidasie indeks van die lipiede in die dieet.

Die katabolisme van cholesterol vind in die lewer plaas (Danielsson, 1963), en wel na galsure waarvan cholsuur die hoof primêre galsuur is by konyne (Lindstedt & Sjövall, 1957). Taylor et al (1965) meen dat die vermoë van die lewer om cholesterol na galsure te kataboliseer en dit uit te skei om sodoende te korreger vir varieerbare hoeveelhede cholesterol in die dieet, 'n belangrike dog onvolledig bestudeerde faset van die cholesterol metabolisme is. Die aandeel van die cholesterol katabolisme ten opsigte van die beheer van die bloedcholesterol-konsentrasie blyk uit die bevindings van Haust & Beveridge (1958) wat gevind het dat 'n hoë ekskresie van galsure ge-assosieerd is met 'n afname van die plasma-cholesterol en omgekeerd. Die afname in die galsuur-ekskresie tydens die toediening van bottervet by 'n vetvrye dieet wat deur hierdie navorsers gevind is, kan waarskynlik die toename van die serumcholesterol wat deur Funch et al (1960) gevind is na die toediening van botter by konyne verklaar.

Sowel die sintese as die katabolisme van cholesterol is onder andere, skynbaar betrokke by die regulering van die bloedcholesterol-konsentrasie (vergelyk voorafgaande literatuur). Die aktiwiteit van albei word deur tiroksien beïnvloed alhoewel tiroksien sekresie 'n groter invloed op die katabolisme aktiwiteit het (sien Mitropoulos & Myant, 1967). Kritchevsky & Staple (1960) het gevind dat die afname in die katabolisme en ekskresie van cholesterol in die hipotiroïed toestand baie groter is as die afname in die sintese-aktiwiteit van cholesterol.

Uit hierdie literatuuroorsig kan 'n aantal gevolgtrekkings gemaak word:

1. Dat die cholesterol- en C/P-waardes van die serum asook die cholesterol-konsentrasie in die aortawand kan dien as 'n indikasie van die aterogene toestand.
2. Dat 'n aterogene toestand asook aterosklerose self, eksperimenteel by proefdiere opgewek kan word deur middel van 'n hoëvet-dieet.
3. Dat regenerasie van 'n aterogene toestand moontlik teweegbring kan word deur sekere dieetbestanddele. Rademeyer (1963) het gevind dat mieliemeel 'n vooraf geïnduseerde aterogene toestand ten opsigte van die serumcholesterol kan verlaag. Die eksperiment is egter uitgevoer oor 'n kort termyn en waar mieliemeel as bestanddeel in 'n lae-magnesium-dieet voorgekom het. Die belangrikheid van die bevinding kan gevolglik eers na waarde geskat word indien die eksperiment ook onder ander kondisies herhaal word.

In hierdie verhandeling is die effek daarvan nagegaan op 'n meer permanente geïnduseerde aterogene toestand in die serum sowel as die aortawand van konyne. Die mieliemeel was in hierdie opstelling 'n bestanddeel van 'n normale semi-sintetiese dieet.

4. Dat 'n verandering van die bloedcholesterol-waarde waarskynlik onder andere plaasvind as gevolg van 'n verandering in die sintese- en katabolisme-aktiwiteit van cholesterol in die lewer. Heelwat navorsing is gedoen ten opsigte van die effek van die dieet op die cholesterol-sintese-aktiwiteit van die lewer, terwyl heelwat minder gedoen is omtrent die katabolisme-aktiwiteit van cholesterol in die lewer. In hierdie ondersoek is so-

wel die sintese- as katabolisme-aktiwiteit van cholesterol in die lewer nagegaan omdat die bloedcholesterol-konsentrasie eerder as 'n resultaat van sowel die sintese- as die katabolisme-aktiwiteit gesien behoort te word. Dit blyk dat sowel die sintese- as die katabolisme-aktiwiteit van cholesterol deur tiroksien beïnvloed word.

HOOFSTUK 3

EKSPERIMENTELE OPSTELLING

3.1 Inleiding

Die proefopstelling vir die opwekking en regenerasie van eksperimentele aterosklerose wat in hierdie verhandeling beskryf word is in ooreenstemming met die N.V.N.I. van die W.N.N.R. beplan.

Konyne is as proefdiere gebruik omdat aterosklerose makliker deur 'n aterogene semi-sintetiese dieet sonder cholesterol byvoeging by hierdie proefdiere geïnduseer kan word as by ander spesies (Gresham & Howard, 1962). Uitgegroeide mannetjekonyne van ongeveer ses maande ouderdom is gebruik.

Die proefdiere is vir 'n tydperk op 'n dieet geplaas wat sodanig saamgestel was dat dit tot die opwekking van 'n aterogene toestand en eventueel aterosklerose self aanleiding behoort te gee het (Fase A of aterogene fase). 'n Tweede fase van die eksperiment het hierna gevolg. Die helfte van die proefdiere is op 'n regeneratiewe dieet geplaas waarmee gepoog is om herstel van die aterogene toestand sowel as van die letsels (ateromas) in die bloedvatwande self, teweeg te bring (Fase B of regeneratiewe fase).

3.2 Dieet

Die dieet waarvan gebruik gemaak is, is 'n semi-sintetiese dieet wat in ooreenstemming met die N.V.N.I. saamgestel is (sien tabel 3.1). Dit is gebaseer op dié van Gresham & Howard (1962).

Die meliemeel in die dieet word verteenwoordig deur twee verskillende melieprodukte naamlik wit meliemeel en onversoepte, ingemaakte suikermielies (Langeberg-produk) wat ge-

droog is. Eersgenoemde produk is in die gesifte en ongesifte vorm in die dieet gemeng.

Tabel 3.1 Samestelling van die dieet.

Bestanddele	Hoeveelhede (Kg)	
	Aterogene Dieet	Regeneratiewe Dieet
Kaseïen (77% proteïen)	11.0	11.0
Mieliemeel	14.0	49.0
Lusern	27.7	27.7
Sukrose	13.1	-
Beesvet, „dripping“	20.0	-
Sonneblomsaadolie	4.0	4.0
Vitamiemengsel*	0.8	0.8
Cholienchloried (50%)	1.0	1.0
Vitamen-A	0.036	0.036
Vitamen-E	0.010	0.010
Vitamen-C	0.040	0.040
Soutmengsel**	3.8	3.8
Kaliumasetaat	2.5	2.5
Totaal	97.986	99.886

*Vitamiemengsel:	Tiamien	3.78 g
	Riboflavien	3.78 g
	Piridoksien	3.78 g
	Foliensuur	2.36 g
	Kalsiumpantotenaat	9.44 g
	Biotien	0.14 g
	Vit. B12 (0.05%)	20.00 g
	Nikotiensuuramied	4.72 g
	Enositol	472.00 g
	Magnesiumoksied	1180.00 g
	Totaal	1700.00 g

**Soutmengsel: Die samestelling van die soutmengsel is soos die van Gresham & Howard (1962).

3.3 Proefopstelling

In hierdie eksperiment is van drie afsonderlike groepe konyne gebruik gemaak (groepe I, II en III). Elke groep kan beskou word as 'n eksperiment op sigself aangesien die tydsduur van die eksperiment vir elke groep gewissel het. Die eksperimentele opstelling en die kondisies was vir al drie groepe dieselfde.

Die opset van die eksperimente word saamgevat in tabel 3.2.

Gedurende die verloop van die eksperiment is periodiek bloedmonsters geneem waarop die betrokke serumanalises gedoen is. Aan die einde van die eksperiment is al die oorlewende konyne gedood waartydens 'n bloed-, lewer- en aortamonster geneem is vir bepaling van die betrokke serum-waardes, die cholesterol-sintese en -katabolisme aktiwiteit van die lewer en die cholesterol-konsentrasie in die aortawand respektiewelik.

Gedurende Fase B van die eksperiment het die proefdiere op die atogene dieet gedien as kontroles vir dié op die regeneratiewe dieet. Vir groep IIIA het die proefdiere van groep IIIB egter as kontroles gedien.

3.4 Eksperimentele besonderhede

3.4.1 Proefdierversorging

Aanvanklik is baie probleme ondervind met die versorging van die proefdiere. Vrektes het op groot skaal plaasgevind, hoofsaaklik vanweë onhigiëniese versorging, oormyte en verkoues. Eersgenoemde probleem is tot 'n groot mate oorkom na advies van die W.N.N.R., terwyl die oormyte later doeltreffend bestry is deur behande-

Tabel 3.2 Samevatting van die eksperimentele opset.

Kony'n No.**	Fase A Aterogene Dieet		Fase B Aterogene Dieet		Fase B Regeneratiewe Dieet	
	Tydperk (dae)	Serum-bepa- lings	Tydperk (dae)	Serum-bepa- lings	Tydperk (dae)	Serum-bepa- lings
GROEP I						
A8	1 193	Magnesium	305	Cholesterol	-	Cholesterol
<u>B4</u>	1 193		-	Fosfolipiede Magnesium PBI	306	Fosfolipiede Magnesium PBI
GROEP II						
<u>X12</u>			290		-	
Y5			285		-	
Y10			299	Cholesterol	-	Cholesterol
Z5			292	Fosfolipiede	-	Fosfolipiede
<u>Z6</u>	950	Magnesium	166	Magnesium	-	Magnesium
<u>X5</u>			-	PBI	297	PBI
<u>X13</u>			-		291	
Y13			-		286	
Z2			-		304	
<u>Z13</u>			-		298	
<u>X3, X6, X7,</u> <u>X11, Y2, Y3,</u> <u>Y6, Y7, Y12,</u> <u>Z7, Z8, Z11,</u> <u>Z12</u>	480					
<u>X9, Y1, Z1,</u> <u>Z10</u>	320	Magnesium				
<u>X1, X2, X10,</u> <u>Y4, Y8, Y11,</u> <u>Z3, Z4</u>	200					
Z9	96					
Y9	0					
GROEP IIIA*						
<u>L2</u>			145		-	
<u>L4</u>			153	Cholesterol	-	Cholesterol
<u>M5</u>			147	Fosfolipiede	-	Fosfolipiede
M1	435	Cholesterol	-	Magnesium	151	Magnesium
M4		Fosfolipiede	-		152	
<u>L5</u>		Magnesium	-		146	
L1	413					
<u>L3</u>	345					
M3	287					
M2	224					
GROEP IIIB						
N1					595	
<u>N3</u>					593	Cholesterol
<u>N4</u>					600	Fosfolipiede
O2					594	Magnesium
O5					596	
O6					600	

* Groepe IIIA en IIIB het dieselfde aanvangsdatum gehad.

** Kony'nnummer wat onderstreep is, was op die suikermielies, en die ander op die wit meliemoel.

ling wat voorgeskryf is deur die Veeartsenykundige Instituut te Onderstepoort. Die proefdierversorging, wat aangepas is by bogenoemde advies, het daarna as volg daar uitgesien:

Gedurende die eksperiment is die proefdiere elk in 'n afsonderlike vlekvrystaalhok, wat in 'n goed geventileerde lokaal met genoeg sonlig geplaas is, gehuisves. Die hokke is gereeld met 'n ontsmettingsmiddel (clincicol) behandel, terwyl die hele lokaal ook minstens een keer per week met dieselfde ontsmettingsmiddel uitgeskrop is. Die arbeiders wat die proefdiere hanteer het, het maskers gedra, en met die hantering van verskillende proefdiere elke keer die hande met 'n ontsmettingsmiddel (Gill-seep) gewas. Die ore van die konyne is minstens drie keer per week aan die binnekant met 10% escabiol in gliserien, gesmeer om die oormyte te bestry.

Voor die aanvang van die eksperiment is al die konyne vir minstens twee maande op 'n gebalanseerde kommersiële dieet geplaas, in dieselfde hokke en lokaal waar eksperimentering later sou plaasvind. Hierdeur is verseker dat aanpassing van die konyne sou plaasvind voordat met die eksperiment begin sou word. Oorskakeling van die proefdiere na die verskillende diëte is geleidelik oor 'n periode van twee weke gedoen om 'n skoktoestand by die proefdier te probeer voorkom. Water en voedsel was tydens die hele duur van die eksperiment ad libitum beskikbaar aan die proefdiere.

3.4.2 Monsterneming

Die neem van bloedmonsters by die proefdiere is gedoen soos beskrywe deur Van der Walt (1968). Die serum wat uit die bloed verkry is, is in 'n afgeslote buisie by -20°C

bewaar tot analise daarvan plaasvind.

Die neem van die bloed-, lewer- en aortamonsters wanneer die kony n doodgemaak is, vind as volg plaas: Nadat die kony n oornag gevas was, is dit die volgende oggend gedood deur n hou agter die nek. Bloed is so gou moontlik uit die karotis-arterie onttrek, waarna dadelik twee ses-gram lewermonsters geneem is en onderskeidelik in voorafverkoelde (4°C) sintese- en katabolisme buffermedia geplaas is (vergelyk hoofstuk 4). Sorg is gedra om nie die lewermonsters met gal te kontamineer nie aangesien dit n onderdrukking van die sintese aktiwiteit tot gevolg het (Ogilvie & Kaplan, 1966).

Hierna is die aorta uitgedissekteer en alle vet aan die buitekant afgetrek om moontlike kontaminasie te vermy. Die aorta is vervolgens herhaaldelik met n skoon fisiologiese soutoplossing gewas en daarna in dieselfde oplossing in n afgeslote buis bewaar by -15°C totdat analise plaasgevind het (Insull en Glenn, 1966).

HOOFSTUK 4

INVLOED VAN DIE ATEROGENE- EN REGENERATIEWE-DIEET OP DIE CHOLESTEROL-METABOLISME EN SKILDKLIER-AKTIVITEIT

4.1 Inleiding

Die hipercholesteremiese effek van versadigde vette in die dieet is reeds deur verskeie navorsers aangetoon (Ahrens et al, 1957; Van der Walt, 1968). 'n Verband tussen hierdie hoë serumcholesterol-konsentrasie en die aktiwiteit van die tiroïedklier kan moontlik bestaan.

Dit is vasgestel dat 'n hoë-vet-dieet die skildklier-aktiwiteit onderdruk (Kenelly & Meynard, 1953; Van der Walt, 1968). Die verlaagde tiroksiensekresie gee dan waarskynlik aanleiding tot die toename in bloedcholesterol via die cholesterol-metabolisme. Dit is gevind dat sowel die sintese- as katabolisme-aktiwiteit van die lewer afneem tydens 'n hipotiroïed toestand. Die afname in katabolisme oorheers egter die afname in sintese (Percy-Robb & Boyd, 1967; Kritchevsky & Staple, 1960). Die omgekeerde effek is gevind gedurende 'n toestand van hipertiroïedisme (Dayton et al, 1960; Mitropoulos & Myant, 1967).

In hierdie eksperiment is gepoog om die skildklier-aktiwiteit en die cholesterol-metabolisme met mekaar in verband te probeer bring tydens die toediening van 'n atero-gene- en regeneratiewe-dieet.

'n Koment-opname van die sintese- en katabolisme-aktiwiteit is aan die einde van die eksperiment gemaak. Hierdie eksperimente is met lewerhomogenate uitgevoer, aangesien die lewer waarskynlik die hooforgaan betreffende die cho-

lesterol-metabolisme is (Friedberg, 1966c). In vitro eksperimente is uitgevoer vanweë die aard van die eksperimentele opstelling. Die selvrye ekstrak van die homogenaat wat gebruik is, het al die sellulêre komponente, behalwe die selmembrane en kerne wat deur sentrifugering verwyder is, bevat. Hierdeur is verseker dat al die oplosbare ensiemes en sellulêre organelle wat moontlik betrokke mag wees by die sintese en katabolisme van cholesterol, wel in die inkubasie-medium teenwoordig is. Langs hierdie weg is getrag om die mees absolute waardes vir die sintese en katabolisme te verkry.

4.2 Sintese van cholesterol

4.2.1 Metode

Die metode wat gebruik is om die cholesterol-sintese-aktiwiteit van die lewer te bepaal, is dié van Danielsson, Einarsson & Johansson (1967).

Presies twee gram van die lewermonster is fyn geknip in 'n homogenseerbuis wat nagenoeg 2 ml buffermedium by 4°C bevat het. (Die buffermedium van Rabinowitz & Gurin; pH=7, is gefortifiseer deur die byvoeging van 0.1 M gere-duseerde glutathioon). Die medium word hierna verder met die buffermedium aangevul tot 5.0 ml.

Die lewerweefsel is vervolgens gehomogeniseer met 'n Braun homogenseerder. Die teflon stamper het 'n sodanige grootte gehad dat dit net los in die homogenseerbuis gepas het.

Die homogenaat is vervolgens met 'n verdere 5 ml buffermedium oorgedra na 'n sentrifugeerbuis. Die homogenaat en buffermedium is goed gemeng en daarna vir tien minute

lank teen ongeveer 900 x g gesentrifugeer.

Al die prosedures tot hiertoe is by 4°C uitgevoer.

Die verdere prosedure word voorgestel in skema 4.1.

Presies 7 ml van die supernatant is oorgedra na 'n inkubasie-fles en vir presies 3 uur lank in 'n suurstof atmosfeer in 'n skudwaterbad by 37°C geïnkubeer. Die finale reaksiemengsel het die volgende samestelling gehad: 1.4 μ mole NAD, 1.3 μ mole NADP, 1.6 μ mole ATP en 10 μ Ci natrium (1-¹⁴C)-asetaat (sp. aktiw. = 48 mCi/mM). Die reaksie is beëindig deur die byvoeging van 14 ml 10% KOH (w/v) in metielalkohol.

Hierdie mengsel is vir 1½ uur gerefluks en na afkoeling is 6 M HCl bygevoeg tot 'n pH van ongeveer een. Na die byvoeging van 5.0 mg cholesterol as draermateriaal, is die medium met 175 ml petroleum-eter (60 - 80°C) geëkstraheer. Die petroleum-eter fase is na ekstraksie vyf keer met 14 ml water (gedistilleer) gewas en daarna met anhidriese Na₂SO₄ gedehidreer. Die petroleum-eter is gefiltreer en op 'n roterende verdamper afgedamp.

Die residu is opgelos in 3 ml 70% benseen (v/v) in petroleum-eter (60 - 80°C) en op 'n kolom (13 mm deursnee) met 10 gram aluminiumoksied geplaas (Woelm, aktiwiteit graad III) wat voorberei is in 70% (v/v) benseen in petroleum-eter (60 - 80°C). Eluering is met 50 ml 70% (v/v) benseen in petroleum-eter (60 - 80°C) gedoen, gevolg deur 150 ml benseen waartydens eluering van die cholesterol plaasgevind het. Die benseen is afgedamp en die residu opgelos in 15 ml sintillasievloeistof (4 g PPO + 0.05 g. POPOP in 1 liter toluen). Die radioaktiwiteit is in 'n

Packard vloeistof-sintillasiemeter gemeet (telopbrengs = 65%).

4.2.2 Standaardisering van die metode

Die metode vir die in vitro sintese van cholesterol is aan die hand van die volgende parameters gestandaardiseer.

4.2.2.1 Bewys van Sintese

In die eerste plek is nagegaan hoeveel van die radioaktiwiteit wat gemeet word, verteenwoordigend van de novo gesintetiseerde cholesterol is. Die volgende eksperimente is uitgevoer om dit aan te toon.

4.2.2.1.1 Sintese deur 'n gedenatureerde supernatant

'n Blanke waarde is verkry deur 7 ml van die supernatant eers vir tien minute in kokende water te plaas (Mendelsohn et al, 1966). Die gestolde, onaktiewe supernatant, is hierna gehomogeniseer en vervolgens op presies dieselfde wyse behandel as 'n kontrole-monster van dieselfde proefdier (skema 4.1). Die resultate van die proef word in tabel 4.1 aangedui.

Tabel 4.1 Sintese waardes van 'n gedenatureerde monster (blanke) in vergelyking met 'n normale kontrole monster.

Proefdier	Sintese aktiwiteit (tpm)	
	Blanke	Kontrole
Konyn 1	200	834
Konyn 2	204	4 349

Uit die resultate blyk dat ongeveer 202 tpm van die kontrole-monster toegeskryf kan word aan kontaminerende

radioaktiwiteit, terwyl die res n werklike sintese van cholesterol en ander naverwante stowwe verteenwoordig.

4.2.2.1.2 Dunlaagchromatografering van gesintetiseerde cholesterol

Om na te gaan watter persentasie van die radioaktiwiteit wat gemeet word gesintetiseerde cholesterol verteenwoordig, is die cholesterol-fraksie wat na kolom-chromatografie verkry is, aan dunlaag-chromatografering onderwerp.

Die benseen-eluaat (skema 4.1) word ingedamp tot ongeveer een milliliter, aangebring op n dunlaag van silikagel-G (dikte 0.75 mm) en gechromatografeer in benseen-etielasetaat (3:7, v/v) (Björkhem et al, 1968). Die verskillende komponente van die eluaat word met behulp van jodiumdampe gelokaliseer. Na sublimering van die jodiumdampe by kamertemperatuur, word die silikagel waar die cholesterol gelokaliseer is, afgeskraap en met 25 ml benseen en 25 ml etielalkohol onderskeidelik geëluëer.

Presies dieselfde word gedoen vir al die silikagel bo en onderkant die cholesterol-sone. n Cholesterol- en n nie-cholesterol-bevattende eluaat word dus verkry. Die oplosmiddel van elke eluaat word vervolgens afgedamp en die residu opgelos in 15 ml sintillasievloeistof waarna die hoeveelheid radioaktiwiteit van die onderskeie fraksies gemeet word. Die resultate word saamgevat in tabel 4.2.

Tabel 4.2 Persentasie cholesterol in die benseen-
eluaat.

Eksperi- ment No.	Choleste- rol-bevat- tende frak- sie (tpm)	Nie-choles- terol-bevat- tende frak- sie (tpm)	% Choleste- rol in die benseen- eluaat
1	46	48	49%
2	215	174	55%
3	214	252	46%
4	288	316	48%

* Elke eksperiment verteenwoordig 'n afsonderlike sintese gevolg deur analise.

Uit die resultate blyk dat minstens 46 tot 55% van die hoeveelheid radioaktiwiteit in die eluaat (^{14}C)-Cholesterol verteenwoordig.

4.2.2.1.3 'n Vergelyking van gedenatureerde (blanko) en normale sintese-waardes na dunlaag-chromatografering

Hierdie eksperiment is 'n kombinasie van die eksperimente soos uitgevoer onder 4.2.2.1.1 en 4.2.2.1.2. Duplikaat blanko en normale kontrole sintese eksperimente is op dieselfde lewermonster gedoen. Die benseen-eluate (skema 4.1) is elkeen afsonderlik behandel soos beskryf in 4.2.2.1.2, behalwe dat slegs die cholesterol-sones geëlueer en gemeet is. Die resultate word saamgevat in tabel 4.3.

Tabel 4.3 Sintese waardes van gedatureerde en normale kontrole-monsters na dunlaag-chromatografering.

Monster	Sintese-aktiwiteit (tpm)
Blanko 1	40
Blanko 2	52
Kontrole 1	214
Kontrole 2	288

Die blanko waardes dui op 'n geringe mate van kontaminasie van die cholesterol-fraksie met ander radioaktiewe materiaal na dunlaag-chromatografering. Die hoë normale waardes in vergelyking met die lae blanko waardes toon egter weer eens dat die hoë sintese waardes nie toegeskryf kan word aan kontaminasie deur die toegevoegde (^{14}C)-asetaat nie. Dit moet dus verteenwoordigend wees van de novo gesintetiseerde cholesterol.

4.2.2.1.4 Stimulering van die sintese-aktiwiteit

Danielsson et al (1967) het gevind dat die lewerhomogenate van rotte waarvan die gal vir 48 uur gedreineer is, 'n agtien keer hoër omsetting van asetaat na cholesterol getoon het as die lewerhomogenate van normale rotte.

In twee afsonderlike eksperimente is die gal van rotte gedreineer deur die een punt van 'n dun politeenbuisie met die galbuis van die rot te verbind, terwyl die ander punt sodanig aan die maagvel gefikseer word dat die gal aanhoudend na buite dreineer. Die gal is vir 'n periode van nagenoeg 48 uur op hierdie wyse ge-

dreineer terwyl voldoende voedsel en 0.9% natriumchloried aan die proefdiere verskaf is. Na hierdie tydperk is die cholesterol-sintese van die lewer nagegaan (skema 4.1). Die resultate word aangegee in tabel 4.4.

Tabel 4.4 Sintese waardes na galsuurdreinerings.

Proefdier No.	Cholesterol Sintese-aktiwiteit (tpm)	
	Normaal	Gal-gedreineerd
1	360	-
2	365	-
3*	-	88
4	-	1 480
5	-	14 300
6	-	820
7	-	980

* Die lae waarde van rot no. 3 kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat gal vir die laaste helfte van die dreineringsperiode in die buikwand gedreineer het.

As die gal-gedreineerde waardes vergelyk word met die normale waardes, dan kan die gevolgtrekking gemaak word dat 'n toename in sintese wel plaasgevind het.

4.2.2.1.5 Ondersdrukking van die sintese-aktiwiteit deur vastende toestande

Tomkins & Chaikoff (1952) het gevind dat vastende toestande van 24 tot 48 uur, die cholesterol-sintese-aktiwiteit by proefdiere verlaag. Die resultate van 'n soortgelyke eksperiment word in tabel 4.5 aangegee.

Tabel 4.5 Vastende sintese-waardes.

Proefdier No.	Tyd gevas (ure)	Sintese-aktiwiteit (tpm)
1	40	327
2	24	72

Vanweë die feit dat die proefdier se vastende waarde nie met sy eie normale waarde vergelyk kan word nie, is dit moeilik om vas te stel of 'n onderdrukking wel plaasgevind het. Waarskynlik was dit wel die geval by proefdier no. 2.

4.2.2.1.6 Onderdrukking van die sintese-aktiwiteit deur gal-toevoeging

Ogilvie & Kaplan (1966) het vasgestel dat die byvoeging van klein hoeveelhede rot-gal by die lewerhomogenate van rotte, die inkorporering van asetaat na digitonin-presipiteerbare sterole merkbaar onderdruk.

In 'n eksperiment is die sintese-aktiwiteit van twee kony-n-lewerhomogenate onderdruk deur die byvoeging van klein hoeveelhede (0.5 ml gal per inkubasie mengsel van 7.0 ml) rot-gal. 'n Normale sintese eksperiment is terselfdertyd vir dieselfde konyne gedoen. Die resultate is getabelleer in tabel 4.6.

Tabel 4.6 Sintese-aktiwiteit van normale en gal-bygevoegde homogenate.

Proefdier No.	Sintese-aktiwiteit (tpm)	
	Normaal	Gal
1	4 349	2 536
2	834	980

n Duidelike onderdrukking het plaasgevind by konyn no. 1, terwyl geen onderdrukking verkry is by konyn no. 2 nie.

4.2.2.2 Spesifisiteit van die metode

Die 150 ml benseen (sien skema 4.1) is spesifiek vir die eluering van cholesterol vanaf die alumina-kolom. Om hierdie spesifisiteit van die benseen-eluering na te gaan, is die volgende eksperimente uitgevoer.

Op die alumina-kolom is 0.5 mg cholesterol aangebring en gefraksioneer soos aangedui in skema 4.1. Beide die 70% benseen-eluaat en die 150 ml benseen-eluaat is versamel.

n Verdere eluering met 50 ml benseen is uitgevoer en hierdie eluaat is ook versamel. Al drie die eluate is afsonderlik afgedamp en die hoeveelheid cholesterol daarin kolorimetries volgens die Liebermann-Burchard reaksie bepaal. Die cholesterol van die verskillende eluate is vergelyk met n 0.5 mg standaard. Die resultate word aan-gegees in tabel 4.7.

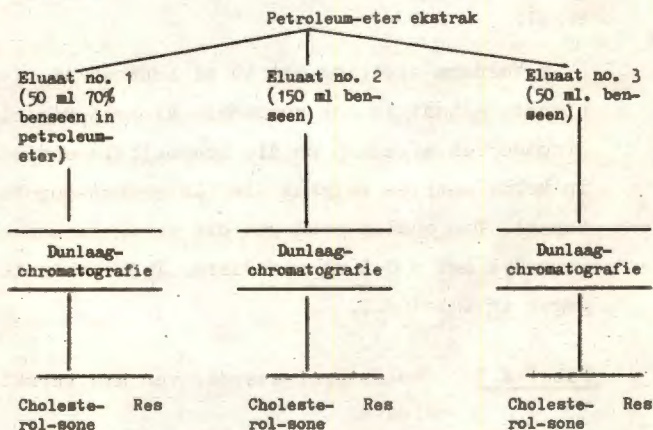
Tabel 4.7 Cholesterol-waardes van die verskillende eluate.

Eluaat No.	Elueermiddel	O.D	Cholesterol (mg)	Persentasie t.o.v. 0.5 mg
1	50 ml 70% benseen in petroleum-eter	0.058	0.12	24.0
2	150 ml benseen	0.174	0.36	72.0
3	50 ml benseen	0.005	0.021	4.2
1 + 2 + 3		0.237	0.501	100.2

Uit die resultate blyk dat 72% van die cholesterol deur die 150 ml benseen geëlueer word, terwyl 24.0% reeds in die 50 ml 70% benseen in petroleum-eter-eluaat verlore gaan.

In 'n volgende eksperiment is in vitro gesintetiseerde (^{14}C)-cholesterol volledig gefraksioneer soos in skema 4.2 aangedui is. Na dunlaag-chromatografering is die verskillende fraksies afgeskraap, geëlueer en die radioaktiwiteit daarvan gemeet. Die resultaat is getabuleer in tabel 4.8.

Skema 4.2



Tabel 4.8 Persentasie radioaktiewe cholesterol in eluate 1, 2 en 3.

Eksp. No.	Eluaat 1			Eluaat 2			Eluaat 3		
	Choles-terol-sone	Res.	% Choleste-rol	Choles-terol-sone	Res.	% Choleste-rol	Choles-terol-sone	Res.	% Choleste-rol
1	8	204	4	46	48	49	6	8	-
2	6	162	3	24	60	28	2	6	-
3	72	352	20	215	174	55			
4*				214	252	46			
5*				288	316	47			
6*				154	115	57			

*Vir sommige monsters is slegs eluaat 2 op die dunlaag gchromatografeer.

Uit die tabelwaardes kan gesien word dat tussen 46% en 57% van die radioaktiwiteit in eluaat 2 aan cholesterol toegeskryf kan word. Dit beteken dat nagenoeg 50% van die radioaktiwiteit ander radioaktiewe stowwe verteenwoordig.

Samevattend kan op grond van die resultate van bogenoemde eksperimente gesê word dat die 150 ml benseen wel spesifiek is vir die eluering van cholesterol aangesien dit 72% van die cholesterol op die kolom elueer en omdat 50% van die geëluereerde in vitro gesintetiseerde produkte, cholesterol verteenwoordig.

4.2.3 Resultate

Vir die proefdiere van groepe I, II en IIIA wat doodgemaak is aan die einde van Fase B (tabel 3.2), is die cholesterol-sintese-aktiwiteit van die lewer nagegaan soos beskryf in 4.2.1. Die hoeveelheid (^{14}C)-cholesterol wat gevorm is vanaf (^{14}C)-asetaat het die sintese-aktiwiteit weerspieël. Die sintese-aktiwiteit van hierdie proefdiere word aangegee in tabel 4.9.

Tabel 4.9 Sintese-waardes (10^{-3} μ umole (^{14}C)-ase-
taat omgesit na (^{14}C)-cholesterol).

Proef- dier no.	Groep I		Proef- dier no.	Groep II		Proef- dier no.	Groep IIIA	
	Sintese- aktiwi- teit			Sintese- aktiwi- teit			Sintese- aktiwi- teit	
	AT*	REG*		AT	REG		AT	REG
A8	9.06		X5		3.73	L2	1.87	
B4		1.90	X12	3.16		L4	0.02**	
			X13		2.48	L5		1.64
			Y5	1.34		M1		1.44
			Y10	1.54		M4		0.15**
			Y13		-	M5	1.25	
			Z2		3.33			
			Z5	3.63				
			Z13		0.85			
Gem.	9.06	1.90	Gem.	2.42	2.60	Gem.	1.57	1.54

* AT : konyne op die aterogene-dieet

REG : konyne op die regeneratiewe-dieet

** Hierdie waardes is gevalle waar die suksesvolle uitvoering van die sintese eksperiment in twyfel getrek word en nie in berekening gebring is vir die gemiddelde waardes nie.

4.2.4 Bespreking

Uit die gemiddelde (^{14}C)-cholesterol-sintese-waardes van proefdiere op die aterogene- en regeneratiewe-diëte, kon vir beide groep II en IIIA geen verskil in die cholesterol-sintese-aktiwiteit verkry word nie. Die hoë sintese waarde van konyng A8 is opvallend.

4.3 Katabolisme van cholesterol (Chol-suur-sintese)

Die metode wat gebruik is om die cholesterol-katabolisme-aktiwiteit, dit is die chol-suur-sintese-aktiwiteit van die lewer na te gaan, is basies dié wat deur Björkhem, Danielsson & Einarsson (1968) gebruik is. Die metode deur hierdie skrywers is egter vir kwalitatiewe studies aangewend en moes gevolglik eers gestandaardiseer word voordat dit vir kwantitatiewe metings aangewend kon word.

4.3.1 Metode

Die selvrye ekstrakt van presies 2 gram van die lewermonster in die katabolisme buffermedium; gemodifiseerde Bucher-medium (Bergström & Gloor, 1955) waarby 3.07 g gere-duseerde glutathioon per liter gevoeg was, is op dieselfde wyse berei as by die sintese van cholesterol (4.2.1).

Na sentrifugering is 5 ml supernatant in 'n suurstof atmosfeer vir $1\frac{1}{2}$ uur in 'n skudwaterbad by 37°C geïnkubeer. (Die kort inkubasie-tydperk beperk die outo-oksidasie van cholesterol; Björkhem et al, 1968). Die finale reaksie-mengsel het die volgende samestelling gehad: $1.3\ \mu$ mole NADP, $1.4\ \mu$ mole NAD, $1.6\ \mu$ mole ATP, $0.26\ \mu$ mole Ko-ensiem-A en $0.6\ \mu$ Ci (4-C^{14})-cholesterol (spesifieke aktiwiteit, $59.2\ \text{m Ci/mM}$). Die hoeveelheid (^{14}C)-chol-suur wat gevorm word vanaf die (^{14}C)-cholesterol dien as maatstaf van die chole-

terol-katabolisme-aktiwiteit. Die verdere prosedure vanaf hiendie stap word voorgestel in skema 4.3.

Die reaksie is beëindig deur die byvoeging van 100 ml chloroform : metanol (2:1, v/v) waarna die mengsel vir tien minute geskud en dan in 'n 250 ml skeitregter gefiltreer is. By die filtraat is 21 ml 0.9% NaCl en 20 mg cholsuur wat as draermateriaal gedien het, gevoeg. Die meer polêre stowwe (onder andere die galsure), is hierna deur die metanol : water fase geëkstraheer deurdat die mengsel vir ongeveer 15 minute lank geskud is.

Na skeiding van die fases is die metanol:water fase oorgedra na 'n 250 ml Karius-buis waarby 100 ml van 'n 2 M. KOH oplossing in 50% etanol gevoeg is. Die buis is toegesmelt en vir 12 uur lank in 'n oond by 110°C geplaas waartydens die gekonjugeerde galsure, waarvan gliko- en taurocholsuur die vernaamste is, gehidroliseer is. Na hidrolise is HCl(o) by die hidrolisaat gevoeg om 'n pH van ongeveer een te gee. Die oplossing is vervolgens drie maal met gelyke volumes di-etiese eter geëkstraheer. Die eter-ekstrakte is bymekaar gevoeg en twee keer met 20 ml water gewas om die soutsuur te elimineer. Die oplossing is vervolgens met anhidriese Na₂SO₄ gedroog, gefiltreer en afgedamp. Die residu is oor P₂O₅ gedroog. Die residu is opgelos in 'n minimum hoeveelheid metanol en aangebring op 'n dunlaag van silika-gel G (dikte 0.75 mm). 'n Cholsuur-standaard is terselfdertyd op die dunlaag aangebring. Ontwikkeling van die chromatoplaat is gedoen in trimetielpentaan-etielasetaat-asynsuur as oplosmiddel in 'n volumeverhouding van 100:100:20, by 18 - 20°C. Nadat die plaat ontwikkel is, is die oplosmiddel afgedamp en die cholsuur met behulp van jodiumdampe gelokaliseer (Björkhem, 1968). Die jodiumdampe is toegelaat om

4.3.2 Standaardisering van die metode

4.3.2.1 Bewys van sintese

Om te bewys dat in vitro sintese van cholsuur plaasgevind het, is die cholsuur-sintese-aktiwiteit van n gedenatureerde supernatant (sien 4.2.2.1.1) vergelyk met die sintese-aktiwiteit van n onbehandelde supernatant van dieselfde kony. Die resultate word saamgevat in tabel 4.10.

Tabel 4.10 Cholsuur-sintese-waardes van normale en gedenatureerde supernatante.

Proefdier No.	Cholsuur-sintese-aktiwiteit (tpm)	
	Gedenatureerd	Normaal
1	16	606
2	10	898
3	10	1 606

Die lae gedenatureerde waardes wat in al drie die gevalle verkry is, is n bewys dat die hoë radioaktiwiteit van die normale waardes nie toegeskryf kan word aan kontaminasie deur die toegevoegde (4-¹⁴C)-cholesterol nie. Die radioaktiwiteit kan dus slegs verbindings verteenwoordig wat in vitro vanaf die toegevoegde (¹⁴C)-cholesterol gevorm is. Gesien in die lig van die cholsuur-spesifieke isoleringsprosedure wat gevolg is, kan die radioaktiwiteit slegs cholsuur of ander chemiesnawerwante galsure verteenwoordig.

4.3.2.2 Dupliseerbaarheid

Die katabolisme-waardes van n hele aantal monsters is in duplikaat verkry. Die resultate word aangegee in tabel 4.11.

Tabel 4.11 Duplikaat katabolisme-waardes (tpm).

Proefdier No.	Duplikaat waardes	Persentasie-verskil op die gemiddelde waarde
1	1 082 en 1 126	4
2	694 en 658	5
3	383 en 333	14
4	416 en 516	21
5	670 en 671	0
6	1 034 en 987	4
7	249 en 258	3
8	356 en 344	3
9	429 en 566	27
10	608 en 598	2

n Gemiddelde persentasie-verskil van 8% word verkry wat n gemiddelde dupliseerbaarheid van 92% gee.

4.3.2.3 Herwinning

By twee afsonderlike supernatante (sien skema 4.3) is direk 100 ml chloroform:metanol gevoeg waarin 10 mg cholsuur opgelos is. Die ekstrahering en suiwing van die cholsuur is gedoen soos reeds beskryf (skema 4.3). Die metanol-eluate van die cholsuur-fraksies na dunlaag-chromatografering is droog gedamp, waarna 10 ml

swawelsuur (c) by die residu gevoeg is vir 'n spektrofotometrie se bepaling (Eriksson & Sjövall, 1955). 'n 0.1% Cholsuur-oplossing in swawelsuur (c) is as standaard gebruik. Na volledige kleurontwikkeling na twee uur, is die standaard en herwinningsmonsters elk 286 keer verdun en die spektra daarvan met 'n Unicam SP 800 spektrofotometer geregistreer (Fig. 4.1).

Die standaard het 'n maksimum absorpsie van 1.94 by 389 - 390 m μ getoon teenoor die maksimum absorpsie van 0.52 deur beide die herwinningsmonsters by dieselfde golflengte. Hierdie lesings is slegs die van die toegevoegde cholsuur, aangesien in 'n afsonderlike eksperiment vasgestel is dat die 5 ml supernatant geen bepaalbare hoeveelhede cholsuur besit nie. Volgens beide die lesings besit die metode 'n cholsuur-herwinningsvermoë van 27%. Die U.V. spektra wat geregistreer is van die standaard en herwinningsmonster word in Fig. 4.1 aangedui.

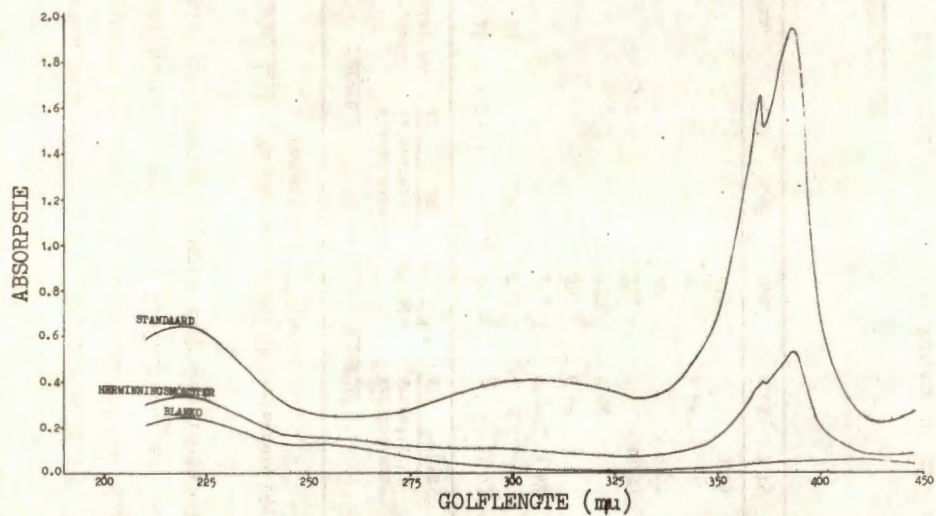


Fig. 4.1 U.V. Spektra van die cholsuur standaard en herwinningsmonster.

4.3.3 Resultate

Vir die proefdiere van groepe I, II en IIIA wat doodgemaak is aan die einde van Fase B (tabel 3.2), is die cholesterol-katabolisme-aktiwiteit van die lewer nagegaan soos beskryf in 4.3.1. Die hoeveelheid (^{14}C)-cholsuur wat gevorm is vanaf (^{14}C)-cholesterol het die katabolisme-aktiwiteit weerspieël. Die katabolisme-aktiwiteit van hierdie proefdiere word aangegee in tabel 4.12.

Tabel 4.12 Katabolisme waardes (10^{-3} $\mu\mu$ mole ($4\text{-}^{14}\text{C}$)-cholesterol omgesit na (^{14}C)-cholsuur).

<u>Groep I</u>			<u>Groep II</u>			<u>Groep IIIA</u>		
Proef-dier No.	Katabolisme-aktiwiteit		Proef-dier No.	Katabolisme-aktiwiteit		Proef-dier No.	Katabolisme-aktiwiteit	
	AT	REG		AT	REG		AT	REG
A8	6.11		X5		11.03	L2	12.92	
B4		2.98	X12	10.54		L4	11.82	
			X13		1.14	L5		7.91
			Y5	6.98		M1		5.45
			Y10	8.94		M4		7.84
			Y13		10.39	M5	4.00	
			Z2		9.97			
			Z5	8.26				
			Z13		3.25			
<u>Gem.</u>	6.11	2.98	<u>Gem.</u>	8.68	7.15	<u>Gem.</u>	9.58	7.07

4.3.4 Bespreking

In vergelyking met die konyne op die regeneratiewe-dieet is n neiging tot n hoër katabolisme-aktiwiteit by die konyne op die aterogene-dieet by al drie die groepe te bemerk. Alhoewel hierdie verskille nie so duidelik gesien kan word in die individuele waardes nie, is dit wel duidelik wanneer die gemiddelde waardes met mekaar verge-

lyk word.

4.4 Sintese : Katabolisme verhouding (S/K)

Vanuit die cholesterol-sintese en -katabolisme waardes is die sintese:katabolisme verhouding van cholesterol bereken vir die konyne van groepe I, II en IIIA. Die afsonderlike waardes vir die konyne in elkeen van hierdie groepe word aangegee in tabel 4.13.

Tabel 4.13 S/K-waardes vir die konyne van groepe I, II en IIIA aan die einde van Fase B.

Groep I			Groep II			Groep IIIA		
Proef-dier No.	S/K-waarde		Proef-dier No.	S/K-waarde		Proef-dier No.	S/K-waarde	
	AT	REG		AT	REG		AT	REG
A8	1.48		X5		0.34	L2	0.14	
B4		0.64	X12	0.29		L4	-	
			X13		2.17	L5		0.21
			Y5	0.19		M1		0.26
			Y10	0.17		M4		-
			Y13		-	M5	0.32	
			Z2		0.33			
			Z5	0.44				
			Z13		0.26			
Gem.	1.48	0.64	Gem.	0.27	0.77	Gem.	0.23	0.23

Alhoewel geen verskil tussen die gemiddelde S/K-waardes van die konyne van groep IIIA op die aterogene- en regeneratiewe-diëte aangetoon kon word nie, blyk daar tog 'n verskil van hierdie waardes tussen die aterogene* en regeneratiewe** konyne van groep II te wees. 'n Gemiddelde S/K-waarde van 0.77 word vir die regeneratiewe groep verkry.

*aterogene konyne - konyne op die aterogene diët

**regeneratiewe konyne - konyne op die regeneratiewe diët.

Wanneer die hoë waarde van X13 (2.17) buite rekening gelaat word, word 'n gemiddelde waarde van 0.305 verkry wat nogtans hoër is as die gemiddelde S/K-waarde van 0.26 by die aterogene groep. Hierdie verskil word ook gesien in die individuele waardes van die aterogene en regeneratiewe konyne.

Die S/K-waardes van groep I het die teenoorgestelde neiging. Die hoë waardes van die konyne in hierdie groep is opmerklik.

4.5 Proteïen-gebonde-jodium (PBI)

4.5.1 Metode

As maatstaf van tiroksien sekresie is die hoeveelheid proteïen-gebonde-jodium in die serum geneem. Die metode wat hiervoor aangewend is, is 'n modifikasie van dié van Varley, 1963 (Van der Walt, 1968). Die metode behels die isolering van die proteïen-gebonde-tiroksien deur proteïen-presipitering, waarna die hoeveelheid jodium wat teenwoordig is op 'n indirekte wyse kolorimetries bepaal word.

4.5.2 Resultate

Die PBI-waardes vir groepe I en II gedurende die verloop en aan die einde van Fase B word saamgevat in tabel 4.14.

Tabel 4.14 P.B.I.-waardes gedurende Fase B.

Proef- dier No.	PBI-WAARDES (μg Jodium %)									
	Tydperk (dae)									
	0*		31		63		164		284 - 306**	
	AT	REG	AT	REG	AT	REG	AT	REG	AT	REG
<u>GROEP I</u>										
A8	4.8		4.5		3.5		5.0		—	
B4		6.0		4.6		4.7		6.6		12.8
Gem.	4.8	6.0	4.5	4.6	3.5	4.7	5.0	6.6	—	12.8
<u>GROEP II</u>										
X5		4.4		4.3		5.2		5.0		—
X12	1.7		4.2		4.5		4.5		—	
X13		2.0		3.7		—		4.1		7.1
Y5	5.5		5.4		4.8		4.4		7.6	
Y10	4.8		4.9		4.8		4.6		6.4	
Y13		4.7		5.4		5.2		(0.8)		7.0
Z2		4.9		4.0		3.6		4.2		6.9
Z5	2.7		4.7		5.5		4.9		—	
Z6	4.0		4.1		4.3		(1.0)		—	
Z13		2.7		4.3		4.4		(1.4)		8.4
Gem.	3.6	3.7	4.6	4.3	4.8	4.6	4.6	4.4	7.0	7.3

*PBI-waardes net voor die aanvang van Fase B.

**PBI-waardes van monsters geneem tydens die doodmaak van die proefdiere.

Die gemiddelde waardes van groep II is in 'n grafiek in figuur 4.2 uiteengesit, om die verandering in die PBI-waardes van die twee groepe (aterogeen en regeneratief) teenoor die tyd, met mekaar te vergelyk.

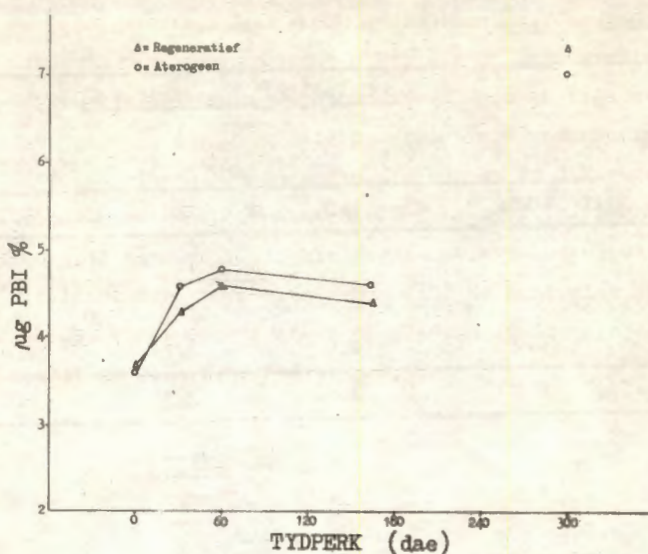


Fig. 4.2 Veranderinge in die gemiddelde PBI-waardes van die aterogene en die regeneratiewe groepe.

Die relatiewe verandering in die PBI-waarde van die regeneratiewe groep ten opsigte van die aterogene groep word aangedui in figuur 4.3.

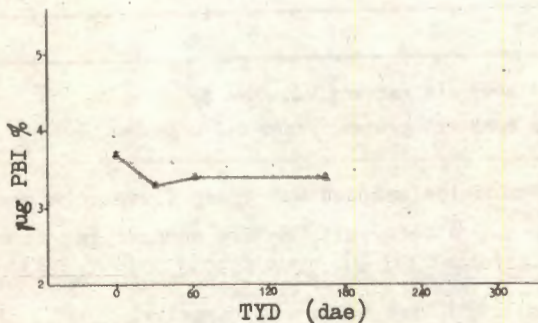


Fig. 4.3 Relatiewe verandering in die PBI-waarde van die regeneratiewe groep ten opsigte van die aterogene groep.

4.5.3 Bespreking

Na die aanvang van Fase B het die PBI-waardes van albei groepe om een of ander rede gestyg. Die waarde van die regeneratiewe groep het egter minder gestyg as die aterogene groep, wat 'n geringe relatiewe daling van die regeneratiewe groep impliseer. Hierdie verskynsel kan slegs toegeskryf word aan die verandering in die dieet (regeneratiewe dieet).

Twyfel bestaan omtrent die korrektheid van die laaste waardes en word om redes wat later genoem sal word (hoofstuk 7), nie hier bespreek nie.

4.6 Samevattende bespreking

Die effek van die aterogene dieet op die gemiddelde sintese-, katabolisme- en S/K-waardes vir die aterogene konyne van groepe I, II en IIIA kan gesien word in tabel 4.15.

Tabel 4.15 Gemiddelde sintese-, katabolisme- en S/K-waardes vir die aterogene-konyne van groepe I, II IIIA.

Groep No.	Tydsduur op die aterogene dieet (dae)	Sintese 10^{-3} $\mu\mu$ mole (^{14}C)asetaat omgesit na (^{14}C) cholesterol	Katabolisme 10^{-3} $\mu\mu$ mole (^{14}C) cholesterol omgesit na (^{14}C)cholsuur	Sintese-katabolisme verhouding (S/K)
I*	1 498	9.06	6.11	1.48
II	1 240	2.42	8.68	0.27
IIIA	580	1.57	9.58	0.23

*Die waardes van groep I word slegs deur 'n enkele konyne (A8) verteenwoordig (sien 5.4).

As die tydperk waartydens die verskillende groepe op die aterogene dieet geplaas was met die onderskeie gemiddelde waardes vergelyk word, blyk dit dat 'n toename in die tydsduur op die dieet, 'n toename van die cholesterol-sintese-aktiwiteit tot gevolg gehad het, met 'n gelyktydige afname van die katabolisme aktiwiteit. Die netto effek was 'n geringe toename van die S/K-waarde in die tyd.

'n Soortgelyke verandering in die tyd word waargeneem vir die gemiddelde sintese-, en S/K-waardes vir die regeneratiewe konyne van groepe II en IIIA in tabel 4.16.

Tabel 4.16 Gemiddelde sintese-, katabolisme- en S/K-waardes vir regeneratiewe-konyne van groepe I, II IIIA.

Groep No.	Tydsduur op dieet (dae)	Regeneratief	Sintese 10^{-3} $\mu\mu$ mole (14C)asetaat omgesit na (14C) cholesterol	Katabolisme 10^{-3} $\mu\mu$ mole (14C) cholesterol omgesit na (14C)cholsuur	Sintese-katabolisme verhouding (S/K)
I*	1 193	306	1.90	2.98	0.64
II	950	295	2.60	7.15	0.77
IIIA	435	150	1.54	7.07	0.23

*Die waardes van groep I is verteenwoordigend van 'n enkele konyne (B4) (sien 5.4).

Die verskil in die waardes van groepe II en IIIA na regenerasie; wat heel waarskynlik volledig plaasgevind het te beoordeel aan die bloedcholesterol en C/P-waardes, kan moontlik 'n ouderdomseffek wees. Die bloedcholesterol word dus waarskynlik deur ander faktore verlaag eerder as deur middel van die metabolisme daarvan, byvoorbeeld deur 'n verhoogde

ekskresie daarvan (sien Friedberg, 1966).

Uit die gemiddelde waardes van tabelle 4.9, 4.12 en 4.13 blyk dit dat die regeneratiewe dieet geen effek op die sintese-waardes gehad het nie, terwyl dit 'n geringe afname van die katabolisme-waardes veroorsaak het. Hierdie verandering het gepaard gegaan met 'n geringe relatiewe daling van die PBI-waardes in die bloedserum en 'n styging van die S/K-verhouding by die regeneratiewe-konyne van groep II (figuur 4.2).

HOOFSTUK 5

DIE INVLOED VAN DIEET OP DIE CHOLESTEROL-, FOSFOLIPIED-, CHOLESTEROL:FOSFOLIPIED-VERHOUDING, EN MAGNESIUMWAARDES VAN DIE BLOED-SERUM

5.1 Inleiding

Op grond van epidemiologiese, eksperimentele en ander ondersoek, is 'n verband tussen die serumcholesterol-konsentrasie en aterosklerose lank reeds aangetoon. Die fosfolipiedes van die serum lewer volgens sommige navorsers 'n belangrike bydrae tot die stabiliteit van die opgeloste serumcholesterol. Veral die cholesterol:fosfolipied-verhouding word deur sommige navorsers as 'n belangrike indikasie van die kans tot aterosklerose beskou (Ahrens & Kunkel, 1949). Page & Bernhard (1935) het gevind dat die C/P-waardes van normale konyne kleiner as 1.0 is, terwyl dit by konyne met cholesterol geïnduseerde aterosklerose groter as 1.0 is.

Op grond van bogenoemde bevindings is die cholesterol- en C/P-waardes van die serum as 'n indikasie van die aterogene toestand in die proefdiere geneem. Die aterogene en regeneratiewe effekte van die dieet is in 'n groot mate hieraan gemeet.

Die magnesium in die serum is nagegaan om die omgekeerde verband tussen die magnesium- en die cholesterol-waardes van die serum wat deur Rademeyer (1963) gevind is, verder te ondersoek.

5.2 Metodes

5.2.1 Cholesterol

Vir bepaling van die serumcholesterol-konsentrasie is

die metode van Sperry & Webb (1950) gevolg. Die cholesterol vir die standaard is vooraf gesuiwer deur rekristallasie (Fieser, 1953).

5.2.2 Fosfolipiede

Die fosfolipiede in die serum word geëkstraheer, verteer en geeksideer volgens die metode van Youngburg & Youngburg (1930). Die anorganiese fosfaat wat so verkry is, word kolorimetries bepaal volgens die metode van Fiske & Subbarow (1925).

5.2.3 Magnesium

Die konsentrasie van die serummagnesium is atoomabsorpsiespektrofotometries bepaal volgens die metode van Dawson & Heaton (1961). Die metings is gedoen met 'n Zeiss atoomabsorpsiespektrofotometer (FA2 en PMQII eenhede aanmekaar geskakel).

5.3 Resultate

5.3.1 Die Aterogene Fase (Fase A)

Die waardes van die verskillende serum parameters gedurende Fase A van groepe I, II en III word getabuleer en vir elke groep grafies uiteengesit om die veranderinge hierin gedurende die eksperiment te illustreer.

5.3.1.1 Cholesterol

Die serumcholesterol-waardes vir die bloedmonsters wat van tyd tot tyd by die verskillende konyne geneem is, word in tabel 5.1 aangegee.

Tabel 5.1 Veranderinge in die serumcholesterol-konsentrasie tydens Fase A.

Cholesterol-konsentrasie (mg%)															
Groep IIIA									Groep IIIB		Groep II		Groep I		
Proef- dier No.	Tydperk (dae)								Proef- dier No.	Tyd- perk (dae) 435	Proef- dier No.	Tyd- perk (dae) 950	Proef- dier No.	Tyd- perk (dae) 1 193	
	0	28	96	153	224	283	345	435							
L1	16	104	25	30	85	165	52	40	N1	25	X5	73	A8	85	
L2	23	42	45	25	75	47	54	44	N3	25	X12	50	B4	235	
L3	20	45	30	35	40	28	25	-	N4	40	X13	50			
L4	18	65	34	58	105	105	55	57	O4	40	Y5	60			
L5	36	65	72	45	43	50	52	50	O5	37	Y10	145			
Gem.	23	64	41	38	69	79	48	48	O6	65	Y13	55			
M1	48	42	63	45	210	130	47	48			Z2	35			
M2	37	-	40	105	84	-	-	-			Z5	40			
M3	23	60	40	120	153	230	-	-			Z6	123			
M4	19	52	44	58	75	100	56	49			Z13	125			
M5	28	123	55	150	185	155	70	65							
Gem.	31	69	48	96	141	153	58	54							
Tot. Gem.	27	66	45	67	105	116	53	51	Gem.	38	Gem.	76	Gem.	160	

Die verandering in die tyd van die gemiddelde waardes van konyne L en M, word grafies in figuur 5.1 voorgestel.

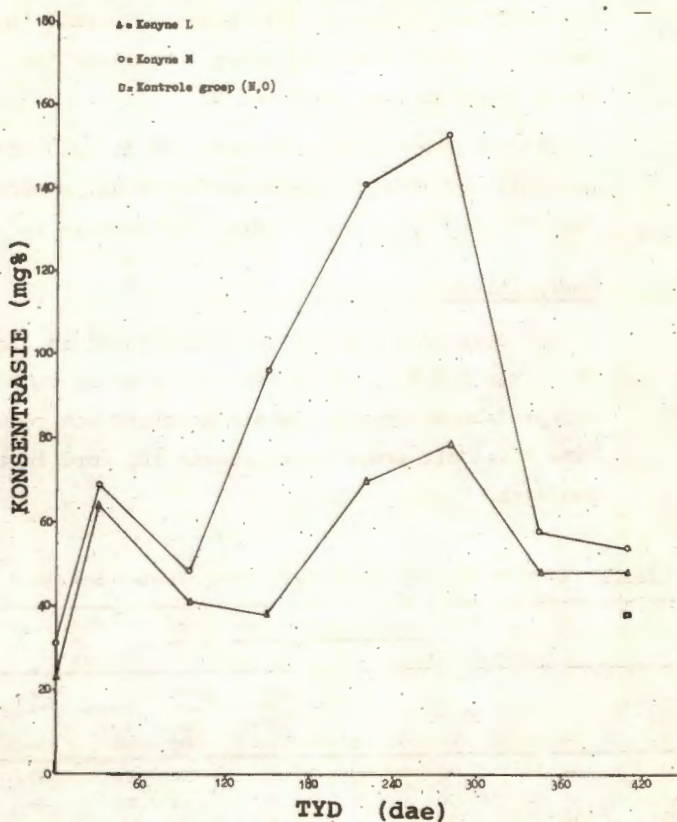


Fig. 5.1 Veranderinge van die gemiddelde serumcholesterol-waardes van konyne L en M van groep III.

’n Duidelike verskil in die cholesterol-waardes sowel as die tempo van toename met die tyd bestaan tussen konyne L en M van groep III. ’n Veel traer toename en ’n baie laer maksimum cholesterol-waarde word bereik vir konyne L teenoor konyne M.

Ten spyte van die verskil in waardes en die tempo waarteen die cholesterol styg, is die patroon van albei die grafieke dieselfde. Die enigste verskil is dat die tweede stygende fase van groep L minstens twee maande later begin as die van groep M.

Volgens bogenoemde resultate het die gedroogde suikermielies 'n onderdrukkende effek op die hipercholesteremiese aard van die aterogene bestanddele in die dieet.

5.3.1.2 Fosfolipiede

Net soos in die geval van cholesterol is bloedmonsters van tyd tot tyd geneem. Die waardes van die fosfolipied-bepalings op hierdie monsters wat gedurende Fase A van die eksperiment geneem is, word in tabel 5.2 aangegee.

Tabel 5.2 Verandering in die serumfosfolipied-konsentrasie tydens Fase A.

		Fosfolipied-konsentrasie (mg%)														
		Groep IIIA						Groep IIIB				Groep II		Groep I		
Proef-dier No.	0	Tydperk (dae)						Proef-dier No.	Tydperk (dae) 435	Proef-dier No.	Tydperk (dae) 950	Proef-dier No.	Tydperk (dae) 1-193			
		28	96	153	224	283	345							435	06	88
L1	35	92	54	58	110	182	119	88	N1	04	X5	130	A8	124		
L2	80	46	74	74	98	117	97	84	N3	54	X12	98	B4	242		
L3	50	90	64	-	80	80	84	-	N4	70	X13	104				
L4	43	96	-	84	140	152	118	108	O4	73	Y5	123				
L5	43	54	80	57	80	100	115	114	O5	69	Y10	198				
Gem.	51	75	68	68	101	126	106	98								
M1	66	35	62	44	170	120	82	80			Z5	86				
M2	54	-	-	48	111	-	-	-			Z6	186				
M3	46	60	42	72	144	212	-	-			Z13	198				
M4	44	54	33	66	100	134	101	81								
M5	30	110	60	84	178	148	121	102								
Gem.	48	65	50	63	140	153	101	88								
Tot. Gem.	49	70	59	65	120	139	103	93	Gem.	70	Gem.	124	Gem.	183		

Die verandering in die tyd van die gemiddelde waardes van konyne L en M, word grafies in figuur 5.2 voorgestel.

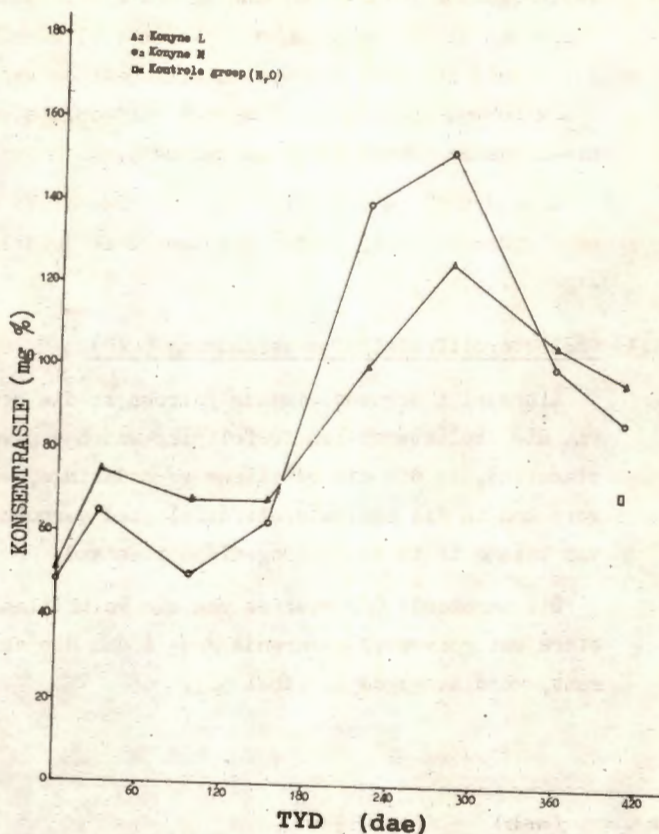


Fig. 5.2 Veranderinge van die gemiddelde serumfosfolipied-waardes van konyne L en M van groep III.

Soos in die geval van die cholesterol-waardes, is daar ook 'n duidelike verskil in die fosfolipied-waardes van konyne L en M van groep III. 'n Langsamer toename en 'n laer maksimum waarde word bereik deur konyne L as konyne M.

Behalwe dat die patroon van veranderinge in beide gevalle (konyne L en M) ooreenstem met die veranderingspatroon van die ooreenstemmende cholesterol gevalle soos wat bekend is, stem die veranderingspatroon van konyne L ook ooreen met die van konyne M, uitgeslote weer, die nie-stygende tweede fase van konyne L.

Die verskil in die effek van die twee diëte soos genoem onder 5.3.1.1, is dus ook weer baie duidelik hier sigbaar.

5.3.1.3 Cholesterol:fosfolipied-verhouding (C/P)

Alhoewel n ooreenstemmende patroon in die verandering van die cholesterol- en fosfolipied-waardes gewoonlik plaasvind, is dit die relatiewe veranderinge, wat na vore kom in die cholesterol:fosfolipied verhouding, wat van belang is by die aterogeniese toestand.

Die berekende C/P-waardes van die verskillende monsters wat geneem is gedurende Fase A van die eksperiment, word aangegee in tabel 5.3.

Tabel 5.3 Serum C/P-waardes gedurende Fase A.

Cholesterol:Fosfolipied-verhouding														
Groep IIIA									Groep IIIB		Groep II		Groep I	
Proef- dier No.	Tydperk (dae)								Proef- dier No.	Tyd- perk (dae) 435	Proef- dier No.	Tyd- perk (dae) 950	Proef- dier No.	Tyd- perk (dae) 1193
	0	28	96	153	224	283	345	435						
L1	0.46	1.13	0.46	0.52	0.77	0.91	0.45	0.45	N1	0.39	X5	0.56	A8	0.68
L2	0.29	0.91	0.61	0.33	0.77	0.40	0.56	0.52	N3	0.46	X12	0.51	B4	0.97
L3	0.40	0.50	0.47	-	0.50	0.35	0.30	-	N4	0.57	X13	0.48		
L4	0.38	0.68	-	0.69	0.75	0.69	0.46	0.53	O4	0.54	Y5	0.49		
L5	0.84	1.20	0.90	0.79	0.54	0.50	0.45	0.36	O5	0.53	Y10	0.73		
Gem.	0.47	0.88	0.61	0.58	0.66	0.57	0.44	0.46	O6	0.74	Y13	0.58		
											Z2	1.60		
M1	0.73	1.20	1.02	1.02	1.24	1.08	0.57	0.60			Z5	0.46		
M2	0.68	-	-	2.19	0.76	-	-	-			Z6	0.66		
M3	0.50	1.00	0.95	1.66	1.06	1.08	-	-			Z13	0.63		
M4	0.43	0.96	1.16	0.88	0.75	0.75	0.55	0.60						
M5	0.94	1.12	0.92	1.79	1.04	1.05	0.58	0.63						
Gem.	0.65	1.07	1.01	1.51	0.97	0.99	0.56	0.61						
Tot.														
Gem.	0.56	0.96	0.81	1.04	0.81	0.78	0.50	0.53	Gem.	0.54	Gem.	0.67	Gem.	0.82

Die veranderinge in die tyd van die gemiddelde C/P-waardes van konyne L en M word grafies in figuur 5.3 voorgestel.

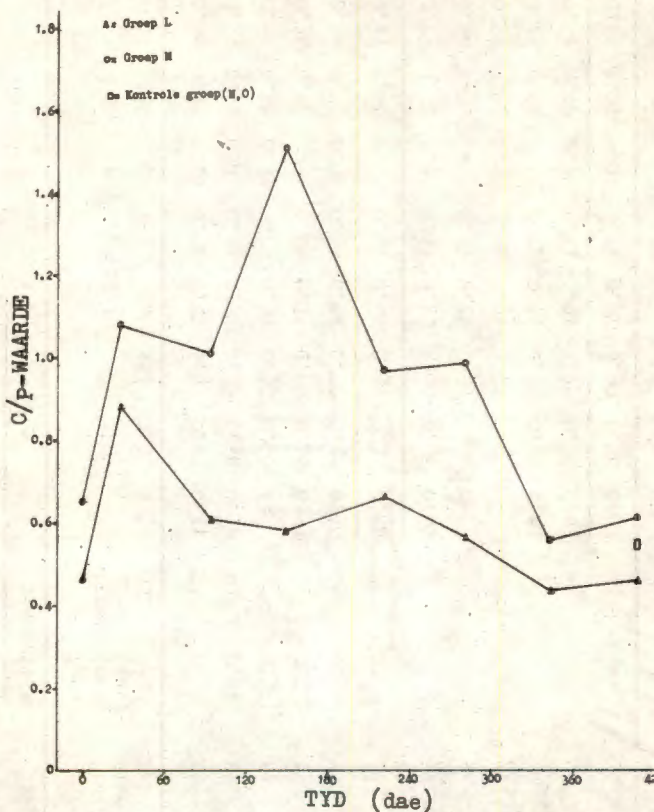


Fig. 5.3 Verandering in die gemiddelde C/P-waardes van konyne L en M van groep III.

Ten spyte van 'n aanvanklike styging in die C/P-waarde van groep L, daal dit dadelik daarna weer om 'n waarde van nie veel hoër as die beginwaarde te hê nie. Na ongeveer 350 dae bereik dit weer die begin-

waarde.

Alhoewel groep M ook weer sy beginwaarde na dieselfde tydperk bereik, verkeer dit in die tussentyd op 'n aterogeniese waarde van 1.0 en groter (Page & Bernhard, 1935).

Die dieet met die gedroogde suikermielies handhaaf dus deurentyd 'n veel laer cholesterol:fosfolipied-verhouding in die bloed teenoor die dieet met die gewone wit meliemeel as bestanddeel. Hierdeur verseker dit 'n groter stabiliteit van die opgeloste cholesterol in die bloed om sodoende die kanse vir aterosklerose te verlaag.

5.3.1.4 Magnesium

Vir al die bloedmonsters van die konyne van groepe II en III wat geneem is gedurende Fase A, is magnesiumbepalings gedoen. Die serum-waardes van hierdie bepalinge word aangegee in tabel 5.4.

Tabel 5.4 Veranderinge in die serummagnesium-waardes van groepe II en III tydens Fase A.

Magnesium-konsentrasie (mg%)																
Groepe II							Groepe III									
Proef-dier No.	Tydperk (dae)						Proef-dier No.	Tydperk (dae)								
	0	95	200	320*	481	712		950	0	28	96	153	224	283	345	435
X1	2.3	-	2.6				L1	2.2	3.7	3.3	4.1	3.2	2.8	2.6	2.0	
X2	2.4	2.6	2.1				L2	2.2	3.0	3.6	5.1	4.2	2.9	2.8	2.2	
X3	2.0	3.3	2.4	2.2	3.1		L3	2.3	2.8	4.1	4.8	4.7	3.4	3.0		
X4	1.6	3.6	4.4	3.5	3.8	3.2	L4	1.6	2.4	2.8	4.9	3.3	3.0	3.0	2.1	
X5	2.3	-	2.5	2.4	2.7	2.5	3.4	L5	2.5	2.8	3.9	4.4	3.3	2.6	2.9	2.2
X6	2.5	3.0	3.6	2.4	2.6			Gen.	2.2	2.9	3.5	4.6	3.7	2.9	2.8	2.1
X7	2.0	3.2	2.4	1.9	3.5			M1	2.5	3.0	2.6	4.4	3.6	2.7	2.4	2.3
X8	2.8	3.8	3.0	2.3	2.4	2.2		M2	2.5	-	3.9	5.2	3.3			
X9	1.0	3.2	3.2	1.9				M3	2.4	2.8	3.6	4.6	3.8	3.4		
X10	2.3	3.9	3.5					M4	2.5	3.3	3.0	4.5	3.6	2.7	2.8	2.0
X11	2.3	2.6	2.6	2.3	3.3			M5	2.3	3.0	2.6	4.5	3.0	2.9	3.0	1.8
X12	2.6	3.1	3.3	2.7	2.3	2.4	3.9	Gen.	2.4	3.0	3.1	4.6	3.4	2.9	2.7	2.0
X13	2.2	2.9	-	2.2	2.8	2.7	3.6									
Gen.	2.9	3.8	3.6	3.0	3.1	2.6	3.6									
Y1	2.4	2.9	4.3	2.7				Tot.								
Y2	2.7	2.4	5.0	2.0	3.1			Gen.	2.3	3.0	3.3	4.6	3.6	2.9	2.7	2.0
Y3	2.0	2.3	3.6	2.2	3.4											
Y4	2.1	2.5	4.9													
Y5	2.4	2.6	3.8	2.5	3.1	3.2	4.0									
Y6	2.6	2.7	4.1	2.3	2.7											
Y7	1.9	2.1	3.9	2.3	3.0											
Y8	2.2	2.7	3.9													
Y9	2.1															
Y10	2.0	2.8	4.2	-	3.6	2.8	3.1									
Y11	2.8	-	3.7													
Y12	2.2	2.7	3.8	2.4	3.0											
Y13	1.9	2.7	-	2.0	2.3	2.2	3.4									
Gen.	2.8	3.1	4.4	2.9	3.0	2.7	3.5									
Z1	3.5	2.7	4.0	2.1												
Z2	-	2.6	4.2	2.0	3.4	3.0	4.1									
Z3	1.7	-	4.2													
Z4	3.0	2.4	2.9													
Z5	3.4	2.5	4.2	2.2	3.4	2.6	2.7									
Z6	3.3	2.5	4.8	2.7	3.3	2.7	4.0									
Z7	5.2	3.6	4.4	2.5	3.8											
Z8	3.2	3.3	4.3	1.8	3.0											
Z9	3.1	3.8														
Z10	2.9	3.4	3.6	1.7												
Z11	1.9	2.7	4.0	2.1	3.2											
Z12	2.2	2.2	4.3	1.8	2.8											
Z13	3.2	3.0	4.6	-	3.4	2.8	3.2									
Gen.	3.6	3.6	4.6	2.7	3.2	2.7	3.5									
Tot.																
Gen.	3.1	3.5	4.2	2.8	3.1	2.7	3.5									

*Die waardes tot op hierdie datum is kolorimetries bepaal volgens die metode van Orange & Rhein (1950). * Waarde van 0.6 mg% is by hierdie gemiddelde waardes getel om te kan vergelyk met die atoomabsorpsiespektrofotometriese lesings hierna. (Die lesings van die atoomabsorpsiespektrofotometer is 0.6 mg% hoër as genoemde kolorimetriese bepaling).

Die verandering in die gemiddelde magnesium-waardes van groep II en van konyne L en M van groep III word in figure 5.4 en 5.5 respektiewelik aangegee.

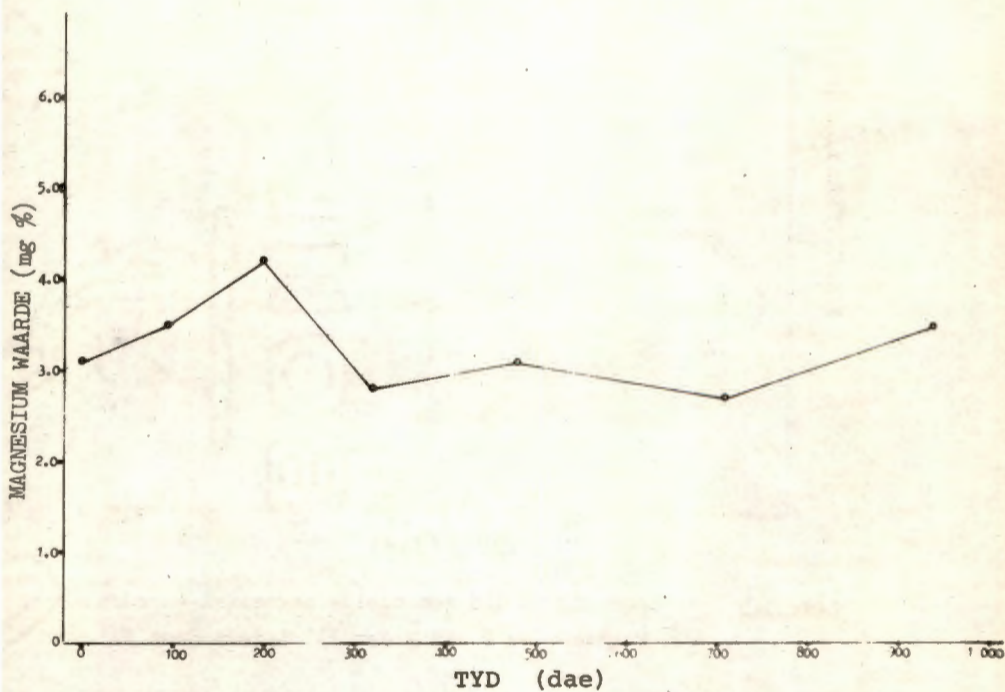


Fig. 5.4 Verandering in die gemiddelde magnesium-waardes van groep II tydens Fase A.

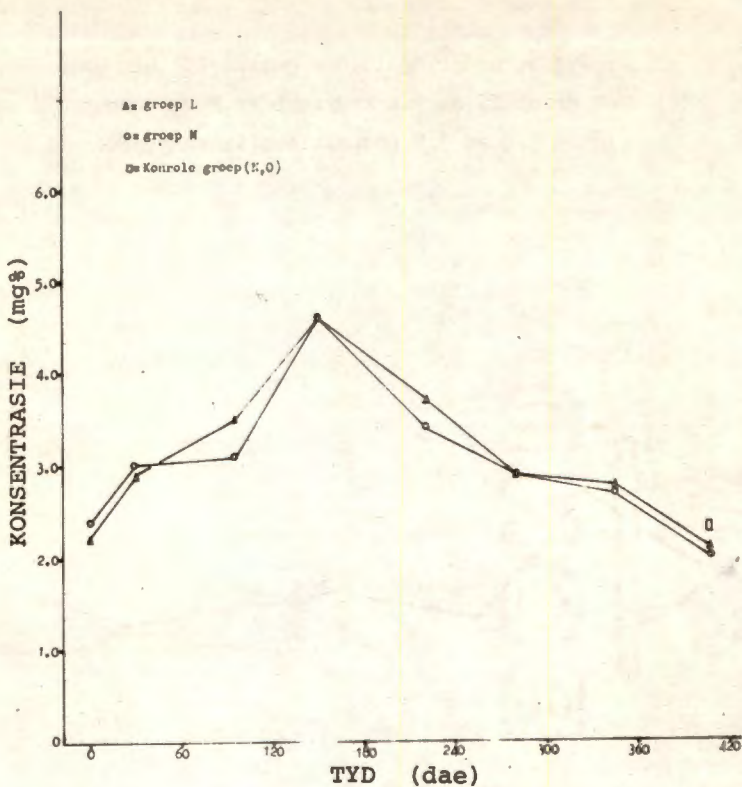


Fig. 5.5 Verandering in die gemiddelde magnesium-waardes van konyne L en M van groep III tydens Fase A.

By sowel groep II as III vind 'n styging in die magnesium-konsentrasie plaas nadat die proefdiere op die aetogene dieet geplaas is. Dit hou vol vir ongeveer 5 tot 6 maande waarna dit weer terugkeer tot die normale waarde. Uit Fig. 5.4 blyk dit dat die waarde hierna konstant gebly het vir minstens 'n jaar waarna 'n geringe styging plaasgevind het.

Anders as by die ander bloedserum parameters, stem die veranderinge in magnesium-waardes van konyne L en M presies ooreen.

5.3.2 Die Regeneratiewe fase (Fase B)

Aan die einde van Fase A is die helfte van die proefdiere van elke groep, op die regeneratiewe dieet geplaas. Hiermee het Fase B van die eksperiment 'n aanvang geneem waartydens periodiek bloedmonsters geneem is. Die waardes van die verskillende bloedserum parameters gedurende hierdie fase (sien tabel 3.2), word hieronder afsonderlik bespreek.

5.3.2.1 Cholesterol

Die serumcholesterol-waardes gedurende en aan die einde van Fase B word in tabel 5.5 aangegee.

Tabel 5.5 Serumcholesterol-waardes van die verskillende koryne van groepe I, II en III tydens Fase B.

Cholesterol-konsentrasie (mg%)																			
Groep III								Groepe II en I											
Proef-dier No.	Tydperk (dae)								Proef-dier No.	Tydperk (dae)									
	0	41		115		±150		0		31		63		164		±295			
Groep III B	A*	R**	A	R	A	R	A	R	Groep II	A	R	A	R	A	R	A	R		
N1	25		40		35		85		X5	73	37	37		22		40			
N3	25		18		28		55		X13	50	25	-		25		26			
N4	40		46		50		85		Y13	55	25	27		35		85			
O2	40		39		50		135		Z2	35	13	40		10		107			
O5	37		30		91		65		Z13	125	70	55		63		70			
O6	65		53		56		32		X12	50	70	113		37		-			
Gem.	38		36		51		76		Y5	60	57	75		55		80			
									Y10	145	100	118		83		104			
									Z5	40	27	20		43		42			
									Z6	123	93	96		120		-			
									Gem.	83	67	69	34	84	39	68	31	75	65
									Groep I										
									AB	85	80	95		65		115			
									B4	235	190	320		68		97			
									Gem.	85	235	80	190	95	320	65	68	115	97

* A = Aterogeen

** B = Regeneratief

Die veranderinge in die gemiddelde cholesterol-waardes van die aterogene en regeneratiewe konyne van elke groep tydens hierdie fase word in figure 5.6 en 5.8 grafies uiteengesit. Die relatiewe veranderinge in die cholesterol-waardes van die konyne op die regeneratiewe dieet teenoor kontrole konyne word in figure 5.7 en 5.9 aangedui. Vir die regeneratiewe konyne van groep IIIA het die konyne van groep IIIB as kontrole gedien. Vir groepe I en II egter het die ooreenstemmende konyne op die aterogene dieet as kontroles gedien.

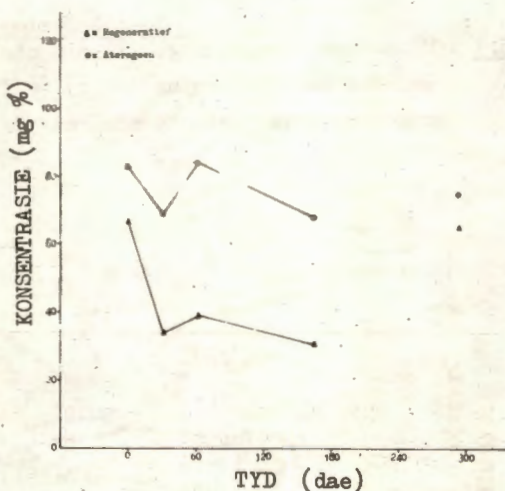


Fig. 5.6 Veranderinge in die cholesterol-waardes van die konyne van groep II tydens Fase B.

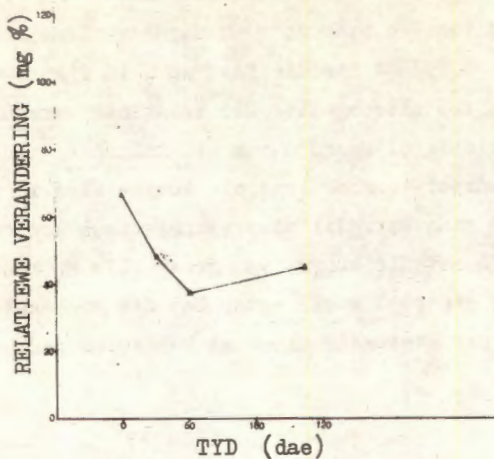


Fig. 5.7 Relatiewe veranderinge in die cholesterol-waardes van die konyne van groep II op die regeneratiewe dieet tydens Fase B.

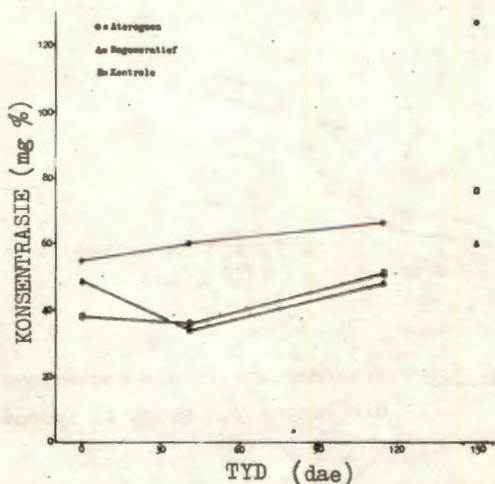


Fig. 5.8 Veranderinge in die cholesterol-waardes van die konyne van groep III tydens Fase B.

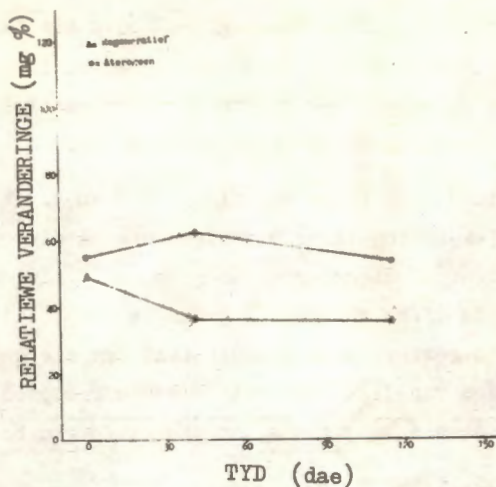


Fig. 5.9 Relatiewe veranderinge in die cholesterol-waardes van die konyne van groep III op die regeneratiewe en aterogene diëte.

In figuur 5.6 kan die dalende effek van die oorsakeling in die diëet op die serumcholesterol-waardes van die regeneratiewe konyne van groep II gesien word. Indien na die kontrole-waardes (aterogene-konyne) gekyk word, sal gemerk word dat ten spyte van die feit dat hierdie konyne reeds vir 950 dae op die aterogene diëet gestabiliseer is, daar nogtans skommeling in die cholesterol-waardes voorkom. Indien hierdie skommeling, wat hoofsaaklik aan nie-dieetsfaktore toegeskryf kan word, geëlimineer word by die regeneratiewe-konyne, word slegs die effek van die diëet verkry. Die grafiek in figuur 5.7 is verkry deur die grafiek van die kontrole konyne (aterogene-konyne in hierdie geval) van dié van die regeneratiewe-konyne af te trek. Dit stel dus die effek van die diëet voor.

Uit die grafiek van Fig. 5.7 blyk dit dat 'n oorsakeling vanaf die aterogene na die regeneratiewe dieet 'n sterk dalende effek op die serumcholesterol-konsentrasie van groep II tot gevolg gehad het.

Uit die grafieke van figure 5.8 en 5.9 blyk dit dat 'n oorsakeling vanaf die aterogene na die regeneratiewe dieet by die konyne van groep III, nie so 'n sterk dalende effek tot gevolg gehad het nie. Dit kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat die cholesterolwaardes van die konyne van hierdie groep baie na aan die normale waarde was aan die einde van Fase A.

5.3.2.2 Fosfolipiede

Net soos in die geval van cholesterol is ook die fosfolipiedes van die bloedmonsters wat van tyd tot tyd geneem is tydens Fase B, bepaal. Die waardes word aangegee in tabel 5.6.

Tabel 5.6 Serumfosfolipied-waardes van die verskillende konyne van groepe I, II en III tydens Fase B.

Fosfolipied-konsentrasie (mg%)																			
Groep III									Groepe II en I										
Proef-dier No.	Tydperk (dae)								Proef-dier No.	Tydperk (dae)									
	0	41		115		±150		0		31		63		164		±295			
Groep III B	A	R	A	R	A	R	A	R	Groep II	A	R	A	R	A	R	A	R		
N1		64	78		84		136		X5	130	48	88		52		76			
N3		54	54		68		94		X13	104	44	-		41		76			
N4		70	78		84		89		Y13	95	18	57		56		106			
O2		62	86		101		170		Z2	22	12	48		38		120			
O5		69	90		119		97		Z13	198	88	97		80		127			
O6		88	107		112		-		X12	98	70	146		64		-			
Gem.		68	82		94		117		Y5	123	80	122		98		126			
									Y10	198	124	191		140		172			
Groep III A									Z5	86	36	78		62		84			
L2	84	100		99		142			Z6	186	104	136		126		-			
L4	108	128		132		254		Gem.	136	109	82	42	134	72	98	53	127	101	
M5	102	98		126		178													
N1		80	42		78		98		Groep I										
M4		81	72		112		99		A8	124	66	127		81		133			
L5		114	84		70		123		B4	242	130	360		98		133			
Gem.	98	91	108	66	119	86	191	106	Gem.	124	242	66	130	127	360	81	98	133	133

Die veranderinge in die gemiddelde fosfolipied-waardes van die konyne op die aterogene en regeneratiewe diëte van elke groep tydens Fase B word in figure 5.10 en 5.12 grafies uitgesit. Die relatiewe veranderinge in die fosfolipied-waardes van die konyne op die regeneratiewe dieet teenoor kontrole-konyne word in figure 5.11 en 5.13 aangedui. Vir die regeneratiewe-konyne van groep IIIA het die konyne van groep IIIB as kontroles gedien, terwyl vir groepe I en II die konyne op die aterogene dieet as kontroles gedien het.

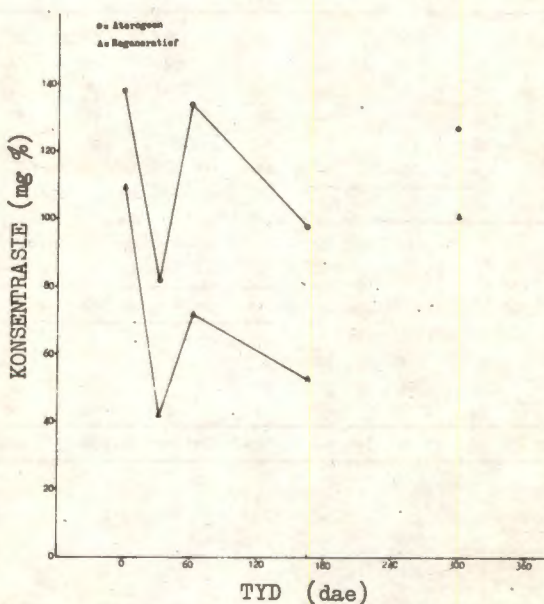


Fig. 5.10 Veranderinge in die fosfolipied-konsentrasie van die konyne van groep II tydens Fase B.

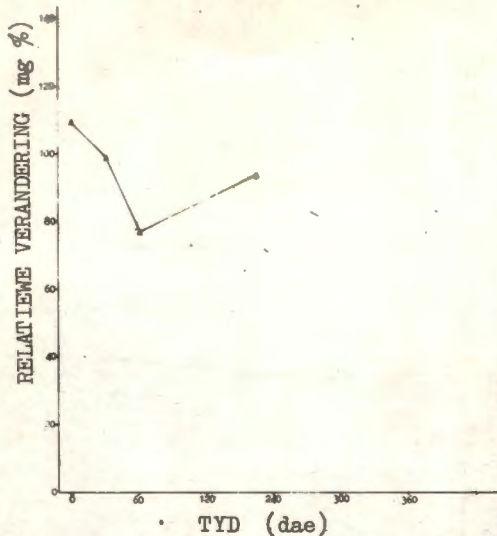


Fig. 5.11 Relatiewe veranderinge in die fosfolipied-waardes van die konyne van groep II op die regeneratiewe dieet, tydens Fase B.

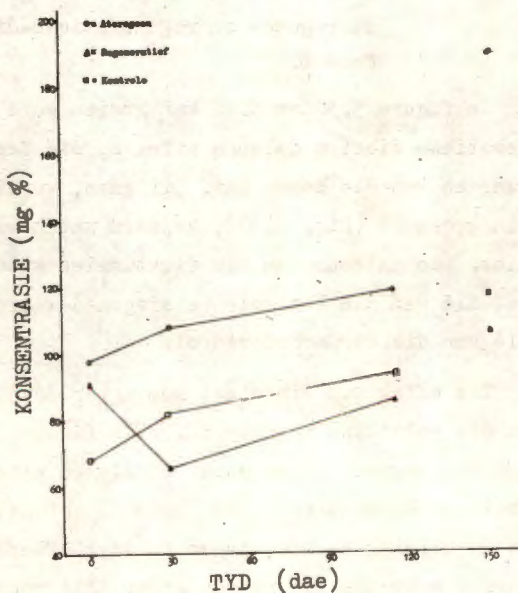


Fig. 5.12 Veranderinge in die fosfolipied-waardes van die konyne van groep III tydens Fase B.

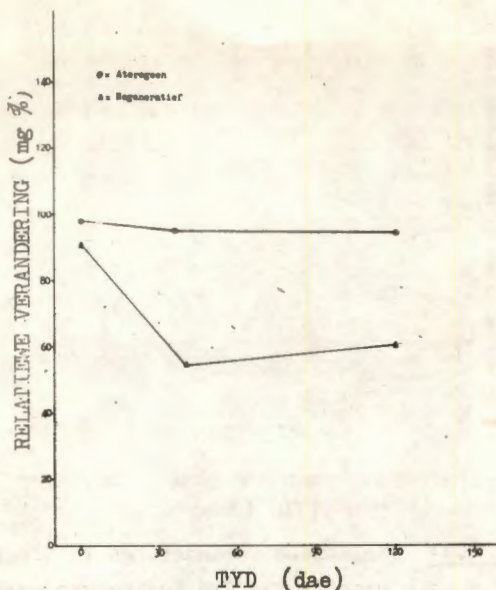


Fig. 5.13 Relatiewe veranderinge in die fosfolipied-waardes van die konyne van groep III op die aterogene- en regeneratiewe-diëte, tydens Fase B.

In figure 5.10 en 5.12 kan gesien word dat die regeneratiewe dieet 'n dalende effek op die fosfolipied-waardes van die serum het. Dit gaan, veral in die geval van groep II (Fig. 5.10), gepaard met hewige fluktuasies. Die patroon van die fluktuasies stem egter ooreen met dié van die kontrole (aterogene)-waardes en ook met dié van die serumcholesterol.

Die effek van die dieet kom egter duidelik na vore in die relatiewe veranderinge. In figuur 5.11 blyk dit dat die regeneratiewe dieet 'n dalende effek op die fosfolipied-konsentrasie van groep II tot gevolg gehad het met 'n neiging om weer later te styg. Dieselfde effek word ook by die konyne van groep IIIA gesien (Fig. 5.13)

5.3.2.3 Cholesterol:fosfolipied-verhouding (C/P)

Die berekende C/P-waardes vir die ooreenstemmende tye as die cholesterol- en fosfolipied-bepalings tydens Fase B word in tabel 5.7 getabuleer.

Die veranderinge in die gemiddelde C/P-waardes van die konyne op die aterogene en regeneratiewe diëte van elke groep tydens Fase B word grafies in figure 5.14 en 5.16 voorgestel.

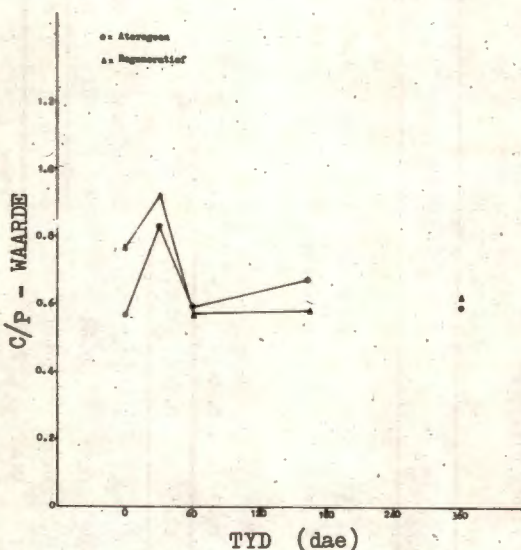


Fig. 5.14 Veranderinge in die C/P-waardes van die konyne van groep II tydens Fase B.

Tabel 5.7 C/P-waardes van die verskillende konyne van groepe I, II en III tydens Fase B.

Cholesterol:fosfolipied verhouding																					
Groep III										Groepe II en I											
Proef-dier No.		Tydperk (dae)								Proef-dier No.		Tydperk (dae)								-	
		0	41		115		±150				0	31		63		164		±295			
Groep III	A	R	A	R	A	R	A	R	Groep II	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R		
N1	0.39		0.51		0.41		0.62		X5	0.56		0.77		0.42		0.42		0.52			
N3	0.46		0.33		0.41		0.58		X13	0.48		0.57		0.61		0.34					
N4	0.57		0.59		0.59		0.96		Y13	0.58		1.39		0.47		0.62		0.80			
O2	0.54		0.45		0.49		0.79		Z2	1.60		1.08		0.83		0.26		0.89			
O5	0.53		0.33		0.76		0.67		Z13	0.63		0.79		0.56		0.78		0.55			
O6	0.74		0.49		0.50		-		X12	0.51		1.00		0.77		0.58		-			
Gem.	0.54		0.45		0.52		0.72		Y5	0.49		0.71		0.61		0.56		0.63			
Groep IIIA									Y10	0.73		0.81		0.62		0.59		0.60			
L2	0.52		0.60		0.51		0.68		Z5	0.46		0.75		0.25		0.69		0.50			
L4	0.53		0.49		0.68		0.71		Z6	0.66		0.89		0.70		0.95					
M5	0.63		0.59		0.45		0.58		Gem.	0.57	0.77	0.83	0.92	0.59	0.57	0.67	0.58	0.58	0.62		
M1	0.60		0.54		0.38		0.63		Groep I												
M4	0.60		0.62		0.75		0.46		A8	0.68		1.21		0.75		0.80		0.86			
L5	0.36		0.41		0.40		0.60		B4		0.97		1.46		0.89		0.69		0.73		
Gem.	0.56	0.52	0.56	0.52	0.55	0.51	0.65	0.56	Gem.	0.68	0.97	1.21	1.46	0.75	0.89	0.80	0.69	0.86	0.73		

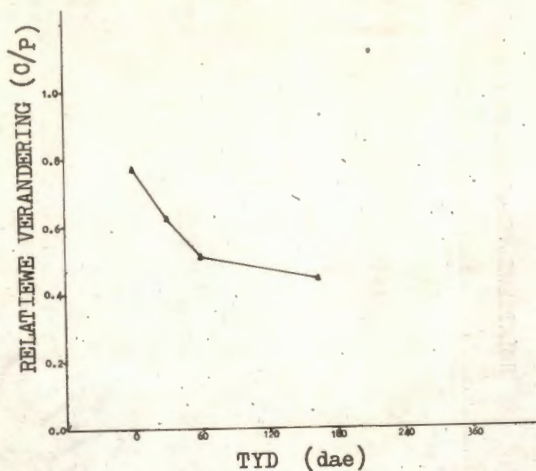


Fig. 5.15 Relatiewe veranderinge in die C/P-waardes van die konyne van groep II op die regeneratiewe dieet.

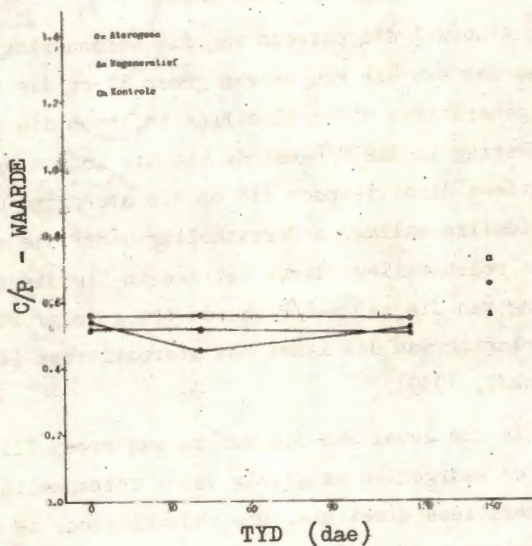


Fig. 5.16 Veranderinge in die C/P-waardes van die konyne van groep III tydens Fase B.

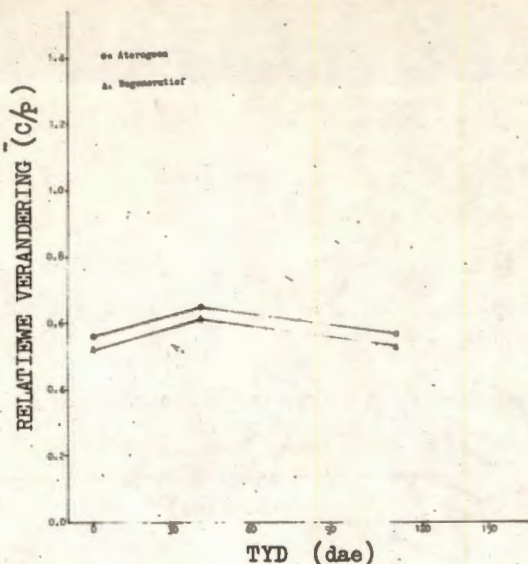


Fig. 5.17 Relatiewe veranderinge in die C/P-waardes van die konyne van groep III op die aterogene en regeneratiewe diëte.

Alhoewel die patroon van die veranderinge in die C/P waardes van die konyne van groep II op die aterogene en regeneratiewe diëte dieselfde is, toon die relatiewe verandering in die C/P-waarde van die konyne op die regeneratiewe diët teenoor dié op die aterogene diët, 'n baie duidelike daling. 'n Oorskakeling vanaf die aterogene na die regeneratiewe diët het dus in hierdie geval 'n daling van die serum-C/P-waarde tot gevolg. Dit beteken 'n verlaging van die kans tot aterosklerose (Ahrens & Kunkel, 1949).

In die geval van die konyne van groep III, word geen effek waargeneem as gevolg van 'n oorskakeling na die regeneratiewe diët nie. Die rede hiervoor is moontlik as gevolg van die feit dat die C/P-waardes van groep III aan die einde van Fase A, alreeds weer 'n normale waarde

bereik het. Die aterogene fase van die eksperiment was dus nie lank genoeg om n aterogene toestand ten opsigte van die C/P-waarde te induseer en te handhaaf nie.

5.3.2.4 Magnesium

Die magnesium-waardes van die bloedmonsters wat geneem is tydens Fase B van die eksperiment, word in tabel 5.8 saamgevat.

Die veranderinge in die gemiddelde magnesium-waardes van die konyne op die aterogene en regeneratiewe diëte van elke groep tydens Fase B, word grafies in figure 5.18 en 5.20 voorgestel.

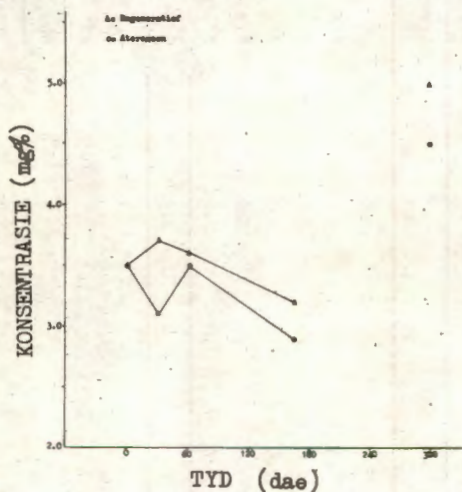


Fig. 5.18 Veranderinge in die magnesium-waardes van die konyne van groep II tydens Fase B.

Tabel 5.8 Serum magnesium-waardes van die verskillende Konyne van groepe I, II en III tydens Fase B.

Magnesium-konsentrasie (mg%)																			
Groepe III										Groepe II en I									
Proef-dier No.		Tydperk (dae)								Proef-dier No.		Tydperk (dae)							
0		41		115		+150				0		31		63		164		+295	
Groep IIIIB	A	R	A	R	A	R	A	R	Groep II	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R
N1		2.2		2.6		2.6		5.6	X5		3.4		3.3		3.5		3.5		5.0
N3		2.4		3.0		3.2		5.4	X13		3.6		4.2		-		3.1		4.5
N4		2.5		3.0		2.2		3.2	Y13		3.4		3.8		3.3		2.9		5.6
O2		2.8		2.8		3.4		6.4	Z2		4.1		3.8		3.7		3.4		4.0
O5		1.9		2.5		3.2		3.8	Z13		3.2		3.7		4.0		3.1		6.2
O6		2.4		3.0		2.9		-	X12	3.9		3.1		3.5		3.0		-	
Gem.		2.3		2.8		2.9		4.9	Y5	4.0		3.9		5.0		3.2		5.4	
Groep IIIIA									Y10	3.1		2.8		3.0		2.7		3.6	
L2	2.2		2.9		3.3		6.5		Z5	2.7		2.8		3.0		2.6		-	
L4	2.1		2.4		2.8		8.0		Z6	4.0		3.0		3.1		3.1		-	
M5	1.8		2.8		3.1		7.6		Gem.	3.5	3.5	3.1	3.7	3.5	3.6	2.9	3.2	4.5	5.0
M1		2.3		2.7		2.8		5.6	Groep I										
M4		2.0		3.2		3.0		6.4	A8	3.4		2.7		3.0		2.9		5.6	
L5		2.2		2.3		2.7		6.2	B4		2.9		2.8		2.6		2.8		6.0
Gem.	2.0	2.2	2.7	2.7	3.0	2.8	7.3	6.0	Gem.	3.4	2.9	2.7	2.8	3.0	2.6	2.9	2.8	5.6	6.0

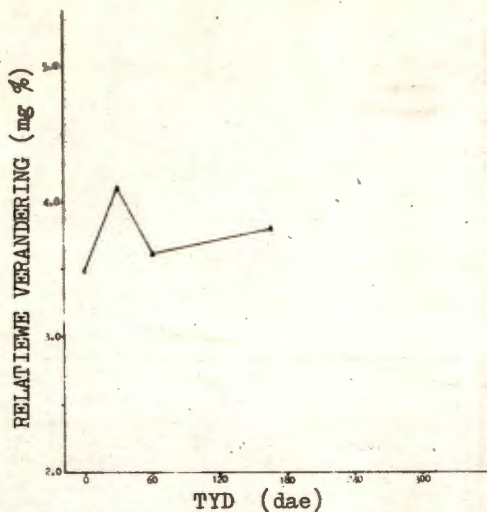


Fig. 5.19 Relatiewe verandering in die magnesium-waardes van die konyne van groep II op die aterogene en regeneratiewe diëte.

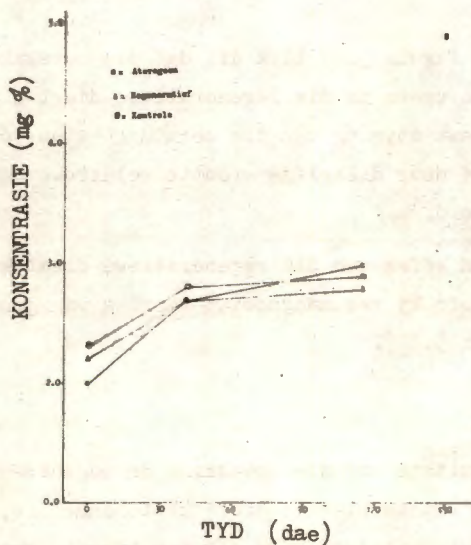


Fig. 5.20 Veranderinge in die magnesium-waardes* van die konyne van groep III tydens Fase B.

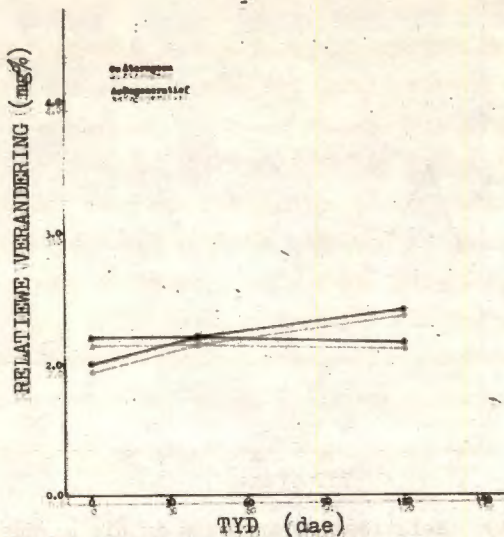


Fig. 5.21 Relatiewe verandering in die magnesium-waardes van die konyne van groep III op die aterogene en regeneratiewe diëte.

Uit figuur 5.19 blyk dit dat die oorskakeling vanaf die aterogene na die regeneratiewe diëte 'n aanvanklike relatiewe styging van die serummagnesium tot gevolg het wat deur dieselfde grootte relatiewe daling opgevolg word.

Geen effek van die regeneratiewe diëte kon waargeneem word by serummagnesium-waardes van groep III nie (figuur 5.21).

5.4 Bespreking

Die resultate oor die opwekking en regenerasie van aterosklerose wat in hierdie hoofstuk behandel is, is op drie groepe konyne uitgevoer. By elk van hierdie groepe afsonderlik asook by die groepe in die algemeen is sekere probleme

ondervind wat beperkings lê op die uiteindelijke interpretasie van die resultate. Die eksperimente met groep I het byvoorbeeld oor 'n periode van 1 193 dae gestrek, waarna slegs twee konyne van die oorspronklike aantal oorgebly het en die resultate van hierdie groep nie meer statisties aanvaarbaar gemaak het nie. Die tydsduur van die eksperiment was in hierdie geval egter ideaal (vergelyk tabel 5.9) in vergelyking met die tydsduur van groep III, waar 60% van die proefdiere die eksperiment oorleef het maar nie 'n permanente aterogene toestand geïnduseer kon word nie.

Die fluktuasies in die verskillende serum-waardes gedurende die eksperiment, het vanweë onbekende oorsake soms die effek van die dieet oorheers. Vanweë 'n weglating van kontrole konyne in die oorspronklike beplanning van groep II (vergelyk hoofstuk 3) is die konyne op die aterogene dieet tydens Fase B van die eksperiment as kontroles gebruik. Die fluktuasies kon dus op hierdie manier elimineer word (sien 5.3.2.1).

Die bloedmonsters wat geneem is met die doodmaak van die konyne aan die einde van Fase B het onverwagte abnormaal hoë waardes van die verskillende serum-parameters getoon, veral in die geval van groep III. Die oorsaak hiervan kan moontlik die gevolg wees van die tegniek wat gebruik is om die proefdiere dood te maak. Vanweë die onsekerheid hieraan verbonde is die waardes wel aangedui op die grafieke, maar nie as deel van die grafiese voorstelling van die resultate gebruik nie.

5.4.1 Die aterogene fase (Fase A)

Indien die cholesterol-konsentrasie en die C/P-waardes as maatstaf geneem word, kan aangeneem word dat 'n aterogene toestand aan die einde van Fase A by die konyne van

groepe I en II geïnduseer was. By die konyne van groep III is 'n aterogene toestand gemeet aan bogenoemde parameters, aanvanklik ook geïnduseer. Die aterogene waardes het egter, vanweë 'n onbekende oorsaak, binne 12 maande weer teruggekeer na die normale waardes.

As na die waardes van die onderskeie groepe aan die einde van Fase A gekyk word, blyk dit dat die tydsduur wat die konyne op die aterogene dieet geplaas is, 'n belangrike faktor was vir die verkryging van 'n permanente aterogeniese toestand (tabel 5.9).

Tabel 5.9 Die effek van die tydsduur waartydens die proefdiere op die aterogene dieet geplaas is, op die aterogene toestand van die proefdiere.

	Groep IIIA	Groep II	Groep I
Tydsduur (dae)*	435	950	1 193
Cholesterol-waarde (mg%)*	51	76	160
C/P-waarde	0.53	0.67	0.82

*In 'n afsonderlike eksperiment is die serumcholesterol-waardes van vier konyne met cholesterol byvoeging (770 g van 'n kommersiële dieet + 200 g vet + 30 g cholesterol per 1000 g van die mengsel) in 'n tydperk van twee weke verhoog tot 880, 800 en 910 mg% onderskeidelik.

Die hydraende effek van ouderdom ten opsigte van die aterogene toestand moet egter in gedagte gehou word.

5.4.2 Regeneratiewe fase (Fase B)

Gemeet aan die relatiewe veranderinge van die cholesterol- en C/P-waardes, het 'n oorskakeling vanaf die aterogene

na die regeneratiewe dieet hoogswaarskynlik regenerasie van die geïnduseerde aterogene toestand by Groep II tot gevolg gehad. Hierdie regenerasie word ook waargeneem by konyne B4 van groep I waarvan die cholesterol- en C/P-waardes aan die einde van Fase A 235 mg% en 0.97 respektiewelik was, en gedaal het na 97 mg% en 0.73 aan die einde van Fase B.

Die verandering in die dieet het in die geval van groep III geen betekenisvolle veranderinge tot gevolg gehad nie. Dit kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat die aterogene toestand van die proefdiere aan die einde van Fase A, soos gemeet aan die cholesterol- en C/P-waardes, reeds weer normaal was.

5.4.3 Die verband tussen die verskillende serum-parameters onderling asook ten opsigte van die dieet.

- 5.4.3.1 Die verskillende serum-parameters ten opsigte van die effek van die regeneratiewe of aterogene dieet is die beste vergelykbaar in Fase A by groep III (figure 5.23 en 5.24) en in Fase B by groep II (figuur 5.22).

In figuur 5.22 word die veranderinge van die verskillende serum-parameters grafies uiteengesit vir die konyne van groep II op die aterogene dieet, (kontroles) en dié op die regeneratiewe dieet, terwyl die veranderinge in serum-parameters vir konyne L en M tydens Fase A in figure 5.23 en 5.24 respektiewelik, grafies voorgestel word.

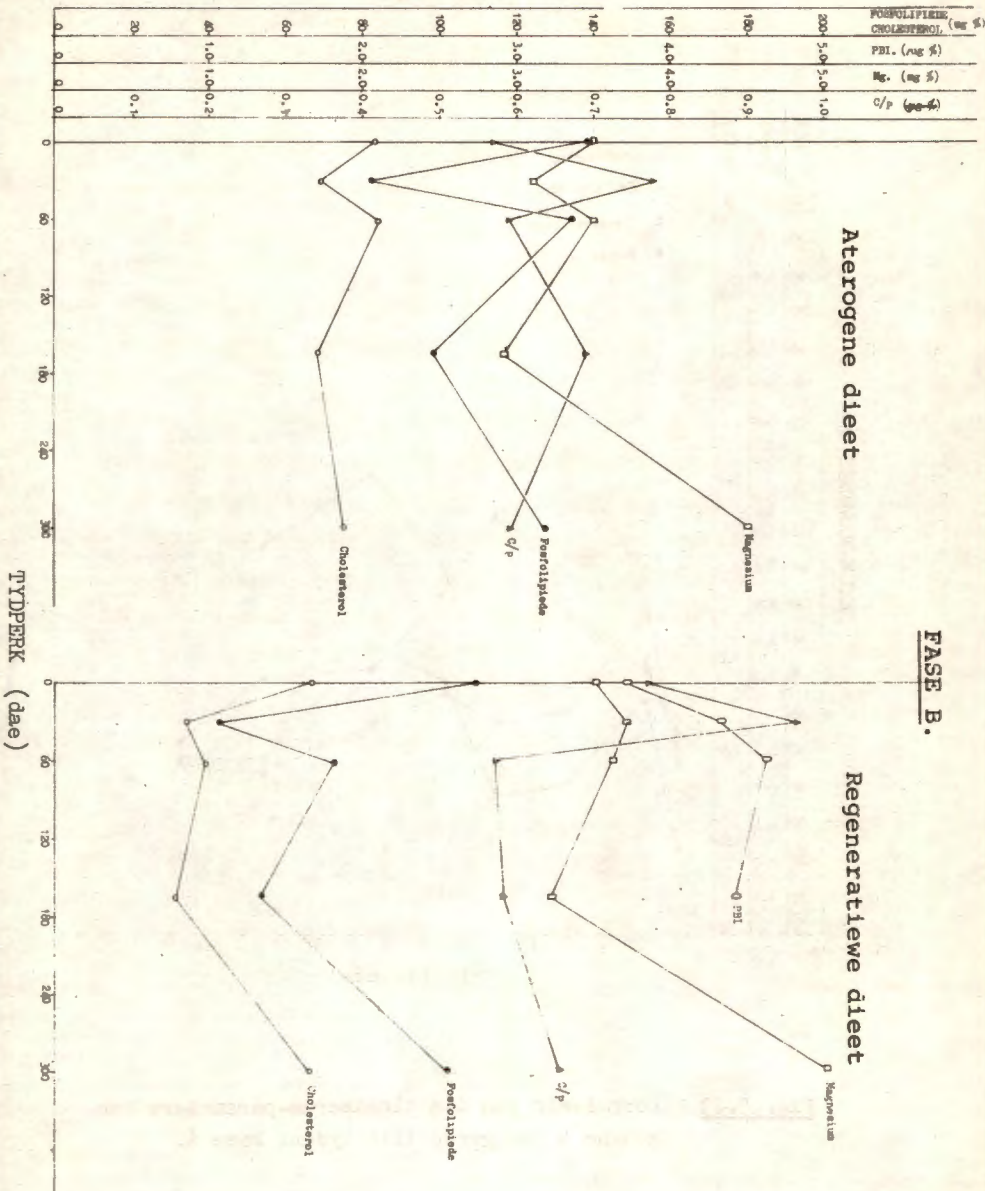
Vir al die gevalle word 'n positiewe korrelasie tussen die cholesterol- en fosfolipied-waardes van die serum gevind. 'n Styging van die cholesterol-waardes gaan

deurgaans gepaard met 'n styging van die fosfolipied-waardes en omgekeerd. Hierdie verband is in ooreenstemming met die literatuur (Varley, 1963).

'n Positiewe korrelasie word ook gevind tussen die cholesterol- en magnesium-waardes vir die konyne van groep II op die aterogene dieet. Die magnesium-waardes korreleer ook positief met die fosfolipied-waardes en negatief met die C/P-waardes (figuur 5.22). Hierdie korrelasie van magnesium met cholesterol is in teenstelling met die negatiewe korrelasie wat deur Rademeyer (1963) gevind is in 'n eksperiment waarby die invloed van botter en van beesvet op die serumcholesterol- en magnesium-konsentrasies van rotte op 'n hoë magnesium dieet nagegaan is. Geen korrelasie tussen hierdie parameters kon verkry word by die konyne op die regeneratiewe dieet van groep II (figuur 5.22), en by konyne L en M van groep III op die aterogene dieet tydens Fase A nie (figure 5.23 en 5.24).

Die verband tussen die serum-parameters en die dieet sal oorsigtelik saamgevat word in hoofstuk 7.

KONSENTRASIE



FASE B.

Aterogene dieet

Regeneratiewe dieet

TYDPERK (dae)

Fig. 5.22 Korrelasie van die bloedserum-parameters van die konyne van groep II op (i) die aterogene dieet (ii) die regeneratiewe dieet, tydens Fase B.

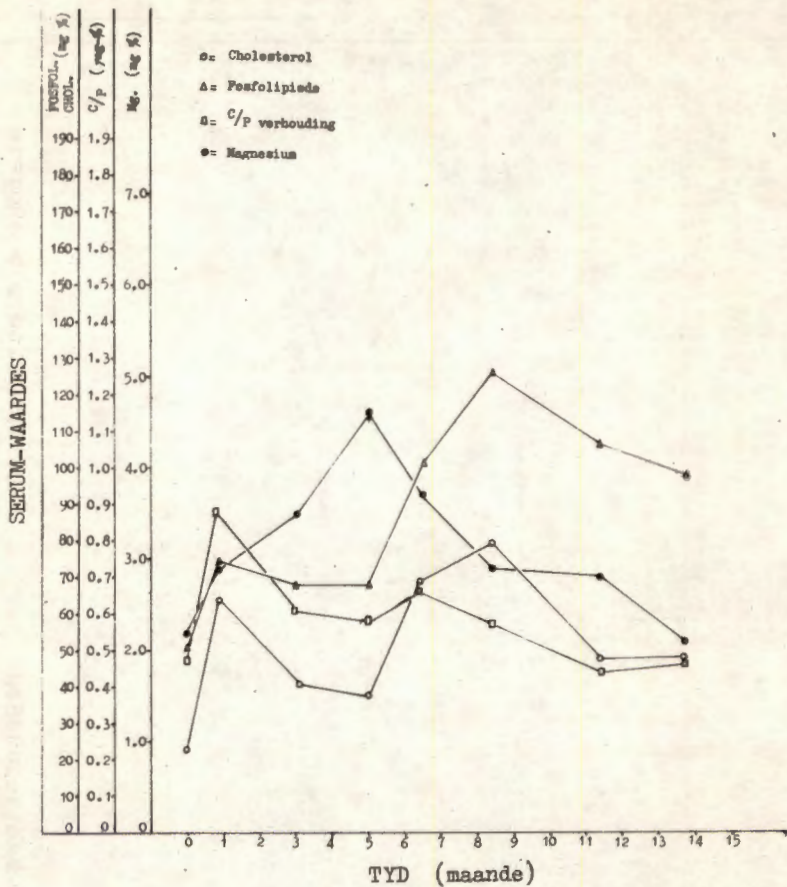


Fig. 5.23 Korrelasie van die bloedserum-parameters van konyne L van groep IIIA tydens Fase A.

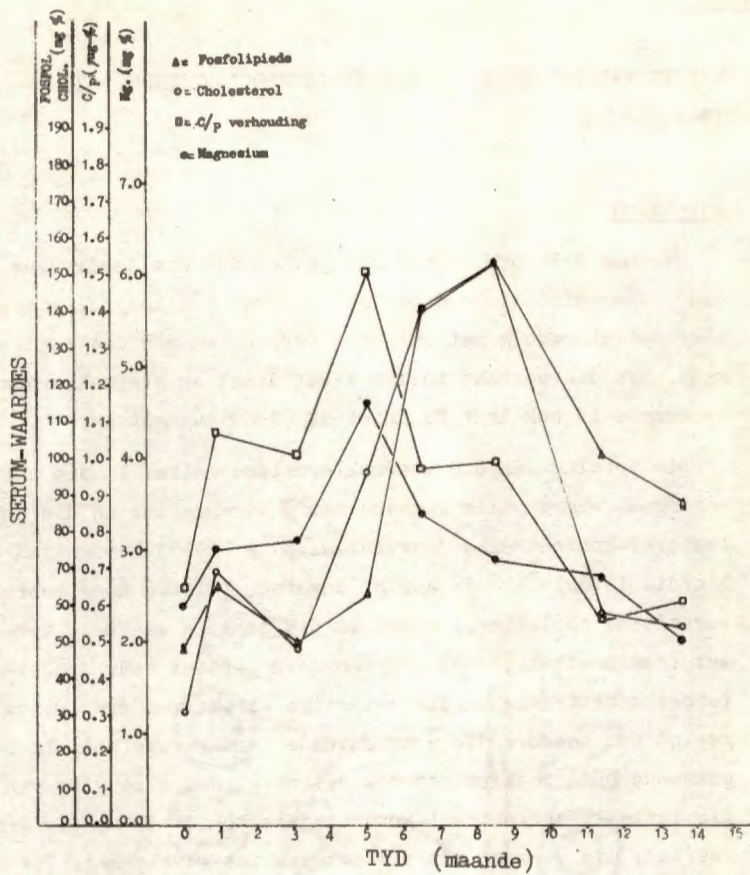


Fig. 5.24 Korrelasie van die bloedserum-parameters van konyne M van groep IIIA tydens Fase A.

HOOFSTUK 6

DIE INVLOED VAN DIE DIEET OP DIE CHOLESTEROL-KONSENTRASIE VAN DIE AORTA-WAND

6.1 Inleiding

Gresham & Howard (1962) het gevind dat die toediening van 'n semi-sintetiese dieet met beesvet aan konyne, aterosklerose tot gevolg het wat baie ooreenstem met dié in die mens. Hierdie verband tussen 'n vet dieet en aterosklerose by konyne is ook deur Funch et al (1960) aangetoon.

Die vorming van die aterosklerotiese letsels in die aorta-wand gaan waarskynlik gepaard met 'n verandering in die cholesterol-konsentrasie daarvan. Windaus (1910) het gevind dat hierdie letsels in die aorta, ongeveer twintig keer meer veresterde cholesterol bevat as die normale weefsel, terwyl Insull et al (1966) 'n vyfhonderd persent hoër cholesterol-konsentrasie in die vetagtige streke van die intima gevind het teenoor die aangrensende normale weefsel. Laasgenoemde ondersoekers het ook vasgestel dat 'n styging van die intimale cholesterol-konsentrasie bokant 10 mg per gram weefsel, die vorming van 'n vetstreek tot gevolg het. Dit blyk dus dat cholesterol, direk of indirek, betrokke is by die vorming van aterosklerose en dat die cholesterol-konsentrasie van die aorta-wand as 'n maatstaf vir aterosklerose geneem kan word.

In hierdie eksperiment is die cholesterol-konsentrasie* van die aorta-wand, uitgesonderd die adventitia gedeelte,

*Die meting van die cholesterol-konsentrasie vervang die histochemiese karakterisering van die letsels wat deur die N.V.N.I. van die W.N.N.R. gedoen sou gewees het. Vanweë die vorming van letsels as gevolg van faktore anders as die dieet is die histochemiese analyses nie gedoen nie.

nagegaan. Die bepaling is gedoen vir al die konyne wat doodgemaak is aan die einde van Fase B om die effek van die atrogene en regeneratiewe diëte ten opsigte van die opwekking en regenerasie van die aterosklerotiese letsel na te gaan. Hierdie bepaling is slegs uitgevoer op die aorta-boog aangesien Prior et al (1961) gevind het dat die ontwikkeling van aterosklerose by konyne hoofsaaklik in die aorta-boog plaasvind tydens die toediening van 'n cholesterol-vet-dieet.

6.2 Metode

6.2.1 Isolering en bepaling van die aortacholesterol

Die aorta wat in fisiologiese soutoplossing by -15°C bewaar is (Insull & Bartsch, 1966), is voor die cholesterol-bepaling herhaaldelik gevries en ontvries en daarna vir ongeveer 6 uur in een persent kalsiumasetaat in 10 persent formaldehyd gefikseer (Davis et al, 1963) om die skeiding van die adventitia met die res van die wand te vergemaklik. Na skeiding van die intima en media gedeelte met die adventitia onder 'n stereomikroskoop (10x) is eersgenoemde op 'n filtreerpapier geklad en direk in 5 ml voorafgeweegde 0.9% natriumchloried geplaas om geweeg te word.

Die monster in die soutoplossing is saam met 15 ml chloroform:metanol (2:1) gehomogeniseer. Die homogenaat is met 100 ml chloroform:metanol (2:1) opgeskud en gefiltreer waarna 3 ml iso-oktaan:butanol (1:1) plus 20 ml etielalkohol by die filtraat gevoeg is om op 'n roterende verdampers droog gedamp te word (Insull & Bartsch, 1966).

Die residu is gehidroliseer, geëkstraheer en kolorimetries bepaal volgens die metode van Abell et al, 1951.

6.2.2 Standaardisering van die metode

Die herwinningsvermoë sowel as die dupliseerbaarheid van die metode ten opsigte van die cholesterol in die aorta-homogenaat is bepaal.

6.2.2.1 Herwinningsvermoë

Die aorta-homogenate van twee konyne is elk in twee verdeel. By die een helfte van elke homogenaat is 0.2 mg cholesterol gevoeg. Die cholesterol-konsentrasie van die suiwer sowel as die cholesterol-toegevoegde homogenaat van elke konyn is bepaal (sien 6.2.1) en die persentasie herwinning vir elke geval bereken in vergelyking met 'n 0.2 mg cholesterol standaard.

Die resultate word aangegee in tabel 6.1.

Tabel 6.1 Persentasie herwinning van die toegevoegde cholesterol.

Konyn no.	O.D. by 620 m μ *		Persenta- sie her- winning
	Homogenaat	Homogenaat +0.2 mg cho- lesterol	
1	0.052	0.130	103%
2	0.066	0.146	105%

*Lesing van die 0.2 mg standaard = 0.076

Uit bogenoemde resultate blyk dat 'n herwinning van nagenoeg 100% verkry word ten opsigte van die toegevoegde cholesterol.

6.2.2.2 Dupliseerbaarheid

Die aorta-homogenate van vier konyne is elk in twee verdeel. Op elkeen van hierdie verdeelde homogenate is 'n cholesterol-bepaling gedoen (sien 6.2.1). 'n Vergelyking van die waardes van die verdeelde homogenate van elke konyne kan in tabel 6.2 gesien word.

Tabel 6.2 Duplikaat cholesterol-waardes van konyne aorta-homogenate.

Konyne no.	Duplikaat-waardes; mg cholesterol per gram weefsel	Persentasie verskil op die gemiddelde waarde
1	1.59, 1.59	0%
2	2.12, 2.10	1%
3	2.22, 2.22	0%
4	1.76, 1.74	1%

Uit die resultate blyk dat die metode 'n dupliseerbaarheid van nagenoeg 100% besit.

6.3 Resultate

Die aorta-monsters van die konyne wat doodgemaak is (3.4.2) aan die einde van Fase B is geanaliseer soos beskrywe in 6.2.1. Die cholesterol-waardes vir die aorta-wand van die verskillende konyne word aangegee in tabel 6.3.

Tabel 6.3 Cholesterol-konsentrasie van die aorta-wand (intima + media) vir die verskillende konyne aan die einde van Fase B.

Groep I		Groep II		Groep IIIA		Groep IIIB					
Proef- dier No.	Cholesterol- waarde mg/g weefsel		Proef- dier No.	Cholesterol- waarde mg/g weefsel		Proef- dier No.	Cholesterol- waarde mg/g weefsel				
	AT	REG		AT	REG		AT	REG	AT	REG	
AB	4.7		X5		3.5	L1**	2.9		N1		2.9
B4		24.0	X12	2.7		L2	3.1		N3		3.0
			X13		3.5	L3**	3.1		N4		2.7
			Y5	6.2		L4	3.8		O2		5.4
			Y10	3.3		L5		2.6	O5		2.4
			Y13		3.1	M1		2.3	O6		4.3
			Z2		2.8	M2**	2.4				
			Z5	2.6		M3**	2.5				
			Z6*	2.6		M4		2.2			
			Z13		2.8	M5	1.8				
Gem.	4.7	24.0	Gem.	3.5	3.1	Gem.	2.9	2.3	Gem.	-	3.4

*Konyne Z6 is 166 dae na die aanvang van Fase B dood.

**Konyne L1, L3, M2 en M3 is 413, 345, 224 en 287 dae respektiewelik na die aanvang van Fase A van die eksperiment dood. Die waardes van hierdie konyne is nie in berekening gebring vir die gemiddelde waarde nie.

6.4. Bespreking

Daar bestaan 'n geringe verskil tussen die gemiddelde waardes van die konyne op die aterogene en regeneratiewe diëte, vir groepe II en IIIA. Hierdie verskil word egter nie duidelik weerspieël in die individuele waardes nie. Geen finale afleidings kan uit die resultate van groep I gemaak word nie (vergelyk 5.4).

Indien die gemiddelde aterogene waardes van groepe I, II en IIIA met mekaar vergelyk word (tabel 6.4) blyk dit dat 'n toename in die tydsduur waartydens die proefdiere op die aterogene dieet geplaas was, 'n toename in die cholesterol-konsentrasie van die aorta-wand tot gevolg gehad het.

Tabel 6.4 Die effek van die tydsduur waartydens die proefdiere op die aterogene dieet geplaas is, op die cholesterol-konsentrasie van die aorta-wand.

	Groep IIIA	Groep II	Groep I
Tydsduur (dae)	580	1 240	1 498
Aortacholesterol (mg/g weefsel)	2.9	3.5	4.7

As die individuele aterogene waardes van die konyne van groepe I, II en IIIA egter vergelyk word met die normale waardes van groep IIIB, blyk dit dat die aterogene dieet met enkele uitsonderings, sonder aterogeniese effekte ten opsigte van die cholesterol-konsentrasie in die aorta-wand was. Die aterogeniese toestande (volgens die hoë serumcholesterol-konsentrasie) wat deur die dieet geïnduseer is, was dus nie drasties genoeg om letselvorming tot gevolg te hê nie. Die uitsonderlike gevalle waar 'n hoë cholesterol-

konsentrasie in die aorta-wand wel geïnduseer is, beklemtoon die verskille in vatbaarheid vir aterosklerose onder dieselfde omstandighede.

'n Verskil van 0.9 mg cholesterol per gram weefsel bestaan tussen die gemiddelde waardes van konyne L (3.1 mg/g weefsel) en konyne M (2.2 mg/g weefsel) op die aterogene dieet. Hierdie verskil word ook deurgaans weerspieël in die individuele waardes. As hierdie waardes vergelyk word met die serumcholesterol- en C/P-waardes (vergelyk figure 5.1 en 5.3) blyk dit dat die aortacholesterol-konsentrasie negatief korreleer met die gemiddelde serumcholesterol- en C/P-waardes van Fase A. Die aterogene toestand korreleer dus negatief met die aterosklerotiese toestand in die bloedvatwand. Dit is moontlik dat hierdie verskynsel toegeskryf kan word aan die meganisme waarvolgens die suikermielies 'n hipo-cholesteremiese effek op die bloedserum uitoefen (vergelyk Bieberdorf & Wilson, 1965).

HOOFSTUK 7

SAMEVATTENDE BESPREKING TEN OPSIGTE VAN DIE EFFEK VAN DIEET OP DIE CHOLESTEROL-METABOLISME TYDENS DIE OPWEKKING EN REGENERASIE VAN EKSPERIMENTELE ATEROSKLEROSE

In hierdie verhandeling word eksperimente bespreek waarin 'n aterogene toestand deur middel van 'n semi-sintetiese dieet met 'n hoë persentasie versadigde vette, by konyne geïnduseer is. Daarna is gepoog om die aterogene toestand deur middel van dieselfde dieet behalwe dat die vette deur mieliemeel vervang is, te regeneer.

7.1 Die aterogene fase of opwekking van aterosklerose

'n Direkte verband bestaan tussen die vet-inname en die cholesterol-konsentrasie van die bloed (Keys, 1956; Ahrens, 1955; Funch et al, 1960). Christakis & Rinzler (1969) beweer dat die dieet-patroon wat gevolg word, die belangrikste faktor is wat die serumcholesterol-konsentrasie beïnvloed, waarin veral die versadigde vette in die dieet die grootste effek vertoon. Die belangrike invloed van die versadigde vette op die bloedcholesterol, het ook uit die resultate verkry met die aterogene dieet wat in die huidige ondersoek gebruik is, na vore gekom (hoofstuk 5). 'n Sterk aanvanklike styging in die serumcholesterol-konsentrasie kon deur middel van hierdie dieet geïnduseer word (figuur 5.1). Hierdie styging was egter van 'n tydelike aard. 'n Meer permanente verhoging van die serumcholesterol-konsentrasie word waarskynlik eers na 'n langer tydperk met hierdie dieet verkry (tabel 5.9).

Die toename in die serumcholesterol-konsentrasie vind heel waarskynlik plaas vanweë 'n toename in die sintese van cholesterol vanaf asetaat wat ontstaan na oksidasie van die versadigde vette in die dieet (Friedberg, 1966c). Hierdie stelling word gerugsteun deur die bevinding van Dupont (1966) wat 'n eweredige verandering van die (^{14}C)-cholesterol in die serum met die tempo waarteen die lipiedes in die dieet geoksideer is, gevind het. Verder het Bortz (1967) 'n verhoogde cholesterol-sintese vanaf (^{14}C)-asetaat in vitro vasgestel by rotte na 'n tyd van hoë vet-inname. Die bevindings wat in hoofstuk 4 van hierdie verhandeling bespreek word, dui eweneens op hierdie meganisme, naamlik 'n toename in die cholesterol-sintese-aktiwiteit van die lewer is gevind by dié proefdiere wat vir 'n langer tydperk op die aterogene (van versadigde vette) dieet geplaas was (tabel 4.15). Hierdie toename in die sintese-aktiwiteit korreleer met 'n toename van die serumcholesterol-waardes vir dieselfde proefdiere (tabel 5.9), soos gemeet aan die einde van die aterogene fase. Die hoë-vet-dieet in hierdie eksperiment gee dus aanleiding tot 'n verhoogde sintese van cholesterol wat vir 'n styging van die serumcholesterol-konsentrasie verantwoordelik kan wees.

Die serumcholesterol-konsentrasie is egter nie net 'n funksie van die cholesterol-sintese-aktiwiteit nie, maar ook van ander faktore, waaronder die katabolisme van cholesterol. Haust & Beveridge (1958) het 'n afname van die galsuur-ekskresie waargeneem nadat bottervet by 'n vetvrye dieet gevoeg is en ook vasgestel dat 'n hoë ekskresie van galsure gepaard gaan met 'n afname van die plasmacholesterol-konsentrasie en omgekeerd. Uit 'n vergelyking van die resultate van tabelle 4.15 en 5.9 kan 'n sodanige afname in die galsuur-ekskresie tydens die toediening van 'n hoë-vet-dieet waarskynlik aan 'n onderdrukking van die cholesterol-katabolisme-aktiwiteit

van die lewer toegeskryf word.

Die resulterende effek van die hoë-vet-dieet in hierdie eksperiment, ten opsigte van die sintese- en katabolisme-aktiwiteit van cholesterol is 'n toename van die sintese:katabolisme-verhouding (tabel 4.15). Dit beteken: indien al die ander faktore wat betrokke is by die regulering van die bloedcholesterol-konsentrasie konstant sou bly, 'n toename van die hoeveelheid cholesterol in die liggaam sal optree. Die korrelasie wat daar bestaan vir die toename van die S/K-waardes in die tyd (tabel 4.15) met die toename van die serumcholesterol-waardes in die tyd (tabel 5.9) dui daarop dat dit wel die geval is. Hierdie korrelasie wys ook op die belangrike rol van die lewer in hierdie eksperiment ten opsigte van die sintese en katabolisme van cholesterol om so-doende die bloedcholesterol-konsentrasie te beïnvloed.

Die cholesterol-konsentrasie van die bloed kan as 'n indikasie van die aterogeniese toestand van die proefdiere geneem word aangesien 'n direkte verband bestaan tussen die serumcholesterol-konsentrasie en die cholesterol-konsentrasie van die aortawand (Still, 1964; Parker & Odland, 1966; Gould et al, 1959) asook tussen laasgenoemde en die atherosklerotiese letsels (Windaus, 1910; Schönheimer, 1943; Insull et al, 1966). Ahrens & Kunkel (1949) beweer egter dat die stabiliteit van die bloedcholesterol, wat bepaal word deur die cholesterol:fosfolipied-verhouding, net so 'n belangrike indikasie van die aterogene toestand is as die cholesterol-konsentrasie. Hierdie ondersoekers beweer dat indien die C/P-waarde van die bloed styg, die stabiliteit van die bloedcholesterol verlaag wat 'n presipitasie daarvan in die intima van die arterie tot gevolg het. In ooreenstemming hiermee het Page & Bernhard (1935) 'n C/P-waarde van ^{groter} kleiner as 1.0 .

by konyne met 'n cholesterol geïnduseerde aterosklerose vasgestel.

Volgens die gemiddelde serumcholesterol- en C/P-waardes aan die einde van die aterogene fase (tabel 5.9), is 'n aterogene toestand wel by die proefdiere van groepe I, II en IIIA geïnduseer. Die aterogeniese toestande wat deur middel van die aterogene dieet wat in hierdie eksperiment gebruik is, geïnduseer is, was blykbaar te gering om die cholesterol-konsentrasie van die aortawand sodanig te verhoog dat die drempelwaarde (Insull et al, 1966) daarvan oorskrei sou word om letselvorming tot gevolg te hê. Die feit dat die gemiddelde C/P-waardes laer as 1.0 was aan die einde van die aterogene fase (tabel 5.9), kan moontlik verantwoordelik gehou word vir die feit dat die cholesterol-konsentrasie van die aortawand nie veel gestyg het in die tyd nie (tabel 6.4) en ook feitlik geen waarneembare letselvorming tot gevolg gehad het nie.

Behalwe vir 'n aanvanklike skerp toename van die aterogene toestand wat daarna weer terugkeer tot byna die normale waarde (figure 5.1 en 5.3) blyk die indusering van 'n aterogene toestand met die dieet wat gebruik is, 'n sterk tydsafhanklike proses te wees (tabelle 4.15, 5.9 en 6.4). Gresham & Howard (1962) het egter met 'n semi-sintetiese dieet wat baie met die gebruikte dieet ooreenstem, aterosklerotiese letsels na slegs vier maande by konyne opgewek.

Behalwe dat 'n toename van die aortacholesterol-, serumcholesterol-, serumfosfolipied- en C/P-waardes van die serum in die tyd gedui het op 'n aterogene toestand wat geïnduseer is waarop regenerasie nagegaan kon word, het dit ook die verband tussen hierdie parameters onderling asook ten opsigte van die dieet soos in die literatuur bespreek, verder bewys.

7.2 Regeneratiewe fase of regenerasie van aterosklerose

7.2.1 Die invloed van die mielieproduk-bevattende regeneratiewe-dieet op die verhoogde aterogene toestand

Rademeyer (1963) het gevind dat indien glukose in 'n lae-magnesium-dieet vervang word met mielie-meel, 'n statisties betekenisvolle daling van die serumcholesterol-konsentrasie by rotte verkry word, ten spyte van die teenwoordigheid van botter in die dieet. Hy skryf die hipocholesteremiese werking van die mielie-meel in sy opstelling toe aan vier moontlike eienskappe van mielie-meel:

- (i) hoë veselgehalte (McCance & Glaser, 1948; Walker, 1951; Coleman & Baumann, 1957).
- (ii) Die opheffing van die hipocholesteremiese werking van meliestysel as die mikroflora deur antibiotika vernietig word (Gofman, 1958).
- (iii) 'n Nie-vetaardige stimulant vir galsekresie wat in graan voorkom (Christensen et al, 1952 en 1956).
- (iv) Die magnesium-inhoud van die mielie-meel (66 mg%), wat as gevolg van die hipolipemiese werking van $MgSO_4$ wat in parentale toedienings aangetoon is (Malkiel-Shapiro et al, 1956; Parsons et al, 1959; Cradock, 1960).

Die moontlik regeneratiewe effekte van mielie-meel wat uit die voorafgaande ondersoek blyk, is in die huidige eksperimente op 'n meer permanente geïnduseerde aterogene toestand (sien 5.4.1) nagegaan en as bestanddeel in 'n normale-magnesium-dieet (tabel 3.1).

In hierdie eksperiment is gevind dat die regeneratiewe

dieet n sterk relatiewe daling van die serumcholesterol- (figure 5.7 en 5.9 en tabel 5.5) en C/P-waardes (figure 5.15, 5.17 en tabel 5.7) van die konyne op die regeneratiewe dieet teenoor dié op die aterogene (kontrole) dieet, tot gevolg gehad het. Dit impliseer n regenerasie van die geïnduseerde aterogene toestand terwyl die uiteindelijke absolute waardes van die cholesterol- (figure 5.6, 5.8 en tabel 5.5) en die C/P-verhouding (figure 5.14, 5.16 en tabel 5.7) dui op n feitlik algehele regenerasie ten opsigte van hierdie parameters.

Alhoewel n daling van die serumcholesterol-waardes waargeneem is, is geen verlaging in die cholesterol-sintese-aktiwiteit van die lewer waargeneem nie (tabel 4.9) terwyl n daling van die katabolisme-aktiwiteit vasgestel is (tabel 4.12). Hierdie gegewens resulteer in n toename van die S/K-waarde van groep II wat n styging van die serumcholesterol-konsentrasie impliseer in teenstelling met die daling wat gevind is. Hiervolgens kan die daling van die serumcholesterol-konsentrasie dus nie aan die hand van die cholesterol-metabolisme verklaar word nie en moet dus in hierdie geval toegeskryf word aan ander faktore waarvan die ekskresie van cholesterol n moontlikheid is (vergelyk Friedberg, 1966c).

Bogenoemde veranderinge in die cholesterol-metabolisme is moontlik geïnduseer deur die geringe afname in die tiroïed-aktiwiteit (figure 4.2 en 4.3) aangesien n baie groter afname in die katabolisme en ekskresie as van n afname in die sintese van cholesterol ontstaan tydens n hipotiroïedemiese toestand (Kritchevsky & Staple, 1960).

Die daling in die bloedcholesterol-waarde gaan gepaard met n geringe daling van die aortacholesterol-konsentrasie

(tabel 6.3). Hierdie verandering is waarskynlik 'n gevolg van die daling in die serumcholesterol-konsentrasie aangesien 'n uitruiling tussen die cholesterol van die aortawand en die plasma waarskynlik plaasvind (Newman & Zilvermit, 1966). Die hoër gemiddelde aortacholesterol-waardes van die regeneratiewe konyne van groepe II en I in vergelyking met dié van groep IIIA dui daarop dat regenerasie (nog ?) nie volledig plaasgevind het nie (tabel 6.3).

7.2.2 Die invloed van verskillende mielieproduk-bevattende aterogene diete op die ontwikkeling van 'n aterogene toestand

Tydens die aterogene fase van groep IIIA is vasgestel dat daar 'n verskil bestaan tussen die aterogene effekte van die suikermielie-bevattende en die wit-mieliemeel-bevattende aterogene diete. Laasgenoemde dieet het 'n aansienlike hoër aterogene effek ten opsigte van die cholesterol- en C/P-waardes van die serum tot gevolg gehad in vergelyking met die suikermielie-bevattende aterogene dieet (figure 5.1 en 5.3). Anders as wat verwag is, was die aortacholesterol-waardes van die konyne op die wit-mieliemeel-bevattende aterogene dieet deurgaans laer as dié op die suikermielie-bevattende aterogene dieet (tabel 6.3). Hierdie verskynsel in hierdie opstelling sou moontlik verband kon hou met die hipocholesteremiese meganisme van die suikermielies (vergelyk die hipocholesteremiese meganisme van die onversadigde vette volgens Bieberdorf & Wilson, 1965).

7.3 Verdere navorsing

Die resultate wat in hierdie ondersoek verkry is ten opsigte van die suikermielies (sien 7.2.2), kan beskou word as die effek van die suikermielies as sodanig. Die hipocholeste-

remiese effek van die mieliemeel-bevattende regeneratiewe dieet (7.2.1) kan egter nie gesien word as slegs die effek van die mieliemeel nie aangesien 'n verwydering van die aterogene faktor (vet) uit die dieet alreeds op sigself 'n regenerasie van die geïnduseerde aterogene toestand tot gevolg kan hê (vergelyk Katz, 1958). 'n Bestudering van die aterogeen voorkomende eienskappe van mieliemeel in 'n aterogene dieet in vergelyking met een of ander neutrale substans in die aterogene dieet, sou dus tot 'n beter interpretasie van die eienskappe van die mieliemeel kon lei.

Uit die resultate met die suikermielies (sien 7.2.2) blyk ook dat die aterogene eienskappe van 'n substans nie net op die bloedparameters nagegaan kan word nie. Met die oog op verdere navorsing in verband met hierdie probleemstelling sal bogenoemde opmerkings in gedagte gehou moet word.

'n Dieet met sterker aterogeniese eienskappe (vergelyk Gresham & Howard, 1962) is nodig sodat die eksperiment oor 'n korter tydperk duur en minder proefdiere tydens die eksperiment vrek waardeur meer uitgesproke en statisties meer betekenisvolle resultate verkry kan word.

Gelyktydige in vivo metings van die hemodinamiese funksies van die hart word ook aanbeveel om 'n verswakte hartwerking as gevolg van koronêre trombose te diagnoseer. Green (1970) maak veral melding van die moontlike toepassing van hierdie metings wat deur haarself bestudeer word.

HOOFSTUK 8

SAMEVATTING

In hierdie eksperiment is beplan om aterosklerose ooreenstemmend met dié van die mens by konyne op te wek. Vir hierdie doel is 'n semi-sintetiese hoë-vet-dieet gebruik. Alhoewel 'n aterogene toestand, gemeet aan die cholesterol- en C/P-waardes van die serum, by die proefdiere geïnduseer is, is uitgesproke aterosklerose in die aortawand slegs by 'n enkele proefdier gevind. Die toename in die aterogene toestand met gevolglike aterosklerose het 'n sterk tydsafhanklike proses geblyk te wees.

'n Tweede fase van die eksperiment het daaruit bestaan dat die regeneratiewe vermoë van 'n mieliemeel-bevattende semi-sintetiese dieet ten opsigte van die geïnduseerde aterogene toestand nagegaan is. Hierdie dieet het volledige regenerasie van die aterogene toestand in die bloed, soos gemeet aan die cholesterol- en C/P-waardes van die serum, teweeggebring, terwyl dit slegs gedeeltelike regenerasie van die cholesterol-konsentrasie in die aortawand meegebring het. Die regeneratiewe effek hoef egter nie noodwendig slegs aan die mieliemeel toegeskryf te word nie aangesien regenerasie as gevolg van 'n verwydering van die aterogene faktor (vet) spontaan kan plaasvind (Katz, 1958).

Gedurende die aterogene fase is gemerk dat 'n suikermielie-bevattende aterogene dieet 'n hipocholesteremiese neiging vertoon in vergelyking met 'n witmeliemeel-bevattende aterogene dieet. Die aortacholesterol-waardes van die konyne op die suikermielie-bevattende dieet was egter deurgaans hoër as die konyne wat op die ander dieet was.

Die toename in die serumcholesterol-waardes gedurende die aterogene fase kon onder andere verklaar word as gevolg van 'n toena-

me in die cholesterol-sintese-aktiwiteit van die lewer en 'n gelyktydige afname in die katabolisme-aktiwiteit daarvan wat resulteer in 'n toename van die sintese:katabolisme-verhouding. Die daling van die serumcholesterol-waardes gedurende die regeneratiewe fase van die eksperiment kan nie verklaar word aan die hand van die cholesterol metabolisme nie, aangesien geen verandering in die sintese-aktiwiteit vasgestel kon word nie, terwyl 'n geringe afname van die katabolisme-aktiwiteit waargeneem is. Hierdie veranderinge volg skynbaar op die geringe relatiewe daling in die PBI-waardes van die serum wat waargeneem is tydens hierdie fase.

SUMMARY

In the present investigation it was planned to evoke atherosclerosis in rabbits which agrees with that seen in man. For this purpose a semi-synthetic diet with a high fat content was used. Although an atherogenic state, according to the cholesterol and C/P values of the serum was induced in the experimental animals, pronounced atherosclerosis in the aortic wall was only found in a single rabbit. The increase in the atherogenic state with a resultant atherosclerosis seemed to be a strong time dependent process.

In the second phase of the experiment the regenerative properties of a maize meal containing semi-synthetic diet was investigated with regard to the induced atherogenic state. It was found that this diet effects complete regeneration of the atherogenic state in the blood, according to the cholesterol and C/P values of the serum, while it brought about only partial regeneration of the cholesterol concentration in the aortic wall. This regenerative effect of the diet may not necessarily be attributed to the maize meal in the diet, seeing that regeneration can take place spontaneously only by the removal of the atherogenic factor (Katz 1958).

During the atherogenic phase of the experiment a hypocholesteremic tendency of the sugar mealie containing atherogenic diet was observed with regard to a white maize meal containing diet. The values of the cholesterol in the aortic wall of the rabbits on the sugar mealie containing diet however, were mostly higher than those on the other diet.

The increase in the values of the serum-cholesterol during the atherogenic phase could inter alia be explained by an in-

crease in the activity of the cholesterol-synthesis in the liver and a simultaneous decrease in the catabolism of cholesterol. This resulted in an increase of the cholesterol: synthesis ratio. The decrease of the serum-cholesterol values during the regenerative phase of the experiment could not be explained by the metabolism of cholesterol seeing that no alteration in the synthesis of cholesterol could be detected while a slight decrease in the catabolism was observed. These alterations follow apparently on the slight relative decrease of the serum PBI values which was observed during this phase.

BIBLIOGRAFIE

- ABELL, L.L. et al (1951) J. Biol. Chem., (195~~2~~₂) 195:357.
- AHRENS, E.H. Jr. & KUNKEL, H.G. (1949) J. Exper. Med., 90:409.
- AHRENS, E.H. Jr. et al (1955) in Friedberg, C.K. : Diseases of the heart, 3de uitgawe, W.B. Saunders Company (1966), Philadelphia en London. p. 666.
- AHRENS, E.H. Jr. et al (1957), Lancet, 1:943.
- BERGSTRÖM, S. & GLOOR, U. (1955) Acta Chem. Scand., 9:34.
- BERSOHN, I. & OELOFSE, P.J. (1957) Lancet, 1:1020.
- BIEBERDORF, F.A. & WILSON, J.D. (1965) J. of Clin. Invest., 44:1834.
- BIGGS, M.W. et al (1952) in Schettler, F.G. & Boyd, G.S.: Atherosclerosis; Elsevier Publishing Company (1969), Amsterdam. p. 157.
- BJÖRKHEM, I. et al (1968) Europ. J. Biochem., 4:458.
- BJÖRKHEM, I. et al (1968) J. Clin. Invest., 47:1573.
- BORTZ, WALTER M. (1967)^{Biochimica et} Biophys. Acta, 137:533.
- BUCK, R.C. (1958) Am. J. Pathol., 34:897.
- CHRISTAKIS, G. & RINZLER, S.H. (1969) in Schettler, F.G. & Boyd, G.S. : Atherosclerosis; Elsevier Publishing Company (1969), Amsterdam. p. 823.
- CHRISTENSEN, F.H. et al (1952 en 1956) in Rademeyer : M.Sc.-verhandeling (1963), P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 45.
- COLEMAN, D.L. & BAUMAN, C.A. (1957) in Rademeyer : M.Sc.-verhandeling (1963), P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 19.

- CONSTANTINIDES, P. Experimental Atherosclerosis; Elsevier Publishing Company (1965), London. p. 5-14 en 25-34.
- CRADOCK, A.L. (1960) in Rademeyer : M.Sc.-verhandeling (1963), P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 45.
- CERVEN, J.E. et al (1967) Z. Versuchstier K., 9:221-227.
- DANIELSSON, H. (1963) Adv. Lipid Res. 1:335.
- DANIELSSON, H., EINARSSON, K. & JOHANSSON, G. (1967) European J. Biochem., 2:44.
- DAVIDSON, J.D., ABELL, L.L. & KENDALL, F.E. (1949) Am. Heart J., 38:455.
- DAVIS, J.N. et al (1963) Lancet Des. 1963, p. 1254.
- DAWSON, J.B. & HEATON, F.W. (1961) Biochem. J., 80:99.
- DAYTON, S. et al (1960) Amer. J. Physiol., 199:71.
- DUPONT, JAQUELINE (1966) Lipids, 1:415.
- ERIKSSON, S. & SJØVALL, J. (1955) in van Belle, H. : Cholesterol, Bile Acids and Atherosclerosis; North-Holland Publishing Company (1965), Amsterdam. p. 70.
- FIESER, F. (1953) J. Am. Chem. Soc., 75:4395.
- FISKE, C.H. & SUBBAROW, Y. (1925) in Varley, H. : Practical Clinical Biochemistry, 3de uitgawe, Interscience Books Inc., 1966, New York. p. 371.
- FRIEDBERG, C.K. (1966a) Diseases of the heart, 3de uitgawe, W.B. Saunders Company (1966), Philadelphia en London. p.651.
- FRIEDBERG, C.K. (1966b) idem p. 657.
- FRIEDBERG, C.K. (1966c) idem p. 662.
- FRIEDBERG, C.K. (1966d) idem p. 666.
- FUNCH, J.B. et al (1960) Brit. J. Nutr., 14:355.
- GOPMAN (1958) in Rademeyer (1963) : M.Sc.-verhandeling, P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 45.

- GORDON, D. & KOBERNICK, S.D. et al (1954) in Friedberg, C.K. : Diseases of the heart, 3de uitgawe, W.B. Saunders Company (1966), Philadelphia en London. p. 658.
- GOULD, R.G. et al (1950, 1959) in Schettler, F.G. & Boyd, G.S. : Atherosclerosis; Elsevier Publishing Company (1969), Amsterdam. p. 157.
- GREEN, S.C.J.E. (1970) D.Sc.-proefskrif, P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 176.
- GRESHAM, G.A. & HOWARD, A.N. (1962) Archives of Pathology, 74:1.
- GROOM, D. (1967) in Blumenthal, H.T. : Cowdry's Arteriosclerosis, 2de uitgawe, Charles C. Thomas Publisher (1967), Springfield, U.S.A. p. 542.
- GROSGOGIAT, Y., DE BRUX, J. & LENEGRE, J. (1962) in Schettler, F.G. & Boyd, G.S. : Atherosclerosis; Elsevier Publishing Company (1969), Amsterdam. p. 59.
- HAUST, H.L. & BEVERIDGE, J.M.R. (1958) Arch. Biochem. Biophys., 78:145.347
- HEYDEN, S. (1969) in Schettler, F.G. & Boyd, G.S. : Atherosclerosis; Elsevier Publishing Company (1969), Amsterdam. p. 169-188.
- HILLEBOE, H.E. (1967) in Blumenthal, H.T. : Cowdry's Arteriosclerosis, 2de uitgawe, Charles C. Thomas Publisher (1967), Springfield, U.S.A. p. 631.
- INSULL, W. Jr. & GLENN, E. BARTSCH (1966) J. Clin. Invest., 45:513.
- KATZ, L.N., STAMLER, J. & PICK, R. Nutrition and Atherosclerosis; Lea & Febiger (1958), Philadelphia. p. 64.
- KENNELLY, B. & MEYNARD, L.A. (1953) J. Nutr., 49:599.
- KEYS, A. (1956) in Friedberg, C.K. : Diseases of the heart, 3de uitgawe, W.B. Saunders Company (1966), Philadelphia en London. p. 666.
- KEYS, A. (1958) Ann. Int. Med., 48:83.

- KEYS, A. (1967) in Blumenthal, H.T. : Cowdry's Arteriosclerosis, 2de uitgawe, Charles C. Thomas Publisher (1967), Springfield, U.S.A. p. 576.
- KRITCHEVSKY, D. & STAPLE, E. (1960) J. Lipid. Res., 1:154.
- LINDSTEDT, S. & SJØVAL, J. (1957) Acta Chem. Scand., 11:421.
- MALKIEL-SHAPIRO (1956) in Rademeyer, L.J. : M.Sc.-verhandeling (1963), P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 45.
- MITROPOULOS, K.A. & MYANT, N.B. (1967) Progr. biochem. Pharmacol., 2:37.
- MENDELSON, D., MENDELSON, L. & STAPLE, E. (1966) Biochemistry, 5:3194.
- MCCANEE, R.A. & GLASER, E.M. (1948) in Rademeyer, L.J. : M.Sc.-verhandeling (1963), P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 19.
- NEWMAN, H.A.I. & ZILVERSMIT, D.B. (1966) Circ. Res., 18:293.
- OGILVIE, J.W. & KAPLAN, B.H. (1966) J. Biol. Chem., 241:4722.
- ORANGE, M. & RHEIN, H.C. (1951) J. Biol. Chem., 189:379.
- PAGE, I.H. & BERNHARD, W.G. (1935) in Friedberg, C.K. : Diseases of the heart, 3de uitgawe, W.B. Saunders Company (1966), Philadelphia en London. p. 658.
- PARKER, F. (1960) Am. J. Pathol., 36:19.
- PARKER, F. & ODLAND, G.F. (1966) Am. J. Pathol., 48:197.
- PAUL, O. et al (1963) Circulation, 28:20.
- PARSONS, R.S. et al (1959) in Rademeyer : M.Sc.-verhandeling (1963), P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 45.
- PAUL, O. et al (1963) Circulation, 28:20.
- PERCY-ROBB, J.W. & BOYD, G.S. (1967) Progr. Biochem. Pharmacol., 2:91.
- PRIOR, J.T., KURTZ, D.M. & ZIEGLER, D.D. (1961) Arch. Pathol., 71:672.

- RABINOWITZ, J.L. & GURIN, S. (1954) J. Biol. Chem., 208:307.
- RADEMEYER, L.J. (1963) M.Sc.-verhandeling, P.U. vir C.H.O., Potchefstroom.
- SCHÖNHHEIMER, R. (1943) in Schettler, F.G. & BOYD, G.S. : Atherosclerosis; Elsevier Publishing Company (1969), Amsterdam. p. 145.
- SPERRY, W.M. & WEBB (1950) J. Biol. Chem., 187:97.
- STEINER, A., KENDALL, F.E. & MATHERS, J.A. (1952) Circulation, 5:605.
- STILL, W.J.S. & MARRIOTT, P.R. (1964) J. Atherosclerotic Research, 4:373.
- STILL, W.J.S. (1964) Arch. Pathol., 78:601.
- TAYLOR, C.B. et al (1965) Exp. Mol. Pathol., 4:480.
- TOMKINS, G.M. & CHAIKOFF, I.L. (1952) J. Biol. Chem., 196:569.
- VAN DER WALT, J.D. (1968) M.Sc.-verhandeling, P.U. vir C.H.O., Potchefstroom.
- VARLEY, H., Practical Clinical Biochemistry, 3de uitgawe, William Heinemann Medical Books Ltd. (1963), London. p. 242.
- VITALE, J.J. et al (1957) J. Exp. Med., 106:757.
- WINDAUS, A. (1910) in Kumerow, F.A. : Metabolism of lipids as related to atherosclerosis; Charles C. Thomas Publisher (1965) Springfield, U.S.A. p. 48.
- WALKER, A.R.P. (1951) in Rademeyer (1963), M.Sc.-verhandeling, P.U. vir C.H.O., Potchefstroom. p. 19.
- YOUNGBURG, G.E. & YOUNGBURG, M.V. (1930) in Varley, H. : Practical Clinical Biochemistry, 3de uitgawe, William Heinemann Medical Books Ltd., (1963), London. p. 240.

BEDANKINGS

Graag wil ek die volgende persone en instansies bedank:

- Prof. P.J. Pretorius en dr. C.J. Reinecke onder wie se leiding hierdie verhandeling gedoen is
- Mev. R. Labuschagne, vir die konsep tikwerk
- Mev. E. Potgieter, vir die finale tikwerk
- Mnr. L. Erasmus, vir die taalkundige versorging
- Elise, vir die hulp met die grafieke en samestelling van die verhandeling
- S. Dire, vir die tegniese hulp
- Die Raad van Beheer oor die Mieliénywerheid en Langeberg Koöperasie Beperk wat hierdie ondersoek finansieel moontlik gemaak het.