

FERDINAND POSTMA-BIBLIOTEEK

— P.U. VIR C.H.O. —

**DIE HITTEBESKADIGING VAN**

— aangeelde datum

**DIE WEEFSELS EN VAN DIE**

**INTAKTE DIER**

**- 'N BIOCHEMIESE BENADERING**

**deur**

**FLORIS JACOBUS BURGER**

**Proefskrif goedgekeur vir die graad Doctor Scientiae**

**aan die Potchefstroomse Universiteit vir Christelike**

**Hoër Onderwys**

**Promotor: C.J. Reinecke**

**POTCHEFSTROOM**

**NOVEMBER 1972**

## INHOUD

HOOFSTUK 1	INLEIDING	1
HOOFSTUK 2	LITERATUUROORSIG	7
2.1	INLEIDING	7
2.2	HITTESTEEK	8
2.2.1	Definisie	8
2.2.2	Kliniese tekens	8
2.2.3	Laboratoriumbevindings	10
2.2.3.1	Hematokrit, hemoglobien en rooisel= telling	11
2.2.3.2	Hipoksie	12
2.2.3.3	Suurbasisstatus	14
2.2.3.4	Bloedelektroliete	15
2.2.3.5	Parameters geassosieer met koolhi= draatmetabolisme (bloedglukose, -piruviensuur en -melksuur)	16
2.2.3.6	Parameters geassosieer met vetme= tabolisme	17
2.2.3.7	Parameters geassosieer met proteïen= metabolisme (serum-totale proteïen en proteïenelektroforese, heelbloed nie-proteïenstikstof, ureum, urien= suur en ammoniak)	18

2.2.3.8	Gevolgtrekkings	19
2.2.4	Patologie	21
2.2.5	Die relatiewe hittetoleransie van die weefsels	24
2.2.6	Die meganisme van hipertermiese beskadiging van weefsels	27
2.7	DIE DOEL VAN HIERDIE ONDERSOEK	31
HOOFSTUK 3	DIE <u>IN VITRO</u> -HITTETOLERANSIE VAN WEEFSELS	33
3.1	INLEIDING	33
3.2	PARAMETER OM HITTEBESKADIGING BY WEEFSELS <u>IN VITRO</u> TE MEET	34
3.3	MATERIAAL EN TEGNIEK	36
3.4	RESULTATE EN BESPREKING	40
3.5	ALGEMENE BESPREKING	52
HOOFSTUK 4	WEEFSELS BESKADIG TYDENS HITTESTEEL	58
4.1	INLEIDING	58
4.2	DIE PROEFDIERE	59
4.3	DIE INDUKSIE VAN HIPERTERMIE	60
4.4	DIE KONTROLEDIERE	62

4.5	METING VAN DIE SUURSTOFOPNAME	62
4.5.1	Verwysingsbasis vir snelheid in suurstofopname	63
4.5.1.1	Persentasie droë gewig	64
4.5.1.2	Proteïeninhoud	68
4.5.1.3	DNA-inhoud	69
4.5.1.4	Saamgepakte mitochondriavolume	70
4.5.1.5	Gevolgtrekkings	72
4.6	DIE SUURSTOFOPNAME VAN WEEFSELS <u>IN VITRO</u> VAN KONTROLE- EN HIPERTERMIESE DIERE	73
4.7	SERUMENSIEME	82
4.7.1	Inleiding	82
4.7.2	Bepaling van die ensieme	86
4.7.3	Weergee van die ensiemresultate	87
4.7.4	Die serumensiemaktiwiteit van kontrole- (K en Kw) en verhitte (E) diere	88
4.7.5	Die <u>in vitro</u> -hittestabiliteit van ensieme	94
4.8	ISO-ENSIEMSTUDIES	97
4.8.1	Inleiding	97
4.8.2	Bepaling van die iso-ensieme	97
4.8.3	Resultate	99
4.9	SAMEVATTING	102

HOOFSTUK 5	DIE BLOEDSAMESTELLING TYDENS HI= PERTERMIE	105
5.1	INLEIDING	105
5.2	DIE PROEFDIERE	107
5.3	HEMATOKRIT EN DROË GEWIG	107
5.4	HIPOKSIE	112
5.4.1	Inleiding	112
5.4.2	pO <sub>2</sub> , suurstofinhoud en volume suur= stof gebind aan hemoglobien	115
5.4.3	Weefselhipoksie	119
5.4.4	Bespreking	120
5.5	SUURBASISSTATUS	123
5.5.1	Die pH	123
5.5.2	pCO <sub>2</sub> , basisoormaat (BE), bufferbasis (BB), standaardbikarbonaat (St. HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ), ware bikarbonaat (Act. HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) en totale CO <sub>2</sub>	126
5.6	BLOEDELEKTROLIETE	129
5.7	PARAMETERS GEASSOSIEER MET DIE KOOLHI= DRAAT-, VET- EN PROTEÏENMETABOLISME	136
5.7.1	Parameters geassosieer met koolhi= draatmetabolisme (bloedglukose, -pi= ruviensuur en -melksuur)	137
5.7.1.1	Bloedglukose	137
5.7.1.2	Bloedpiruviensuur	138

5.7.1.3	Bloedmelksuur	140
5.7.2	Parameters geassosieer met vetmetabolisme (totale cholesterol, cholesterol-esters, vry-cholesterol, vry-vetsure, trigliseriede en fosfolipiede in plasma)	141
5.7.3	Proteïenmetabolisme (bloed-nie-proteïenstikstof-, -ammoniak-, -ureum-konsentrasie, serum-totale proteïen en proteïenelektroforese en plasma-aminogramme)	143
5.8	ALGEMENE BESPREKING	149
HOOFSTUK 6	METABOLIESE VERANDERINGE IN DIE LEWER TYDENS HIPERTERMIE	153
6.1	INLEIDING	153
6.2	DIE PROEFDIERE	157
6.3	DIE EMDEN-MEYERHOF-PAD, PIRUVIENSUURDE-HIDROGENASESISTEEM EN DIE HEKSOSEMONO-FOSFAATOMPAD	158
6.3.1	Proewe met $^{14}\text{C}$ -substrate	158
6.3.2	Verdere toetse vir die intaktheid van die Emden-Meyerhof-pad en die heksosemonofosfaatompad	161
6.4	DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE TRIKARBOKSIELSUURSIKLUS	166

6.5	DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE SUUR=STOFOPNAME VAN MITOCHONDRIA	168
6.6	DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP OKSIDATIEWE FOSFORILASIE	170
6.7	ALGEMENE BESPREKING	172
HOOFSTUK 7 ALGEMENE BESPREKING		177
7.1	INLEIDING	177
7.2	DIE RELATIEWE HITTEGEVOELIGHEID VAN DIE WEEFSELS	178
7.3	DIE MEGANISME VAN DIE WEEFSELBESKADIGING	185
7.3.1	Bloedveranderinge	185
7.3.2	Sellulêre veranderinge tydens hipertermie	188
OPSOMMING		192
SUMMARY		199
LITTERATUUR		206
AFKORTINGS		218
BEDANKINGS		221

## HOOFSTUK I

## INLEIDING

Daar is 'n paar uitsonderlike gevalle waar lewende materiaal betreklik hoë temperature kan weerstaan. Sommige organismes bestaan vir lang periodes in 'n rustoestand waar hulle waterinhoud min is. In sulke rustoestande is hulle besonder hittestabiel. Die hoogste temperatuur moontlik nog ooit in die biologie gebruik is  $400^{\circ}\text{C}$ , 'n temperatuur wat die spore van bakterieë oorleef vir 20 tot 30 sekondes (Oag, 1940). Gis in vakuum gedroog weerstaan 'n temperatuur van  $100^{\circ}\text{C}$  vir agt ure (Heilbrunn, 1952).

Daar is ook gevalle waar plante en diere aktief by relatief hoë temperature kan lewe. Sommige metazoa leef byvoorbeeld by  $50^{\circ}\text{C}$ , alge by selfs  $90^{\circ}\text{C}$  (Davenport, 1897), protozoa by  $54^{\circ}\text{C}$  (Brues, 1927) en insekte by  $51^{\circ}\text{C}$  (Lutz, 1931). Hoe interessant die gevalle ook al mag wees, verteenwoordig hulle uitsonderings. Die oorgrote meerderheid van diere en plante oorleef slegs matige temperature. Blootstelling aan tempera=

ture wat slegs effens hoër is as die normale temperatuur van die dier het gewoonlik die dood tot gevolg. (Kyk Rahn, 1941.)

Die hoogste temperatuur moontlik nog ooit vir die mens gerapporteer is  $47,6^{\circ}\text{C}$  soos gemeet in 'n noodlottige geval van hittesteek. 'n Ander geval waarvan die liggaamstemperatuur  $46,1^{\circ}\text{C}$  was, het bly lewe. (Kyk Minard & Copman, 1963.)

In die Republiek van Suid-Afrika is beskadiging deur oorverhitting aan die orde van die dag nie alleen as gevolg van die warm atmosfeer in die somer nie maar veral ook in die goudmynindustrie. In 1961 skryf Morrison et al. "The clinical material for research in heatstroke in the Gold Mining Industry is unique in the world. Only in the World Wars have a similar number of cases occurred in a relatively short period of time. There have been 448 deaths and 539 non-fatal cases in the Industry since the first death was reported in 1924; 121 deaths and 299 non-fatal cases were in the last 20 years. Unfortunately, little use has been made of these opportunities".

Wat betref die gebruikmaking van kliniese materiaal vir soverre dit hittesteek betref, het die toestand sedert 1961 verander. Veral Kew en medewerkers van die Universiteit van die Witwatersrand doen waardevolle werk in die verband.

Ook op eksperimentele gebied het die probleem van hittesteek opnuut aandag geniet. Die huidige werk oor eksperimentele hittesteek in witrotte is in 1961 begin, asook proewe met ape 'n paar jaar later onder leiding van Prof. Webster van die Instituut van Industriële Siektes.

Dit is duidelik dat hittesteek deur 'n te hoë liggaamstemperatuur per se veroorsaak word (Shibolet et al., 1967; Sohar et al., 1968). Michaelli (1969) skryf "The aetiology of heatstroke is variable, but the pathogenesis is similar in all cases. It is the widespread cellular damage due to heat which is the base of the process".

Wanneer van weefselbeskadiging, tjdens hipertermie, by die mens gepraat word, word sonder meer aan breinbeskadiging gedink. Een van die uitstaande simptome

van 'n hittesteekgeval is die van senuweeversteuring. Dit moet egter onthou word dat hierdie senuweeversteuring sekondêr mag wees en dat primêre beskadiging in bvvoorbeeld skeletspier (Bale et al., 1968) kan plaasvind.

In die literatuur is daar aanduidings van differensiële beskadiging van soogdierweefsels, maar verdere studie is nodig vir noukeurige omskrywing. Daar word ook in die literatuur geredeneer oor die rol van metaboliese ineenstorting van die sel wat uiteindelik tot die sel-dood tydens hipertermie sou lei. Die redenasies is egter gegrond op min eksperimentele gegewens wat tewens onder verskillende omstandighede ingewin is. Alhoewel daar seker nie getwyfel kan word aan die rol van metabolisme-ineenstorting van die sel tydens hipertermie nie, is die begrip besonder breed. Dit is noodsaaklik dat die selveranderinge meer noukeurig beskryf word en dat daar veral in vivo-studies uitgevoer word.

Die meganisme van weefselbeskadiging is nog glad nie ontrafel nie. Daar is wel al verskeie teorieë opgestel (Bělehrádek, 1935; Bělehrádek, 1957; Minard &

Copman, 1963; Bělehrádek, 1967) maar geeneen beantwoord aan al die vereistes nie. Wat meer is, baie van die informasie waarop die teorieë gebaseer is, is op in vitro-sisteme ingewin wat as sodanig nie sonder meer in vivo toegepas kan word nie. Daar is dikwels in diepte ingegaan op enkele faktore, maar die geheelbeeld is nagelaat. Bělehrádek (1967) skryf nadat hy weer eens die literatuur oor hittebeskadiging van weefsels in oënskou geneem het: "Several protoplasmic constituents in their interaction have to be considered in any attempt at a satisfactory hypothetical interpretation of the cytopathological phenomena caused by extreme temperatures and of the corresponding cytoecological regulations". Hierdie siening van Bělehrádek (1967) is vir die huidige, na my mening, die aanneemlikste en in die huidige ondersoek is die geheelbeeld besonder beklemtoon.

In hierdie proefskrif is sellulêre en dus weefselbeskadiging as die oorheersende oorsaak van die dood tydens hipertermie aanvaar. Om meer lig op hierdie tot nog toe onduidelike beeld te werp is die volgende aspekte, in een soogdiersoort, ondersoek, nl.

1. Die in vitro-hittetoleransie van weefsels (Hoofstuk 3).
2. Die in vivo-hittetoleransie van weefsels (Hoofstuk 4).
3. Die meganisme van weefselbeskadiging tydens hipertermie deur die proefdiere te verhit en dan (a) die bloedsamestelling (Hoofstuk 5) en (b) die weefselreaksies, deur die weefsels as sodanig te gebruik, te bestudeer (Hoofstuk 6).
4. In Hoofstuk 7 is 'n samevattende bespreking oor die resultate wat verkry is, gevoer.

## HOOFTUK 2

### LITERATUUROORSIG

#### 2.1 INLEIDING

Doeltreffende meganismes van temperatuurhomeostase laat toe dat die soogdier in 'n warm omgewing leef met 'n liggaamstemperatuur wat beheer word op 'n vlak net 'n paar grade onderkant die temperatuur waarby die liggaamsweefsels beskadig word. 'n Toename in die liggaamstemperatuur bokant die normale waarde is bekend as hipertermie, wat ookal die oorsaak van sodanige toename is. Mildelike toename in liggaamstemperatuur kom dikwels voor tydens oefening, koorssiektes en in gevalle waar koorsterapie toegepas word. In al hierdie gevalle van hipertermie word die liggaamstemperatuur nog aktief beheer. Wanneer die liggaamstemperatuur so hoog styg dat die temperatuurreguleringsmeganismes faal, word die toestand bestempel as hittesteek. Dit is juis hierdie uiterste toestand van hipertermie, naamlik hittesteek, wat die onderwerp van studie in hierdie projek is. Dit gaan hier om gein-

duseerde hittestEEK, dit wil sê die liggaamstemperatuur is verhoog deur die liggaam aktief te verhit deur gebruikmaking van 'n fisiese middel. 'n Waterbad is hiervoor gebruik en witrotte is aan hierdie behandeling onderwerp.

## 2.2 HITTESTEEK

### 2.2.1 Definisie

HittestEEK kan gedefinieer word as 'n ongesteldheid van temperatuurbeheer wat gekenmerk word deur die afwesigheid van sweet, 'n liggaamstemperatuur van om-trent  $41,1^{\circ}\text{C}$  of hoër en 'n ernstige versteuring van die breinfunksie. Sonder behandeling verloop die toestand gewoonlik noodlottig (Minard & Copman, 1963; Leithead & Lind, 1964).

### 2.2.2 Kliniese tekens

Soos uit die definisie na vore kom is die drie kardinale kliniese tekens van hittestEEK die afwesigheid van sweet, uitermatige hipertermie en ernstige beska-

diging van die breinfunksie.

Die tekens is gebaseer op waarnemings by die mens.

Die kliniese tekens tydens hipertermie in nie-genarkotiseerde rotte en muise is deur Daily & Harrison (1948) breedvoerig bestudeer. Soos hulle liggaamstemperature toeneem, is karakteristieke veranderinge in voorkoms en gedrag waargeneem wat vergelykbaar was in die twee spesies. By temperature tot omtrent  $40,5^{\circ}\text{C}$  vertoon die vel merkbaar bloedryk en die diere toon toenemende opgewondenheid. Bokant dié vlak, en op tot  $42^{\circ}\text{C}$  is die diere minder aktief en hulle bewegings swak gekoördineer. Hiperpnee was uitermatig. Die vel was heftig rooi en petechiae het veral in die ore voorgekom. By omtrent  $43^{\circ}\text{C}$  het konvulsies gevolg deur koma voorgekom. As die hiperpireksie nie gou gestaak word nie, gaan die dier dood. Net voor die dood intree, word die vel sianoties gevolg deur 'n grysbleek voorkoms (bloedsirkulasie-kollaps).

Slegs genarkotiseerde honde was verhit. Met toenemende hiperpireksie toon hulle ook 'n rooi vel, hiperpnee en finaal bloedsirkulasie-kollaps by liggaamstempera=

ture van  $42^{\circ}$  tot  $44^{\circ}\text{C}$ .

Daily & Harrison (1948) kom dan ook tot die gevolg= trekking dat, afgesien van die veranderinge in sweting die kliniese beeld in hierdie diere nou ooreenstem met die wat in die mens waargeneem word.

Tog moet beklemtoon word dat in uiterstes van omge= wingstemperatuur die diere oortollige hitte verloor deur hiperventilasie en die mens deur te sweet. Hoe dit 'n verskil in die veranderinge in die liggaam ty= dens hipertermie veroorsaak, is moeilik om te sê, tog mag dit 'n ander beeld skep. Omdat die witrot in hierdie projek as proefdier gebruik is, sal in hierdie hoofstuk veral net die literatuur oor dierproewe ge= evalueer word vir motivering van hierdie projek. Waar nodig sal egter waarnemings op mense gekwoteer word.

### 2.2.3 Laboratoriumbevindings

Omdat hittesteek noodlottig verloop indien behandelin= nie onverwylde toegepas word nie, is 'n sistematiese ondersoek na veranderinge wat in die liggaam tydens die toestand optree, net in dierproewe moontlik.

Hierdie resultate mag wel aanduidings gee van wat in die mens verwag kan word. Vervolgens sal 'n oorsig van die belangrikste eksperimentele gegewens en die belangrikste gevolgtrekkings wat daaruit gemaak kan word, gegee word.

#### 2.2.3.1 Hematokrit, hemoglobien en rooiseltelling

Hall & Wakefield (1927) het die moontlikheid van bloedindikking tydens hipertermie gestel maar het geen besondere aandag daaraan gegee nadat gevind is dat die bloed se vaste materiaal konstant bly in hittesteekhonde nie. Daily & Harrison (1948) toon in hulle dierproewe aan dat die hematokrit tydens hipertermie styg. Frankel (1959) het ook gerapporteer dat die hematokrit tydens hipertermie in rotte styg. Daily & Harrison (1948) asook Frankel (1959) meld net die hematokrit maar beklemtoon geensins die kwessie van bloedindikking as 'n faktor in die interpretasie van die resultate nie. Burger & Engelbrecht (1967) het 'n sistematiese ondersoek ingestel na die bloedveranderinge wat die witrot, onder omstandighede vergelykbaar met die huidige, intree. Daar is gevind dat die he=

matokrit tydens hipertermie styg. Die styging kon verklaar word op grond van bloedindikking. As die bloedindikking in aanmerking geneem is, is geen verandering in die hemoglobienkonsentrasie en die rooi-seltelling gevind nie. Dié bevindinge het die noodsaaklikheid beklemtoon om vir bloedindikking tydens hipertermie te toets en dit in aanmerking te neem vir die interpretasie van die resultate. Op grond van die resultate van Burger & Engelbrecht (1967) is besluit om in alle bloedondersoeke in hierdie projek die hematokrit te bepaal en dit as maatstaf van bloedindikking te gebruik.

#### 2.2.3.2 Hipoksie

Dat 'n hipoksietoestand in die liggaam van primêre belang mag wees vir die ontstaan van die dood tydens hipertermie, is vir die eerste keer deur Hartman (1937) voorgestel. Uiteenlopende resultate kom in die literatuur voor. Die arteriële suurstofspanning en suurstofinhoud is in honde (Kubicek et al., 1958; Maxwell et al., 1959; Albers, 1961) en in ape (Kubicek et al., 1958) tydens hipertermie gemeet in

poging om 'n hipoksietoestand aan te toon maar geen verandering kon gevind word nie. Aan die ander kant kon Frankel et al. (1963) wel 'n afname in die  $pO_2$  van arteriële bloed van hipertermiese honde aandui. Hales et al. (1967) het weer 'n toename in die  $pO_2$  van arteriële bloed van verhitte beeste gevind. Dit is moeilik om hierdie teenstrydighede uit die gerapporteerde informasie te verklaar. Daar mag miskien 'n spesieverskil wees. In elk geval sou 'n sistematiese ondersoek na hierdie parameters, al is dit ook in een van die spesies wat reeds bestudeer is deur veral verskillende grade van hipertermie toe te pas bykomende inligting verskaf. Teoreties sou verwag kon word dat erge hiperventilasie die arteriële bloed  $pO_2$  laat styg maar naby eindpunt sou 'n verlaging verwag word.

Daar is ook ondersoek na weefselhipoksie ingestel in hipertermiese diere deur die meting van oormaat melksuur in die bloed deur die toepassing van die beginsel van Huckabee (1958a). Frankel et al. (1963) kon 'n weefselhipoksie in honde demonstreer. Die ondersoek is deur Hales et al. (1967) op beeste herhaal. Weer

eens is 'n weefselhipoksie aangetoon. In hierdie ondersoek is die ondersoek na witrotte uitgebrei.

### 2.2.3.3 Suurbasisstatus

Verskeie navorsers het die bloed-pH van diere tydens hipertermie gemeet, maar die resultate is teenstrydig. Hall & Wakefield (1927) en Kubicek et al. (1958) het 'n daling in die bloed-pH-waardes by honde gerapporteer, terwyl ander (Frankel & Cain, 1966; Frankel & Ferrante, 1966; Hales et al., 1967) 'n toename in die bloed-pH by honde, katte en beeste, respektiewelik tydens eksperimentele hittesteek waargeneem het. Myns insiens is hier twee faktore ter sake naamlik die mate van hiperventilasie en die mate van melksuurvorming. 'n Mens sou 'n respiratoriese alkalose tydens hiperventilasie maar weer 'n metaboliese asidose as gevolg van oormatige melksuurproduksie kon verwag. Dit is dus 'n komplekse verandering en die netto-effek sal in elk geval eksperimenteel bepaal moet word, daarom die noodigheid om ook in die witrot die metings uit te voer. In 'n verdere poging in die ontrafeling van die suur=

basisstatus is veral die  $p\text{CO}_2$  en die alkali-reserwe bepaal. Oor hierdie parameters is daar eenstemmigheid naamlik dat die waardes daal tydens hipertermie by honde (Kubicek et al., 1958; Frankel & Cain, 1966) en beeste (Hales et al., 1967). Teoreties sou verwag word dat 'n daling in die bloed- $p\text{CO}_2$  die bloed-pH laat styg en 'n daling in die bloed se alkali-reserwe die pH laat daal. Hier is dit weer 'n kwessie van wat die netto-effek is. Dit is nodig om nie alleen hierdie metings by die proefdier onder studie in hierdie projek te herhaal nie maar dit is ook nodig om terwille van 'n beter evaluasie van die suurbasisstatus ook die parameters wat gemeet word verder uit te brei deur die toepassing van die Astrup-tegniek.

#### 2.2.3.4 Bloedelektroliete

Oor die elektrolietkonsentrasie van bloed tydens hipertermie is in enkele dierproewe gerapporteer. Frankel (1959) het 'n styging in die serumkalsium-, -chloried- en -kaliumkonsentrasie in hipertermiese rotte gerapporteer. Die hematokrit het egter ook gestyg en as daarvoor gekorrigeer is, sal slegs 'n toe-

name in die serumkaliumkonsentrasie bevestig wees. Omdat suurbasisstatus en elektrolietstatus in die liggaam so nou skakel sou dit wenslik wees om die parameters onder soortgelyke toestande te meet.

#### 2.2.3.5 Parameters geassosieer met koolhidraatmetabolisme (bloedglukose, -piruviensuur en -melksuur)

'n Hipoglusemiese toestand is in honde (Kubicek et al., 1958; Kanter, 1959) en in ape (Kubicek et al., 1959) gevind terwyl 'n hiperglusemiese toestand weer deur Hall & Wakefield (1927) in honde gerapporteer is. Dié toename in bloedglukosekonsentrasie was egter nie 'n gereelde waarneming nie en het in sommige gevalle selfs gedaal.

Myns insiens sou 'n hipoglusemiese toestand die verwagte wees juis vanweë die besondere spieraktiwiteit tydens hiperventilasie. Die mate van hipoglusemie sou afhanklik mag wees van die mate van hiperventilasie. Ook sou 'n weefselhipoksie ekstra afbreking van glukose bewerkstellig. Vir die geheelbeeld is dit

noodsaaklik dat die glukosekonsentrasie ook by die witrot gemeet word. Dit brei die studie ook na 'n ekstra spesie uit. Wat betref die bloedmelsuurkonsentrasie wil dit voorkom of 'n styging tydens hipertermie voorkom soos dan ook gevind is by honde (Hall & Wakefield, 1927; Marsh, 1930; Frankel et al., 1963; Frankel & Cain, 1966) en by beeste (Hales et al., 1967).

Aan die ander kant bly die bloedpiruviensuur betreklik konstant tydens hipertermie in honde (Frankel et al., 1963; Frankel & Ferrante, 1966) en in beeste (Hales et al., 1967).

Metings van die bloedmelsuur- en -piruviensuurkonsentrasie in die witrot brei die metings uit na 'n ander spesie, maar dit is op sigself noodsaaklik deurdat daardeur vir 'n selhipoksie getoets word.

#### 2.2.3.6 Parameters geassosieer met vetmetabolisme

Die waarneming gemaak deur Frankel (1968) naamlik dat die serum-totale lipiede en vetsure afneem in katte tydens progressiewe hipertermie, is waarskynlik die

enigste rapport oor die aspek tot nog toe.

Aangesien koolhidrate as energiebron skynbaar kortkom om volledig in die behoefte te voorsien sou verwag word dat vetmetabolisme betrek sal word vir energie=verskaffing. In hoeverre dit betrek word, is in hier= die projek ondersoek deur die bepaling van totale en vry-cholesterol en cholesterolesters, vry-vetsure, tri=gliseriede en fosfolipiede in die sera van kontrole en verhitte rotte.

2.2.3.7 Parameters geassosieer met proteïenmetabolis=me (serum-totale proteïen en proteïenelektro=forese, heelbloed nie-proteïenstikstof, ureum, uriensuur en ammoniak)

In die serum van verhitte honde is daar wel 'n afname in totale proteïen gevind asook 'n toename in die konsentrasie van nie-proteïenstikstof, ureum en uriensuur (Hall & Wakefield, 1927). Die toename in nie-pro=teïenstikstof is veral te wyte aan die toename in bloedureum. Die toename mag op 'n vermeerderde afbre=king van proteïen en/of op nierskade dui, terwyl die

toename in die uriensuurkonsentrasie in die bloed aan lewerskade toegeskryf kan word. 'n Geringe toename is ook in die bloedammoniakkonsentrasie van verhitte konyne gevind (Kozlov, 1958).

#### 2.2.3.8 Gevolgtrekkings

Daar is 'n groot verskeidenheid van parameters in verhitte diere gemeet. Die belangrikste gevolgtrekkings is die volgende:

(a) Die hematokrit neem toe in die meeste gevalle waar dit gemeet is, maar soms is geen verandering gevind nie. In elk geval is die verandering in hematokrit glad nie genoeg beklemtoon nie en ook nie in aanmerking geneem in die rapportering van die verandering van die ander bloedparameters gemeet nie. Hierdie gebrek aan die inagneming van bloedindikking word oorgedra op die resultate wat met bloedanalises tydens hipertermie verkry is.

(b) Dat weefselhipoksie 'n belangrike verskynsel tydens hipertermie is, is in 'n paar gevalle aangetoon, veral deur die meting van 'n oormaat melksuur. Die

evaluering van 'n hipoksietoestand in die liggaam tydens hipertermie deur bloedsuurstof-analise was minder suksesvol alhoewel verskeie pogings aangewend is.

(c) Die suurbasisstatus verander tydens hipertermie maar 'n komplekse beeld van veral respiratoriese alkalose en metaboliese asidose bepaal die netto-bevinding.

(d) Geringe elektrolietstatusverandering maar veral 'n styging in serumkalium is tydens hipertermie gevind.

(e) Die koolhidraatmetabolisme verander moontlik veral as gevolg van die ekstra glukose benodig vir energieproduksie maar ook as gevolg van weefselhipoksie.

(f) Vet- sowel as proteïenmetabolisme verander waarskynlik hoofsaaklik as gevolg van 'n gebrek aan glukose as energiebron en 'n vermeerderde katabolisme van hierdie energiegewende voedingstowwe. Effekte soos nier- en lewerbeskadiging kompliseer die beeld. Ook die toksiese-effek van metaboliete soos ammoniak moet deeglik in aanmerking geneem word.

Uit die laboratoriumbevindings is dit duidelik dat nog groot leemtes bestaan in die informasie om die nodige evaluasie aangaande die chemiese veranderinge in die bloed van hipertermiese diere te maak. Dit is nodig om die parameters wat getoets is meer sistematies te ondersoek en ook uit te brei en veral die kwessie van bloedindikking deeglik in aanmerking te neem.

#### 2.2.4 Patologie

In eksperimentele hittesteek is beskadiging van die parenkiem van 'n verskeidenheid van weefsels soos die hart, longe, niere, dunderm, lewer, pankreas, milt, tiroïed en byniere in honde gerapporteer (Hall & Wakefield, 1927). In ander eksperimentele werk is ook in rotte, marmotte en konyne beskadiging van die parenkiem van 'n verskeidenheid van weefsels gerapporteer (Baldwin & Nelson, 1928; Jacobsen & Hosoi, 1931; Hartman & Major, 1935).

Veral interessant in verband met die studies aangaande eksperimentele hittesteek in diere is dat dit wil

voorkom of die brein van diere nie juis gevoelig is vir hittebeskadiging nie. Kubicek et al. (1958) het byvoorbeeld geen histopatologiese veranderinge in die breine van 10 honde en 12 ape waarby eksperimentele hittesteek opgewek is gevind nie.

Die mees gedetailleerde patologiese studie van hittesteek is dié van Malamud et al. (1946) wat weefsels van 125 noodlottige gevalle van hittesteek histologies ondersoek het. Dié reeks is later na 185 uitgebrei (Haymaker et al., 1955). Volgens dié outeurs kan die patologiese letsels in twee klasse verdeel word: Eerstens daardie letsels wat direk aan hipertermie toegeskryf kan word. 'n Direkte verwantskap tussen die senuweesisteem en die graad en duur van hipertermie was altyd duidelik. Die letsels was hoofsaaklik neuronale degenerasie in verskillende dele van die brein insluitende die serebrale korteks, die serebellum en die basale ganglia. Ook edeem en kongestie van die brein met wydverspreide puntbloedings is gevind. Tweedens die letsels wat aan skok toegeskryf word. Dit sluit in bloedings in 'n verskeidenheid van weefsels soos die longe en die miokardium en paren-

kiemale letsels wat insluit gelokaliseerde degenerasie in die hart, laer nefron nefrose, sentro-lobulêre nekrose van die lewer, nekrose en tubulêre degenerasie van die bynierkorteks.

In die lig van die belangrike rol wat die hipotalamus in die regulering van die liggaamstemperatuur speel, is dit interessant dat geen sellulêre letsels in die hipotalamuskerne in noodlottige gevalle van hittesteek gevind is nie.

Gore & Isaacson (1949) het 'n deeglike studie gemaak van die patologie van 17 hittesteekgevalle wat gesterf het na koorsterapie. Die navorsers sonder veral die lewer uit as die orgaan waarin die opvallendste veranderinge plaasgevind het.

In onlangse rapporte is die buitengewone beskadiging van die parenkiem van die spier (Schrier et al., 1967; Bale et al., 1968) beklemtoon; beskadiging van die hart (Knochel et al., 1961; Kew et al., 1969), die nier (Kew et al., 1967a; Kew et al., (1970a) en die lewer (Kew et al., 1970b) weer beskadig.

Uit die bogaande is dit duidelik dat wydverspreide weefselbeskadiging tydens hittesteek plaasvind.

#### 2.2.5 Die relatiewe hittetoleransie van die weefsels

Uit die bogenoemde waarnemings kan nie definitiewe gevolgtrekkings gemaak word aangaande die volgorde waarin weefsels beskadig word tydens hittesteek nie. Dat daar wel verskille is in die hittegevoeligheid van weefsels is in die breë beklemtoon deur Adolph (1947). Die navorser het hipertermie by 6 dierspesies geïnduseer. Daar is tot die slotsom gekom dat daar kritiese regulerende weefsels is, waarvan die lokaliteit nie gespesifiseer is nie, wat onomkeerbaar vernietig word as die liggaamstemperatuur 'n vlak eie aan die spesie, oorskry. Heilbrunn et al. (1946) het gevind dat as slegs die agterbene van rotte verhit word, dit aanleiding gee tot die dood van die dier in 'n toestand soortgelyk aan die van hittesteek. Dit insinueer dat 'n toksiese stof afgeskei mag word deur weefsels vroeg deur die hipertermie beskadig wat die dood van die dier kan veroorsaak. Bale et al. (1968) is van mening dat die wydverspreide spiernekrose wat tydens

hittesteek waargeneem is, ernstige sistemiese veranderinge van veral die serumkaliumkonsentrasie kan teweegbring.

Uit in vivo-waarnemings soos hierbo beskryf, kan wel aanduidings gekry word dat weefsels se hittegevoelighed verskil maar die opmekaarinwerkende invloede maak 'n fyn diskriminasie onmoontlik. Daar bestaan geen sistematiese ondersoek van hierdie probleem nie.

Daar is al enkele ensiem- en iso-ensiemstudies uitgevoer wat informasie kan verskaf aangaande die weefsels wat die mees hittesensitief is. Herman & Sullivan (1959), Shibolet et al. (1962) en Romeo (1966) het na 'n studie van enkele gevalle van hittesteek gerapporteer dat die serum-GPT toeneem maar het nie verder kommentaar gelewer nie. Vescia & Peck (1962) het in 'n gevalstudie waargeneem dat serum-GPT sowel as serum-LDH toeneem en dit as 'n vroeë teken van lewerskade geïnterpreteer. Aan die ander kant het Austin & Berry (1956) gevind dat die serum-AP in 'n studie van 11 pasiënte normaal in elke geval is. Kew et al. (1967b) het GPT, GOT, LDH en CPK in die serum

en serebrospinale vloeistof in 25 gevalle van hitte=steek bepaal en gevind dat die ensieme verhoog is. Geen gevolgtrekkings kon gemaak word aangaande die spesifieke organe wat beskadig word nie.

Informasie aangaande die iso-ensiempatroon tydens hitte=steek is baie beperk. Na my wete het nog net Kew et al. (1969) daaroor gerapporteer. Die navorsers het 'n abnormale LDH-iso-ensiempatroon in die serum van hittesteekpasiënte gevind wat veral op hartbeska=diging sou dui, maar lewer en nierbeskadiging was nie uitgesluit nie.

Deur weefsels by normale diere te verwyder en dan die suurstofopname by verskillende bo-normale liggaamstem=perature te meet, is ook aanduidings gekry van die re=latiewe hittegevoeligheid van weefsels soos die nier=korteks (Marsh, 1934; Fuhrman & Field, 1942), die lewer (Marsh, 1934; Fuhrman & Field, 1945), die sere=brale korteks (Field et al., 1944), die hart (Fuhrman et al., 1950) en die vel (Fuhrman & Fuhrman, 1957).

Die proewe was nie in die eerste instansie beplan om die relatiewe hittegevoeligheid van die weefsels te

toets nie, daar is dan ook geen sprake van fvn diskriminasie nie.

### 2.2.6 Die meganisme van hipertermiese beskadiging van weefsels

Verskeie teorieë is al voorgestel wat 'n verklaring sou bied van weefselbeskadiging deur hipertermie waarvan veral twee hier genoem kan word.

Vir omtrent 'n eeu word daar noual geredeneer oor die moontlikheid dat denaturasie van selproteïene die oorsaak van die seldood tydens hipertermie is. Eers is gemeen dat strukturele proteïene gedenatureer word. Later is die inaktivering van ensieme as die essensiële proses beskryf (Bělehrádek, 1935; Precht et al., 1955; Bělehrádek, 1957; Minard & Copman, 1963).

'n Teorie wat ook nog nie as onwaar bewys is nie, is die van Heilbrunn (1954) wat 'n meganisme van termiese koagulasie geformuleer het, gebaseer op die vervloeiing van lipiede wat sou meebring dat die selmembraan meer deurlaatbaar word vir kalsiumione wat dan met die sitoplasmaproteïene verbind en die proteïene minder

oplosbaar sou maak.

Dit is veral die proteïenteorie en die vetteorie wat in breë teenmekeer gestel word in 'n bespreking van 'n verklaring van die meganisme van hipertermiese beskadiging van weefsels. Bělehrádek (1967) stel dit as sy oorwoë mening dat om dié twee moontlikhede teenmekeer te stel kunsmatig is. Dié navorser glo dat geene enkele produk van protoplasmatiese disintegrasi die meganisme van beskadiging soos veroorsaak deur uiterstes van temperatuur kan verklaar nie. Verskeie protoplasmatiese konstituente in hulle interaksie moet oorweeg word in 'n poging om 'n bevredigende interpretasi van die sitopatologie, veroorsaak deur uiterstes van temperatuur, te gee.

Om te praat van die proteïenteorie of die vetteorie as 'n verklaring vir selbeskadiging, is so wyd dat elkeer teruggevoer sou kan word na al die fasette van selfunksie oftewel selwanfunksie. Net so kan ook die afname in suurstofopname wat waargeneem word as weefsels verhit word, selbeskadiging aantoon, maar dit beskryf nie die beskadiging nie. In breë word daar ool

gepraat van die ineenstorting van die selmetabolisme tydens hipertermie, maar die presiese veranderinge wat sou plaasvind, is onbekend.

Dit is juis in die jongste tyd dat die begrip van selmetabolisme-ineenstorting as uitgangspunt gebruik word vir die bestudering van besonderhede in selmetabolisme tydens hipertermie. Omdat 'n afname in suurstofopname in weefsels wat verhit word, konstant waargeneem word, is veral aandag gegee aan die organe wat bv uitsteking betrokke is by die gebruik van die suurstof in die sel, naamlik die mitochondria en die oksidasie- en reduksieprosesse wat veral suurstofafhanklik is.

Onomkeerbare strukturele veranderinge in die mitochondria van rotlewerweefsel in vitro verhit by  $47^{\circ}\text{C}$  vir 3 tot 7 minute is al waargeneem (David & Uerlings, 1968).

Die invloed van hipertermie op mitochondriale funksie is wel al bestudeer, alhoewel net in 'n paar gevalle. So byvoorbeeld het Aldridge & Stoner (1960) die suurstofopname en die P/O-verhoudings van rotlewermitochondria van verhitte diere (verhit selfs tot 'n rek-

tale temperatuur van  $42^{\circ}\text{C}$ ) gemeet maar kon egter geen verskil in die resultate van die verhitte en kontrole=diere verkry nie. Morris & King (1962) het weer bewys dat 'n mildelike verhitting van die Keilin-Hartreehartspierpreparaat die respiratoriese ketting veral in die gedeelte van NADH na sitochroom-c die hittegevoeligste is. Volgens Rapoport et al. (1968) is die invloed van hipertermie op die ensieme van die respiratoriese ketting verskillend. Verhitting by  $47^{\circ}\text{C}$  het byna geen invloed op die aktiwiteit van sitochroomoksidase en barnsteensuur-sitochroom-c-reduktasesisteme nie. NADH-sitochroom-c-reduktase word selektief deur hitte geïnaktiveer. Christiansen & Kvamme (1969) het die oksidatiewe fosforilasie en respiratoriese kontrole van onder andere muisbrein en -lewer bestudeer nadat die mitochondria in vitro by temperature tot  $45^{\circ}\text{C}$  geïnkubeer was. Die resultate het getoon dat die elektrontransport in die barnsteensuur-sitochroom-c-gebied meer hittegevoelig was as dié van die sitochroom-c-suurstof gebied. Verder wil dit voorkom of inhibisie van elektrontransport, verlies aan respirasie-kontrole en ontkoppeling van fosforila=

sie primêre effekte van hittebehandeling is. Uitlekking van endogene-sitochroom-c na die omringende medium is aangetoon, wat daarop dui dat die membraan vroeg tydens hittebehandeling beskadig word. Die ondersoek het ook aan die lig gebring dat die weefsels ondersoek, baie verskil in hittegevoeligheid, gemeet aan die hand van oksidatiewe fosforilasie; breinmitochondria is die mees hitteweerstandig bevind.

## 2.7 DIE DOEL VAN HIERDIE ONDERSOEK

Uit die gegewens hierbo (2.2.4 en 2.2.5) is dit duidelik dat weefsels verskil in hulle gevoeligheid vir hittebehandeling. Die informasie is egter min en is meestal slegs 'n bykomende resultaat waar die primêre ondersoek heeltemal op ander informasie ingestel was. Om die meganisme van die dood tydens hipertermie te ontrafel is dit myns insiens van primêre belang dat die weefsel(s) wat primêr tydens hipertermie beskadig word, bepaal moet word. In hierdie ondersoek is daar dan ook breedvoerig ondersoek ingestel na die relatiewe hittetoleransie van 'n verskeidenheid weefsels. Eerstens is weefsels van normale diere in vitro verhit

(Hoofstuk 3). Die mate van suurstofopname is as kriterion gebruik om selfunksie te beskryf. Tweedens (Hoofstuk 4), is die proefdier verhit en die intakteid van die weefsels weer in vitro getoets deur die meet van suurstofopname. Ook is daar in hierdie reeks proewe ensiem- en iso-ensiemstudies uitgevoer op die serum van die kontrole- en verhitte diere om verdere informasie in te win aangaande die weefsels tydens hipertermie beskadig.

Daar is verder ondersoek ingestel na die meganisme van die weefselbeskadiging (2.2.6) deur in die eerste instansie chemiese analyses op die bloed van kontrole- en verhitte diere uit te voer ten einde informasie in die breë in te win aangaande metaboliese stoornisse (Hoofstuk 5). Hierna is op sellulêre en subsellulêre vlak metaboliese studies uitgevoer op een weefselsoort wat besonder gevoelig vir hitte is naamlik die lewer (Hoofstuk 6).

## HOOFSTUK 3

DIE IN VITRO-HITTETOLERANSIE VAN WEEFSELS

## 3.1 INLEIDING

Die hittetoleransie van verskillende selsoorte van hoër diere verskil, en gevolglik sal sommige selsoorte reeds by 'n relatiewe klein verhoging bo die normale liggaamstemperatuur afsterf (Fuhrman & Field, 1942; Field et al., 1944; Fuhrman & Field, 1945; Fuhrman et al., 1950). Die beskadigde selle mag toksiese stowwe vrystel, wat 'n nadelige uitwerking op die ander selle wat minder gevoelig vir hitte is het (Heilbrunn et al., 1946; Chaet, 1956), of dit mag, bvvoorbeeld deur 'n elektrolietwanbalans, 'n nadelige milieu vir ander selle skep (Bale et al., 1968). Ook het Malamud et al. (1946) in hulle studie van die patologie van hittesteekpasiënte daarop gewys dat party weefsels direk deur die verhoging in liggaamstemperatuur beskadig word, terwyl veranderinge in ander weefsels weer aan skok toegeskryf moet word. Hierdie feite bring mee dat die selsoort wat primêr deur die

verhoging in temperatuur beskadig is, nie deur in vivo-eksperimente bepaal kan word nie.

In die huidige reeks proewe is gevolglik die relatiewe hittetoleransie van geïsoleerde weefsels bestudeer, ten einde hierdie probleem te probeer oplos. By in vitro-studies word sekondêre effekte, soos vorming van toksiese stowwe en die invloed daarvan op ander sel-tipes, uiteraard uitgeskakel alhoewel hulle in vivo van groot belang mag wees.

### 3.2 PARAMETER OM HITTEBESKADIGING BY WEEFSELS IN VITRO TE MEET

'n Ideale parameter sou een wees wat weefselbeskadiging sal aantoon, afgesien wat die meganisme van beskadiging ookal mag wees, veral omdat die meganisme(s) waardeur weefsels deur hitte beskadig word, nog glad nie ontrafel is nie. Die meting van die suurstofopname van weefsels met behulp van die Warburg-tekniek blyk vir soogdierweefsels 'n aanvaarbare metode te wees. Martin & Fuhrman (1955) het byvoorbeeld bewys dat die in vitro-suurstofopname 'n goeie benaderde

waarde van metabolismesnelheid in vivo gee. Dié na-  
 vorsers het naamlik die somtotaal van die weefsels se  
 respirasie bepaal en dit vergelyk met die metabolisme=  
 snelheid van die hele dier. In die muis is gevind dat  
 die somtotaal van die weefsels se respirasie 72,1% van  
 die metabolismesnelheid van die hele dier en in die  
 hond 105,5% bedra. Alhoewel hierdie waardes uiteen=  
 lopend voorkom, demonstreer dit tog dat die in vivo-  
 en die in vitro-metabolismesnelheid van dieselfde orde  
 is, veral as in gedagte gehou word dat met die in  
vitro-proewe slegs verteenwoordigende monsters van die  
 meeste weefsels geneem kon word. Wat meer is, as die  
 weefsels van die hond in vitro teen dieselfde snelheid  
 as die weefsels van die muis respireer dan behoort die  
 somtotaal van die weefsels se respirasie van die hond  
in vitro etlike honderde maal meer te wees as wat ver=  
 klaar sou kon word deur die metabolismesnelheid in  
vivo. In die lig hiervan is besluit om suurstofopna=  
 me as indikasie van weefselbeskadiging vir hierdie in  
vitro-eksperimente te gebruik.

### 3.3 MATERIAAL EN TEGNIEK

Albinorotte (*Rattus norvegicus*) wat vir 24 uur voor die proef gevas is, is gebruik. Die rotte het omtrent 250 g geweeg, behalwe in die geval waar diafragmaweefsel en digitorumspiertjies bestudeer is, in welke gevalle die rotte omtrent 100 g geweeg het.

Die direkte Warburg-tegniek is gebruik om die suurstofopname te meet (Umbreit et al., 1964). Die inkubasiemedium se samestelling word in Tabel 1 uiteengesit.

Die opstelling van 'n proef het gewoonlik as volg verloop: Die diere is onthoof, die organe dadelik verwyder en in Petri-bakkies op ys geplaas. Die weefsels wat vir die bepaling van die temperatuurinvloed op die suurstofopname en die voorbereidingsprosedure van die weefsels gebruik, word in Tabel 2 uiteengesit.

Die weefselstukkies is vlugtig op 'n filtreerpapier (Whatman No. 44) geklad, vinnig met 'n torsieskaal geweeg en dan in die suspensiemedium in die reaksieflesies, wat voortdurend op ys gehou word, geplaas. Omtrent 100 mg weefsel is per fles, waarin 3 ml medium was, gebruik. Nadat die weefselstukkies in die reaksie-

TABEL 1 : SAMESTELLING VAN SUSPENSIEMEDIUM<sup>x</sup>

Substans	Finale konzentrasie (mM)
Natriumchloried	113,85
Kaliumchloried	4,79
Magnesiumsulfaat	1,20
Kaliumdiwaterstoffosfaat	1,20
Natriumfosfaatbuffer (pH 7,4)	4,67
100 dele dinatriumwaterstoffosfaat (0,1 M)	
25 dele natriumdiwaterstoffosfaat (0,1 M)	
Natriumpiruvaat	5,00
Natriumfumaraat	5,45
Natrium-L-glutamaat	5,00
Glukose	11,67
Kalsiumchloried	1,28

<sup>x</sup>Webb et al. (1949), Krebs (1950)

TABEL 2 : WEEFSELS GEBRUIK VIR DIE BEPALING VAN DIE TEMPERATUURINVLOED  
OP SUURSTOFOPNAME

Weefsel	Metode van bereiding	Verwysing
Serebrale korteks	Skeermeslemmetjie en Lucite-templaaf	Field (1948)
Hipotalamus	"	"
Breinstam (-) medulla oblongata	"	"
Medulla oblongata	"	"
Serebellum	"	"
Timus	"	"
Long	Vryhand gesny	-
Milt	Mikrotoom	Stadie & Riggs (1944)
Lewer	Instrument van Martin	Martin (1942)
Adduktorspierrepies	Spier gepluis	Hollinger <i>et al.</i> (1949)
Diafragma	Helftes geknip	-
Digitorspiertjies	Heel gebruik	Weiss (1957)
Hart (linker ventrikel= wand)	Mikrotoom	Stadie & Riggs (1944)
Nierkorteks	"	"
<sup>x</sup> Vel	Van dorsale oppervlakte van agterpote geslag	Fuhrman & Fuhrman (1957)
<sup>xx</sup> Dunderm (jejenum)	Stukkies geknip met 'n skêr	-

<sup>x</sup>Om kontaminasie deur oppervlak mikro-organismes te verminder is die pote vooraf in 'n 1% waterige oplossing van Cetovlon (ICI South Africa Pharmaceuticals) gewas, deeglik afgespoel met afgekoelde gekookte gedefloniseerde water en dan gedroog.

<sup>xx</sup>Die dundermstukkies is herhaaldelik in Ringeroplossing (960 ml NaCl (0,9%), 20 ml KCl (1,15%), 20 ml CaCl<sub>2</sub> (1,22%)) gewas voor dit gebruik is vir die suurstofopname.

sieflessie geplaas is, is hulle aan die manometers gekoppel. 'n Reaksiefles aan 'n manometer vorm 'n barometer. Die lug is uit die barometer met 100% medisinale suurstof verplaas. Nadat die barometer met suurstof gevul is, is dit van die atmosfeer afgesluit. Hierna is die barometer so aan die Warburg-apparaat gekoppel dat die reaksieflessies in die water van die waterbad hang. Die ekwilibrasieperiode was 15 minute en die snelheid van suurstofopname is elke 10 minute vir 60 minute aangeteken.

Drie waterbaddens is vir elke proefopstelling gebruik. Een is by 38°C (kontrole) en die ander by bo-normale temperature gehou.

Die suurstofopname is as  $Q_{O_2}$  (nat gewig) ( $\mu l O_2$  opgeneem per mg weefsel per uur) weergegee.

Vir die statistiese verwerking van resultate is 'n t-toets gebruik. Deurgaans is 'n beduidendheidsvlak van 95% gehandhaaf. (NB. Dit geld ook vir al die ander hoofstukke.)

### 3.4 RESULTATE EN BESPREKING

Die suurstofopname van die verskillende weefsels by die verskillende temperature met verloop van tyd oor 60 minute is in Tabel 3 weergegee.

Dit gaan in hierdie hoofstuk daarom om die relatiewe hittegevoeligheid van die weefsels vas te stel. Dit is duidelik dat daar verskillende kriteria aangelê kan word om hierdie relatiewe gevoeligheid te bepaal. Elk van die metodes wat aangewend kan word vir vergelyking sal nou afsonderlik bespreek word:

(i) As eerste kriterium kan die laagste temperatuur genoem word waarby 'n statisties beduidende daling in die suurstofopname oor die inkubasieperiode van 60 minute voorkom, in vergelyking met die suurstofopname oor die eerste 10 minute. Die relatiewe hittegevoeligheid, uitgaande van hierdie kriterium, word in Tabel 4 weergegee, getabelleer op grond van die temperatuur.

(ii) 'n Verdere weergawe van relatiewe hittetoleransie kan byvoorbeeld verkry word deur die suurstofop-

TABEL 3 : DIE  $Q_{O_2}$  VAN WEEFSELS IN VITRO BY VERSKILLENDE TEMPERATURE MET VERLOOP VAN TYD<sup>x</sup>

Weefsel	Temperatuur (°C)	$Q_{O_2}$					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Serebrale korteks	38	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
	41	2,92	3,15	2,85	3,10	2,95	2,78
	42	3,30	3,15	2,85	2,75	2,57	2,45
	43	3,30	3,15	2,70	2,20	2,08	1,79
	44	3,86	3,15	2,55	2,10	1,75	1,35
	48	2,45	1,18	0,75	0,75	0,45	0,25
Hipotalamus	38	2,40	2,40	2,40	2,40	2,40	2,40
	41	3,25	3,25	3,05	3,18	3,10	2,85
	42	3,32	3,38	3,18	3,18	3,18	2,89
	43	3,45	3,30	3,05	2,75	2,50	2,45
	44	3,38	3,30	3,05	2,25	2,10	2,10
	48	2,40	0,95	0,55	0,55	0,45	0,25
Breinstam <u>minus</u> medulla oblongata	38	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	41	2,35	2,28	2,20	2,36	2,30	2,25
	42	2,45	2,55	2,55	2,40	2,30	2,25
	43	2,65	2,45	2,45	2,40	2,30	2,25
	44	2,95	2,65	2,55	2,18	2,13	1,85
	48	2,92	3,18	1,85	1,75	1,65	1,25
Medulla oblongata	38	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
	41	2,65	2,55	2,47	2,42	2,48	2,52
	42	2,52	2,42	2,32	2,22	2,18	2,18
	43	2,50	2,43	2,18	2,19	1,80	1,68
	44	2,35	2,28	2,28	2,06	1,70	1,70

TABEL 3 : VERVOLG

Weefsel	Temperatuur (°C)	O <sub>2</sub>					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Medulla oblongata (vervolg)	45	2,18	2,19	1,82	1,58	1,58	1,12
	48	1,55	0,85	0,55	0,28	0,27	0,24
Serebellum	38	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20
	41	2,75	2,76	2,75	2,87	2,85	2,76
	43	3,42	3,20	3,35	3,18	3,35	3,15
	44	3,95	3,82	3,78	3,58	3,54	3,48
	45	4,15	3,95	3,62	3,45	3,25	1,65
	48	1,95	1,85	0,55	0,58	0,45	0,25
	48	1,95	1,85	0,55	0,58	0,45	0,25
Timus	38	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40
	41	1,48	1,48	1,47	1,55	1,57	1,59
	42	1,55	1,62	1,65	1,65	1,62	1,52
	43	1,75	1,70	1,65	1,58	1,45	1,30
	44	1,65	1,65	1,40	1,15	1,05	0,85
	45	1,48	1,55	1,45	1,05	0,95	0,78
	48	1,25	0,85	0,42	0,28	0,28	0,15
Milt	38	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	41	2,32	2,32	2,33	2,35	2,37	2,38
	42	2,55	2,25	2,18	1,89	1,95	1,25
	43	1,65	2,08	1,92	1,89	1,89	1,18
	48	1,35	0,58	0,47	0,45	0,12	0,10
Long	38	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
	41	1,45	1,45	1,55	1,50	1,55	1,55
	43	1,55	1,55	1,55	1,45	1,35	1,35

TABEL 3 : VERVOLG

Weefsel	Temperatuur (°C)	QO <sub>2</sub>					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Long (vervolg)	45	1,67	1,45	1,45	1,45	1,25	1,25
	46	1,55	1,35	1,28	1,22	0,85	0,69
	48	1,12	0,80	0,45	0,35	0,28	0,05
Lewer	38	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70
	41	4,40	4,10	4,35	4,25	2,97	2,97
	42	4,95	4,95	4,89	4,75	4,58	4,47
	43	5,15	5,05	4,95	4,95	4,85	4,82
	44	6,07	5,92	5,72	5,68	5,68	5,65
	45	6,22	5,37	5,05	4,65	3,65	2,85
	48	3,18	2,95	2,25	1,87	1,38	0,68
Digitorumspiertjies	38	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
	40	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
	41	1,88	1,75	1,75	1,65	1,65	1,60
	42	1,45	1,65	1,55	1,65	1,55	1,18
	43	2,28	1,65	1,35	1,31	1,15	0,75
	48	0,64	0,35	0,32	0,27	0,22	0,22
Nierkorteks	38	5,80	5,80	5,80	5,80	5,80	5,80
	41	7,12	7,08	6,65	6,62	6,45	6,38
	42	7,05	6,75	6,65	6,65	6,25	6,10
	43	6,95	6,75	6,48	6,28	6,18	6,18
	44	7,55	7,35	7,15	6,75	6,80	6,35
	45	6,65	7,35	7,10	6,35	5,85	5,10
	48	4,62	4,42	4,32	3,55	2,85	0,85

TABEL 3 : VERVOLG

Weefsel	Temperatuur (°C)	QO <sub>2</sub>					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Vel	38	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
	42	0,47	0,47	0,43	0,43	0,43	0,43
	43	0,47	0,47	0,43	0,43	0,43	0,43
	44	0,45	0,42	0,40	0,35	0,37	0,37
	45	0,45	0,39	0,40	0,38	0,32	0,28
	48	0,31	0,25	0,16	0,14	0,14	0,12
Diafragma	38	1,90	1,90	1,90	1,80	1,70	1,60
	40	1,98	2,02	1,95	2,01	1,95	1,95
	41	3,05	1,95	1,82	1,87	1,78	1,78
	42	2,55	1,75	1,75	1,72	1,65	1,55
	43	2,35	1,75	1,75	1,45	1,25	1,25
	48	1,65	0,75	0,35	0,19	0,22	0,22
Adduktorspierrepies	38	1,60	1,40	1,30	1,10	0,90	0,70
	40	1,65	1,66	1,69	1,68	1,65	1,63
	41	2,39	1,65	1,45	1,55	1,45	1,55
	42	2,18	1,55	1,55	1,48	1,42	1,35
	43	1,95	1,45	1,55	1,27	1,05	0,98
	48	1,45	0,65	0,35	0,25	0,15	0,15
Hart (linker ventrikelwand)	38	3,50	3,20	3,00	2,60	2,50	2,40
	41	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
	42	3,72	3,85	3,72	3,48	3,38	3,32
	43	3,10	3,00	2,75	2,85	2,75	2,90
	44	3,10	2,92	2,68	2,65	2,80	2,85
	48	1,60	0,88	0,62	0,35	0,29	0,29

TABEL 3 : VERVOLG

Weefsel	Temperatuur (°C)	O <sub>2</sub>					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Dunderm (jejenum)	38	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60
	41	2,15	1,75	1,68	1,60	1,60	1,58
	42	2,65	1,98	1,95	1,85	1,60	1,50
	43	2,25	2,05	1,75	1,45	1,25	1,05
	48	1,38	0,65	0,52	0,42	0,38	0,38

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

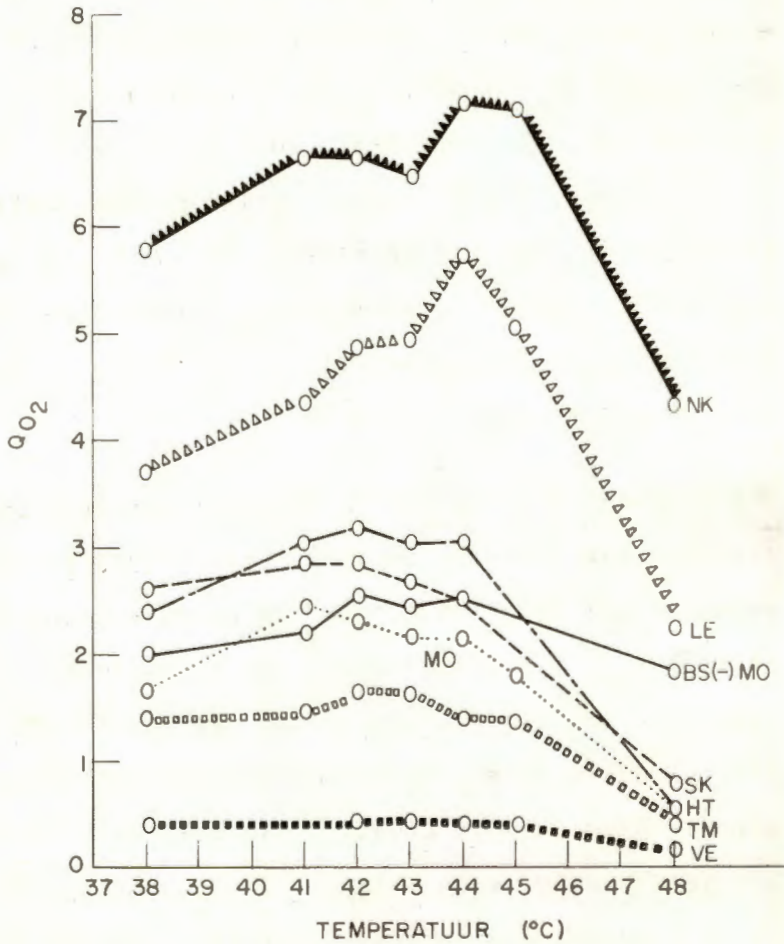
TABEL 4 : DIE RELATIEWE HITTETOLERANSIE VAN DIE VERSKILLENDSE WEEFSELS  
 GEBASEER OP 'N STATISTIESBEDUIDENDE VERSKIL IN SUURSTOFOP=  
 NAME NA 'N INKUBASIEPERIODE VAN 60 MINUTE IN VERGELYKING MET  
 DIE SUURSTOFOPNAME NA 'N INKUBASIEPERIODE VAN 10 MINUTE

Weefsel	Die laagste temperatuur (°C) waarby die statistiesbeduidende verskil aangetoon is
Diafragma	41
*Adduktorspierrepies	41
Digitorumspiertjies	41
Dunderm	41
Nierkorteks	41
Lewer	41
Serebrale korteks	42
Medulla oblongata	42
Milt	42
Hipotalamus	42
Timus	43
Breinstam (-) medulla oblongata	44
Serebellum	44
*Hart	44
Vel	45
Long	45

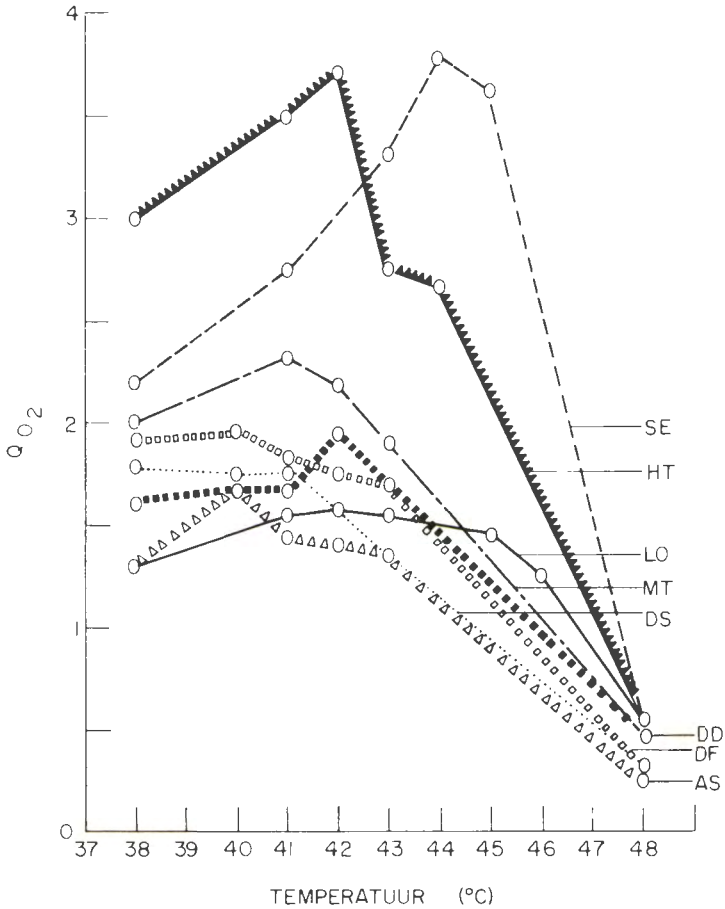
\*Die suurstofopname daal selfs by die kontroletemperatuur van 38°C.  
 (Kyk Tabel 3 en teks bl. 47.)

name van die verskillende weefsels wat by die 30-minuut lesing verkry is by die verskillende inkubasietemPERATURE te vergelyk. Hierdie resultate is grafies in Figuur 1 weergegee. Ook is 'n tabel opgestel (Tabel 5) waar die hittetoleransie van die weefsels weergegee is, gegrond op hierdie figuur. 'n Geleidelike daling in die suurstofopname met toename in temperatuur na 'n inkubasiereperiode van 30 minute is as kriterium gebruik.

Die inkubasiereperiode van 30 minute is gekies omdat omtrent al die weefsels se respirasie by die kontroletemperatuur van  $38^{\circ}\text{C}$  ten minste vir hierdie tydperk konstant bly. Die uitgangspunt vir gevolgtrekkings uit resultate met die Warburg-metode verkry, is dat die kontroleweefsels se suurstofopname konstant moet wees vir die duur van die proef. Dit het vir al die weefseltipes behalwe adduktorspiertjies en hartskyfies gegeld. Adduktorspierrepië en hartskyfies se respirasie bly wel nie konstant by  $38^{\circ}\text{C}$  nie maar daal geleidelik selfs na 'n inkubasiereperiode van 10 minute. Die weefsels is dus nie in 'n fisiologiese staat selfs by die kontroletemperatuur nie. Dit mag die resultate



Figuur 1.1: Die in vitro-suurstofopname van verskillende weefsels na 'n inkubasieperiode van 30 minute by verskillende temperature: NK = nierkorteks; LE = lewer; BS(-)MO = breinstam minus medulla oblongata; MO = medulla oblongata; SK = serebrale korteks; HT = hipotalamus; TM = timus; VE = vel.



iguur 1.2: Die in vitro-suurstofopname van verskillende weefsels na n inkubasiereperiode van 30 minute by verskillende temperature: SE = erebellum; HT = hart (linker ventrikelwand); LO = long; MT = milt; S = digitorumspiertjies; DD = dunderm (jejenum); DF = diafragma; S = adduktorspierrepies.

TABEL 5 : DIE RELATIEWE HITTETOLERANSIE VAN WEEFSELS WAAR 'N GELEIDE-  
 LIKE DALING IN DIE SUURSTOFOPNAME MET TOENAME IN TEMPERATUUF  
 NA 'N INKUBASIEPERIODE VAN 30 MINUTE AS KRITERIUM GEBRUIK IS

Weefsel	Temperatuur waarby progressiewe daling in suurstofopname voorkom (°C)
Diafragma	40
Adduktorspierrepies	40
Digitorumspiertjies	40
Milt	41
Hart	42
Dunderm	42
Serebrale korteks	43
Timus	43
Vel	43
Long	43
Serebellum	44
Lewer	44
Hipotalamus	44
Breinstam (-) medulla oblongata	44
Medulla oblongata	44
Nierkorteks	44

beïnvloed. Die rede vir hierdie geleidelike daling in suurstofopname mag te wyte wees aan die beskadiging van die weefsels se selle tydens die bereidingsprosedure.

(iii) Die optimum temperatuur kan ook as 'n kriterium gebruik word, om die hittetoleransie van weefsels te omskryf.

Uit Tabel 3 is dit duidelik dat die suurstofopname van alle weefsels aanvanklik styg tot 'n maksimum en dan daal. Dit is 'n kenmerk van biochemiese reaksies, naamlik dat 'n mildelike verhoging in temperatuur die reaksiesnelheid verhoog totdat 'n maksimum snelheid bereik word. Volgens Rahn (1941) word die temperatuur waarby die maksimum reaksiesnelheid plaasvind, die optimum temperatuur genoem. Enige verdere toename in temperatuur lei egter daartoe dat die metabooliese aktiwiteit faal, en tensy die sisteem afgekoel word, sal die sel doodgaan by 'n temperatuur slegs 'n paar grade bokant die optimum temperatuur.

Volgens die beskrywing van die optimum temperatuur hierbo, sou geredeneer kan word dat hoe laer die opti=

imum temperatuur is, hoe meer gevoelig die weefsel vir verhoging in temperatuur is. 'n Tabel is gevolglik saamgestel waar die optimum temperature van die verskillende weefsels weergegee word na verskillende inkubasieperiodes (Tabel 6). (Die hoogste temperatuur by die betrokke punt is aangeteken.)

### 3.5 ALGEMENE BESPREKING

Hierbo is verskeie tabelle opgestel wat die relatiewe hittetoleransie van die weefsels weergee, elkeen gebaseer op 'n eie kriterium vir vergelyking. As die resultate in hierdie tabelle in sy geheel beskou word, is dit veral duidelik dat die relatiewe hittetoleransie van weefsels nie dogmaties beskryf kan word nie maar dat verskillende benaderings verskillende antwoorde gee.

Uit die literatuur is die resultate verkry met die meting van die suurstofopname met behulp van die direkte Warburg-metode by verhoging in temperatuur van serebrale korteks-, lewer- en hartskyfies van rotte, vers toepasbaar op die huidige ondersoek se resultate, aar

TABEL 6 : DIE OPTIMUM TEMPERATURE VAN DIE VERSKILLENDE WEEFSELS NA VERSKILLENDE INKUBASIEPERIODES

Weefsel	Optimum temperature (°C)					
	Inkubasieperiodes (min)					
	10	20	30	40	50	60
Medulla oblongata	41	41	41	41	41	41
Diafragma	41	40	40	40	40	40
Adduktorspierrepies	41	40	40	40	40	40
Milt	42	41	41	41	41	41
Hart	42	42	42	41	41	41
Dunderm	42	43	42	42	42	38
Hipotalamus	43	42	42	42	42	42
Timus	43	43	43	42	42	41
Digitorspiertjies	43	38	38	38	38	38
Vel	43	43	43	43	43	43
Serebrale korteks	44	44	42	41	41	41
Breinstam (-) medulla oblongata	44	48	44	43	43	43
Nierkorteks	44	45	44	44	44	44
Serebellum	45	45	44	44	44	44
Long	45	43	43	41	41	41
Lewer	45	44	44	44	44	44

gesien hierdie tegniek ook in die huidige ondersoek gebruik is. Hierdie literatuurgegewens is dus 'n aanvaarbare vergelykingsbasis vir die resultate bespreek in hierdie hoofstuk. Die volgende drie gevalle sal bespreek word:

(i) Field et al. (1944) het die suurstofopname van serebrale korteks by 37,5, 40, 42,5, 45 en 47,5°C gemeet oor 105 minute met 15 minute intervalle. Na 'n inkubasieperiode van 15 minute is die maksimum suurstofopname by 45°C gevind en na 30 minute by 40°C. Dié waardes vergelyk met dié in Tabel 6 weergegee, dui daarop dat in die eerste geval 'n hoër hittetoleransie en in die tweede geval 'n laer hittetoleransie as wat in die huidige ondersoek gerapporteer is, gevind is. Die kwantitatiewe verskil is moeilik te verklaar en kan moontlik as gevolg van 'n verskil in preparate wees, weens bereidingsmetode, of weens 'n verskil in die kriterium wat vir beskadiging aangelê is.

(ii) Fuhrman & Field (1945] het weer die suurstofopname van rotleweskyfies vir temperature van 0 tot 45°C met 0,2°C intervalle gemeet. Die resultate is sodanig gegee dat die  $Q_{O_2}$  verkry na 'n inkubasieperiode van 10

minute nie naastenby vergelyk kon word nie maar na 'n 30 minute inkubasieperiode is gevind dat die  $Q_{O_2}$  die hoogste is by  $45^{\circ}C$ , die hoogste temperatuur ondersoek. In die huidige projek (Tabel 6) is die hoogste  $Q_{O_2}$  by  $44^{\circ}C$  gevind.

(iii) Fuhrman et al. (1950) het weer oor die hittegevoeligheid van rothartskyfies gerapporteer. Die suurstofopname is van 10 tot  $42,5^{\circ}C$  met omtrent  $5^{\circ}C$  intervale bepaal. Die maksimum suurstofopname is by  $+38^{\circ}C$  gevind, veel laer as in die huidige ondersoek gerapporteer (Tabel 6).

Uit bogenoemde blyk die kompleksiteit van die probleem ten opsigte van 'n geskikte vergelykingsbasis vir die relatiewe hittetoleransie van weefsels wat in hierdie ondersoek gebruik is enersyds, en andersyds die probleem ten opsigte van die vergelyking van die resultate van hierdie ondersoek met gegewens in die literatuur. As egter enige kriterium, soos byvoorbeeld in Tabel 6 weergegee, as uitgangspunt gebruik word, kan daar 'n spesifieke patroon vasgestel word. Die vraag ontstaan egter watter van hierdie weefsels beskadig sou kon wees tydens 'n toestand van hittesteek. As

in aanmerking geneem word dat die rot net vir 30 minute by 'n liggaamstemperatuur van  $43^{\circ}\text{C}$  leef (Hoofstuk 4, bl. 61), is dit duidelik dat die meeste van die weefsels wat ondersoek is, beskadig word en 'n rol kan speel in die ontstaan van die dood tydens hipertermie.

Volgens Tabel 6 wil dit dus voorkom of skeletspier eerste beskadig word. Dat skeletspier tydens hittesteek beskadig word, is deur Bale et al. (1968) beklemtoon. Dié navorsers is ook van mening dat skeletspiernekrose tydens hittesteek ernstige versteuring van die elektrolietbalans kan teweegbring.

Van die ander organe wat tydens hittesteek beskadig mag word, soos hierbo beredeneer en in Tabel 6 weergegee is, is die serebrale korteks en die hart moontlik van die grootste belang.

Dat die serebrale korteks (Malamud et al., 1946) en die hart (Kew et al., 1969) wel tydens hittesteek beskadig word, lei geen twyfel nie, maar die belangrikheid van elkeen in die ontstaan van die dood bly 'n vraagstuk.

Deur die drie weefsels, naamlik skeletspier, serebrale korteks en hart as voorbeeld te gebruik, is dit duidelik dat serebrale korteks, in die rot in elk geval, nie noodwendig eerste tydens hittesteek beskadig word nie en dat die primêre oorsaak van die dood tydens hittesteek ver verwyder van die brein (serebrale korteks) mag lê.

Dit bring 'n verdere moontlikheid na vore en dit is naamlik dat die weefsels in vivo tydens hittesteek beskadig anders beskadig kan word as in vitro gevind, juis vanweë die op mekaar inwerkende invloede.

Dit sou dus nodig wees om ook die intaktheid van die weefsels in vitro te toets nadat die dier aan hipertermie blootgestel is. Hierdie ondersoek is dan die onderwerp van die volgende hoofstuk.

## HOOFSTUK 4

## WEEFSELS BESKADIG TYDENS HITTESTEEK

## 4.1 INLEIDING

Soos reeds in die inleiding van Hoofstuk 3 daarop gewys is, blyk dit uit die literatuur dat sekere weefsels van hoër diere tydens hittestEEK spesifiek deur die verhoogde liggaamstemperatuur beskadig word, terwyl ander weefsels sekondêr beïnvloed mag word. In in vivo-studies is dit dus baie moeilik om die weefsels wat primêr beskadig word, te lokaliseer. Die tabelle wat in Hoofstuk 3 opgestel is vir die relatiewe hittetoleransie van die weefsels mag dus nie die situasie in vivo weerspieël nie. Dit is waarskynlik uit die oogpunt van hipertermie meer van belang om te bepaal watter weefsels in die liggaam tydens die toestand van hipertermie beskadig word. Die verband tussen die in vitro-gegewens en die in vivo-gegewens kan daarna meer konkreet vasgestel word. In hierdie hoofstuk is dus ondersoek ingestel na die weefsels wat beskadig is, na verhitting van die intakte dier. Weer

is die suurstofopname van die weefsels van die verhitte diere in vitro vergelyk met die suurstofopname van die weefsels van kontrolediere met behulp van die Warburg-tegniek. Deur die verhittingsperiode van die diere te varieer is gepoog om so 'n aanduiding te kry van die hittegevoeligste weefsels.

'n Tweede tegniek wat toegepas is om 'n aanduiding te kry van die relatiewe hittetoleransie van weefsels in vivo het die meting behels van die aktiwiteit van sekere ensieme in die serum asook die bepaling van die serum iso-ensiempatroon van sommige ensieme van verhitte en kontrolediere. Die beginsel wat betekenis aan hierdie metings verleen, is dat elke weefselsoort sy eie ensiem- en iso-ensiempatroon het. Met beskadiging van die weefselsoort diffundeer hierdie ensieme en iso-ensieme in die serum in en dié word dan gemeet (Schmidt & Schmidt, 1967). Hier is ook weer die verhittingsperiode gevarieer in 'n poging om die weefselsoort(e) wat die vroegste beskadig word te lokaliseer.

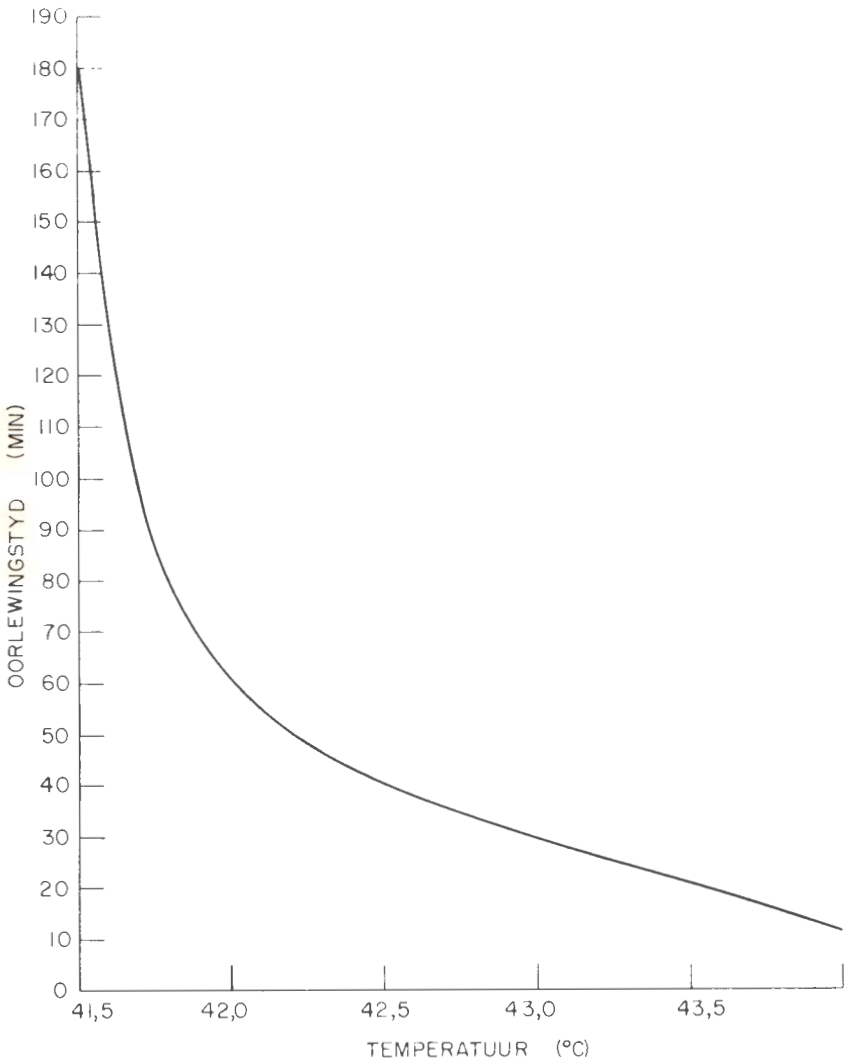
#### 4.2 DIE PROEFDIERE

Witrotte met 'n liggaamsgewig van omtrent 250 g is ge-

bruik behalwe in die gevalle waar diafragmaweefsel en digitoriumspiertjies bestudeer is, in welke gevalle die rotte omtrent 100 g geweeg het. Voordat die proefdiere gebruik is, is hulle vir 24 uur gevas.

#### 4.3 DIE INDUKSIE VAN HIPERTERMIE

Hipertermie is in die proefdiere geïnduseer deur hulle in 'n gaasdraadkou te plaas en dan gedeeltelik in 'n waterbad, waarvan die temperatuur  $42^{\circ}\text{C}$  was, te verhit tot 'n rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$  (E-rot). Die rot is dan so gemanipuleer dat die rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$  vir die vereiste tydperk gehandhaaf is voor die proefdier gedood is. Die rektale temperatuur is aanvanklik en daarna met kort intervalle met behulp van 'n teletermometer gemeet. 'n Rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$  is gekies nadat 'n oorlewingskurwe vir die proefdiere getrek is. (Die graad van hipertermie is teenoor die oorlewings tyd uitgesit (Figuur 2).) Daar sal opgelet word dat veral om en by  $42,5^{\circ}\text{C}$  iets dras= ties verkeerd gaan in die dier, geoordeel aan die heling van die kurwe.



Figuur 2: Die oorlewings tyd vir rotte by verskillende rektale temperatuur. Stopsetting van asemhaling is as eindpunt aanvaar. Die kenmerkendste simptome was aanvanklik vinnige asemhaling wat net voor die dood ingetree het oorgegaan het in krampagtige asemhalingsbewegings. Daar was ligte rukkewegings in die voorpote waargeneem en die bloedvoorsiening na die gesig het verander; eers was die neus rooi maar selfs voor die krampagtige asemhalingspogings het dit blou begin word. Verskeie kere was rotte uit koue gehaal net sodra die beoogde liggaamstemperatuur bereik is en sonder uitsondering is gevind dat by 42°C en hoër die agterpote verlam was.

#### 4.4 DIE KONTROLEDIERE

In hierdie proewe is altyd twee kontrolerdiere vir elke verhitte dier gebruik. Een rot is by kamertemperatuur in 'n draadhok gehou en gedood tesame met die verhitte rot. Hierdie kontrolerotte sal in die gevolg K-rotte genoem word. 'n Ander kontrolerot, nl. die Kw-rot, is in 'n gaasdraadkou geplaas en dan gedeeltelik in 'n waterbad waarvan die temperatuur  $37^{\circ}\text{C}$  was, gedompel en in die waterbad gehou vir dieselfde duur as die E-rot. Die rektale temperatuur van hierdie rot (Kw-rot) is ook met behulp van 'n teletermometer gemeet en sorg is gedra dat die liggaamstemperatuur nie van die normale, dit wil sê die aanvanklik gemete liggaamstemperatuur, afwyk nie.

#### 4.5 METING VAN DIE SUURSTOFOPNAME

In hierdie reekse proewe is die E-, K- en Kw-rot vir elke proef tesame gedood, die spesifieke weefsel wat bestudeer wil word, verwyder, en die suurstofopname dan by  $38^{\circ}\text{C}$  met behulp van die direkte Warburg-tegniek bepaal, soos in Hoofstuk 3 uiteengesit.

Voordat die suurstofopname van die verskillende weefsels egter bepaal was, is eers ondersoek ingestel na 'n geskikte verwysingsbasis om reaksiesnelheid in weer te gee, aangesien die weefsels van die verhitte diere patologies kan wees en die verwysingsbasis van 'n gewig nat weefsel, soos in die in vitro-proewe gebruik, nie hier geldig mag wees nie. Gevolglik sal eers die ondersoek na 'n geskikte verwysingsbasis uiteengesit word en dan sal snelheid van suurstofopname van verskillende weefsels, weergegee in terme van die gekose verwysingsbasis, gerapporteer word.

#### 4.5.1 Verwysingsbasis vir snelheid in suurstofopname

In Hoofstuk 2 is gewys op die patologiese veranderinge wat in die weefsels optree tydens hittesteek. Volgens definisie (bl. 8) sou slegs die diere wat gedood is net voordat die dood sou intree, by die uiterste toestand van hipertermie, beskryf kan word as hittesteekdiere. Alhoewel die patologiese veranderinge wat by die weefsels van rotte dan sou plaasvind, nie bekend is nie, blyk uit die literatuur dat daar wel veranderinge mag plaasvind. Die patologiese verande-

ringe wat vroeg tydens hipertermie by die weefsels in-tree, is voorasnog nie bestudeer nie, maar veranderinge is nie uitgesluit nie. Patologiese veranderinge wat veral die normaal funksionele selpopulasie per eenheidsgewig weefsel verander, kan die snelheid van suurstofopname nadelig beïnvloed, omdat die snelheid van suurstofopname in die eerste instansie berus op die aantal intakte selle per eenheidsgewig van die spesifieke weefsel. Daar is dus veral parameters gebruik om die aktiewe weefsel en selpopulasie te evalueer.

#### 4.5.1.1 Persentasie droë gewig

Edeem en kongestie kom voor in die weefsels van diere en mense wat akuut beïnvloed is deur hitte (Hall & Wakefield, 1927; Baldwin & Nelson, 1928; Jacobsen & Hosoi, 1931; Hartman & Major, 1935; Barry & King, 1962). Om die moontlike invloede van sulke veranderinge te bepaal is die droë gewigte van die weefsels van kontrole- en verhitte diere noukeurig bepaal. Dit is gedoen deur die weefsels tot 'n konstante gewig by 108°C in 'n oond te droog.

Die resultate is in Tabel 7 opgesom. Volgens hierdie resultate is daar geen verskil in die droë gewigte van die weefsels van kontrole- en verhitte diere nie, met ander woorde hiervolgens kan mg nat gewig weefsel, net so wel as mg droë gewig weefsel as verwysingsbasis gebruik word.

Volgens Field et al. (1939) is dit ook duidelik dat die  $QO_2$  van 'n verskeidenheid van rotweefsels nie meer varieer as dit bereken is per mg nat gewig weefsel in plaas van per mg droë gewig weefsel nie. In die algemeen moet droë gewig as verwysingsbasis vir reaksiesnelheid in weefsels versigtig toegepas word. Dit help wel om abnormale voginhoud in weefsels op te spoor. As vir die voginhoud gekorrigeer word bring dit mee dat die reaksiesnelheid meer in terme van eenheids-"aktiewe" weefsel weergegee word. Tog kan onaktiewe substansie soos byvoorbeeld glikogeen asook variasie in anorganiese en ander organiese substansie tot die droë gewig bydra (Umbreit et al., 1964) en so aanleiding gee tot verkeerde interpretasies.

TABEL 7 : DIE DROË GEWIGTE EN PROTEÏENINHOUD VAN WEEFSELS VAN KONTROLE- EN VERHITTE DIERE<sup>x</sup>

Weefsel	Droë gewig (%)			Proteïeninhoud (mg per g nat gewig weefsel)		
	K	Kw	E	K	Kw	E
Duur van hipertermie : 40 min						
Serebrale korteks	22,3	22,5	22,4	107	108	107
Hipotalamus	22,0	21,4	21,9	107	107	107
Breinstam (-) medulla oblongata	25,2	25,3	25,4	106	107	108
Medulla oblongata	30,5	29,3	28,8	110	110	110
Serebellum	22,7	22,7	22,8	107	107	107
Timus	25,7	25,7	25,5	115	115	115
Long	24,6	24,4	24,7	158	160	162
Milt	23,8	23,5	24,0	197	189	187
Lewer	30,7	30,8	30,5	216	216	216
Adduktorspierrepies	24,3	24,5	24,9	139	149	143
Diafragma	21,9	22,7	22,3	192	188	193
Digitorspiertjies	28,3	28,4	28,4	145	145	144
Hart (linker ventrikelwand)	23,6	23,7	23,3	155	155	158
Nierkorteks	24,7	25,0	25,5	149	151	179
Vel	31,7	30,8	30,9	204	204	204
Dunderm (jejenum)	22,2	22,1	22,1	107	104	108
Duur van hipertermie : 20 min						
Timus	25,7	25,6	25,5	115	115	115
Long	19,2	20,1	20,5	166	165	164
Milt	23,4	22,6	22,6	193	179	178
Lewer	31,6	31,7	31,1	215	217	220
Adduktorspierrepies	24,8	24,0	24,6	191	190	196

TABEL 7 : VERVOLG

Weefsel	Droë gewig (%)			Proteïeninhoud (mg per g nat gewig weefsel)		
	K	Kw	E	K	Kw	E
Diafragma	21,7	22,1	22,0	188	188	189
Digitumspiertjies	28,0	28,0	28,0	145	145	144
Hart (linker ventrikelwand)	23,1	22,8	23,3	170	167	170
Nierkorteks	24,1	24,5	25,8	179	178	197
Dunderm (jejenum)	21,0	21,5	22,0	160	159	161
Duur van hipertermie : 10 min						
Milt	22,8	22,4	22,4	196	189	192
Lewer	30,4	29,9	29,6	218	219	221
Digitumspiertjies	28,4	28,1	28,8	148	149	150
Nierkorteks	24,3	24,1	24,7	184	180	202
Dunderm (jejenum)	21,5	21,7	22,1	167	166	169
Duur van hipertermie : 5 min						
Milt	23,6	23,1	23,0	194	184	186
Lewer	30,5	30,0	29,8	213	215	212
Digitumspiertjies	28,1	28,5	28,6	146	143	145
Dunderm (jejenum)	21,0	21,5	21,9	164	160	165

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

#### 4.5.1.2 Proteïeninhoud

Die proteïeninhoud as verwysingsbasis word gewoonlik gebruik as weefsels se metabolismesnelheid vergelyk word. Dit is dan ook hier ondersoek. Die proteïeninhoud van die weefsels is met behulp van 'n Kjeldahl-metode bepaal.

Die resultate is in Tabel 7 opgesom. Hieruit blyk dit dat die weefsels se proteïeninhoud van die kontrole- en verhitte diere nie verskil nie behalwe in die geval van nierweefsel waar 'n toename per eenheidsgewig-weefsel waargeneem is. Hierdie toename kan nie uit die huidige werk verklaar word nie maar dit is interessant om te verneem dat Baldwin & Nelson (1928) gevind het dat in hittesteekrotte proteïenryke metaboolies onaktiewe materiaal in die Kapsel van Bowman presipiteer. Korreksie vir die toename in proteïeninhoud in verhitte diere se nierweefsel om metabolisemaktiwiteit met dié van die kontrolediere te vergelyk is dus moontlik nie geregverdig nie.

#### 4.5.1.3 DNA-inhoud

Boivin et al. (1948) en Mirsky & Ris (1949) was die eerste persone om te bewys dat die DNA in kerne van selle met dieselfde ploïdie in alle weefsels van 'n diersoort dieselfde hoeveelheid is. Dit beteken dat die hoeveelheid DNA konstant is vir verskillende selle van dieselfde dier en die waarde van dié konstante is kenmerkend van elke diersoort. Dit is bevestig deur Vendrely & Vendrely (1948, 1949) wat die selle van 'n verskeidenheid beesorgane vergelyk het en gevind het dat die selle dieselfde DNA-inhoud het wat twee keer meer was as vir spermatozoa. Davidson & Leslie (1950) was die eerste navorsers wat DNA-inhoud van organe gebruik het om seldeling te meet en as 'n standaardverwysing te gebruik vir selaktiwiteit in normale groei, differensiasie en in die prosesse van regenerasie en verval. Hierna is dit inter alia gebruik deur Tucker & Reece (1962) en Moon (1962) om die veranderinge in die aantal selle in melkkliere tydens swangerskap en laktasie te meet; deur Cerecedo & Bresnick (1961) om die toename in selgetalle tydens leukemie op te spoor; deur Espert & Isler (1965) om

die ploëdie van follikulêre selle van tiroëd te ontdek en deur Zamenhof et al. (1968) om die aantal selle in die brein te meet.

Die resultate van die huidige proewe is in Tabel 8 opgesom. Daar is gevind dat daar geen verskil is in die DNA-inhoud van die weefsels van die kontrole- en verhitte diere nie. Dit beteken dat as die selle tydens hipertermie beskadig is, dit nie van so 'n aard is dat die aantal beskadigde selle met die meting van die DNA-inhoud weerspieël word nie.

#### 4.5.1.4. Saamgepakte mitochondriavolume

Saamgepakte mitochondriavolume is bepaal soos beskryf deur Klein & Neff (1960). Dat 'n bepaling van die saamgepakte mitochondriavolume 'n aanduiding van veral beskikbare aktiewe substans vir oksidasie en elektrontransport per eenheidsgewig normale weefsels gee, is deur Klein & Neff (1960) beklemtoon. Onder abnormale toestande sal die saamgepakte mitochondriavolume kan verander deur verandering in die hoeveelheid mitochondria en/of verandering in volume. Wat die oor=

TABEL 8 : DNA-INHOUD EN SAAMGEPAKTE MITOCHONDRIAVOLUME VAN LE-  
 WERWEEFSEL VAN KONTROLE- EN VERHITTE DIERE<sup>x</sup>

Verwysingsbasis	K	Kw	E
mg P-DNA/g nat gewig	0,192	0,199	0,209
Saamgepakte mitochondriavolume (%)	4,5	4,4	4,1

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

saak van 'n verandering in mitochondriavolume ookal mag wees, die vasstelling of so 'n verandering wel tydens hipertermie plaasvind, sou kan help om die metaboliese resultate meer sinvol te interpreteer.

Die resultate in hierdie ondersoek verkry, is in Tabel 8 opgesom. Hieruit blyk dit egter dat die saamgepakte mitochondriavolume van lewerweefsel van kontrole- en verhitte diere nie verskil nie.

#### 4.5.1.5 Gevolgtrekkings

Uit die ondersoek na die verwysingsbasis blyk dit dat die droë gewigte en totale proteïeninhoud van al die weefsels wat bestudeer is, nie betekenisvol verskil by die kontrole- en verhitte diere nie. 'n Uitsondering is die toename wat gevind is in die proteïeninhoud van verhitte diere se nierkorteks. Die bevinding is bespreek. 'n Verdere ondersoek na die DNA-inhoud en saamgepakte mitochondriavolume van die lewer van kontrole- en verhitte diere verskil ook nie. Aangesien nat gewig 'n betroubare verwysingsbasis vir reaksiesnelheid van normale weefsels blyk te wees (Field et

al., 1939) en die parameters wat hier ondersoek is nie verskil in die verskillende weefsels nie, behalwe vir die proteïeninhoud van die nier, is gevolglik besluit om nat gewig as verwysingsbasis te gebruik om die snelheid van suurstofopname van weefsels na hipertermie weer te gee.

#### 4.6 DIE SUURSTOFOPNAME VAN WEEFSELS IN VITRO VAN KONTROLE- EN HIPERTERMIESE DIERE

In hierdie reeks proewe is 'n verskeidenheid van weefsels van verhitte (E) en kontrole- (K en Kw) diere in vitro by 38°C oor 60 minute bepaal. Die snelheid van suurstofopname is in terme van nat gewig weergegee.

Die resultate is in Tabel 9 weergegee. Die weefsels wat getoets is vir beskadiging na 'n verhittingsperiode van die intakte dier vir 40 minute was dieselfde as dié in vitro (Hoofstuk 3) bestudeer. Watter weefsels in hierdie uiterse toestande van hipertermie beskadig is, bring 'n verdere vraag mee, naamlik hoe die resultate geïnterpreteer behoort te word. Die benadering van verskil in optimum temperatuur (bl.51) is hier nie geldig nie, want die suurstofopname is vir

TABEL 9 : DIE SUURSTOFOPNAME VAN WEEFSELS IN VITRO VAN KONTROLE- EN HIPERTERMIESE DIERE\*

Weefsel		QO <sub>2</sub> (nat gewig)					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
		Duur van hipertermie : 40 min.					
Serebrale korteks	K	2,60	2,63	2,53	2,48	2,57	2,27
	Kw	2,73	2,66	2,71	2,53	2,73	2,34
	E	2,68	2,58	2,67	2,48	2,66	2,30
Hipotalamus	K	2,42	2,53	2,44	2,18	2,20	2,12
	Kw	2,51	2,65	2,27	2,32	2,08	1,94
	E	2,44	2,84	2,29	2,28	2,22	2,11
Serebellum	K	2,24	2,22	2,23	2,15	2,11	2,16
	Kw	2,12	2,23	2,15	2,05	2,02	2,09
	E	2,34	2,27	2,31	2,18	2,09	2,00
Breinstam (-) medulla oblongata	K	2,00	2,10	2,00	2,10	2,00	2,20
	Kw	2,10	2,20	2,10	2,10	2,20	2,20
	E	2,00	2,00	1,90	2,00	1,90	2,00
Medulla oblongata	K	1,67	1,55	1,43	1,46	1,46	1,34
	Kw	1,61	1,67	1,41	1,57	1,61	1,38
	E	1,37	1,66	1,34	1,62	1,49	1,34
Lewer	K	3,13	3,42	3,05	2,87	2,78	2,73
	Kw	3,37	3,39	2,91	3,07	2,91	2,82
	E	2,49	2,44	2,17	2,21	2,07	2,04
Hart (linker ventrikelwand)	K	3,80	3,44	2,94	2,70	2,53	2,42
	Kw	3,92	3,34	2,73	2,58	2,46	2,41
	E	3,52	2,96	2,49	2,30	2,21	1,99

## BEL 9 : VERVOLG

Weefsel		QO <sub>2</sub> (nat gewig)					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
ng	K	1,27	1,16	1,26	1,25	1,29	1,27
	Kw	1,05	1,20	1,24	1,24	1,22	1,26
	E	0,89	0,91	0,98	0,98	0,91	1,01
erkorteks	K	5,15	5,16	5,30	4,99	4,99	4,68
	Kw	5,21	5,22	5,10	4,87	4,90	4,69
	E	4,55	4,78	4,77	4,64	4,63	4,55
afragma	K	1,37	1,58	1,31	1,34	1,06	1,08
	Kw	1,53	1,43	1,43	1,48	1,19	1,17
	E	1,25	1,22	1,12	1,11	0,81	0,77
lduktorspierrepies	K	0,97	0,79	0,59	0,44	0,32	0,30
	Kw	1,08	0,85	0,64	0,41	0,33	0,26
	E	0,82	0,62	0,35	0,27	0,18	0,22
gitorumspiertjies	K	1,80	1,70	1,60	1,60	1,50	1,50
	Kw	1,90	2,00	2,10	2,20	2,00	2,00
	E	1,10	1,20	1,20	1,30	1,20	1,20
ilt	K	1,06	1,58	1,54	1,52	1,59	1,61
	Kw	1,45	1,41	1,51	1,31	1,38	1,59
	E	0,75	0,63	0,67	0,72	0,53	0,62
imus	K	1,40	1,50	1,40	1,40	1,50	1,60
	Kw	1,60	1,70	1,50	1,60	1,70	1,80
	E	1,30	1,40	1,20	1,20	1,20	1,30

TABEL 9 : VERVOLG

Weefsel		Q <sub>O<sub>2</sub></sub> (nat gewig)					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Dunderm (jejenum)	K	1,59	1,67	1,46	1,66	1,55	1,57
	Kw	1,75	1,81	1,68	1,72	1,54	1,60
	E	1,06	1,30	1,13	1,04	0,86	0,88
Vel	K	-	0,41	-	0,53	-	0,61
	Kw	-	0,40	-	0,48	-	0,62
	E	-	0,42	-	0,45	-	0,52
Duur van hipertermie : 20 min.							
Lewer	K	3,65	3,30	3,57	3,16	3,57	3,13
	Kw	3,76	3,34	3,69	3,33	3,37	3,03
	E	3,11	3,24	3,26	3,07	3,04	2,85
Hart (linker ventrikelwand)	K	3,49	3,16	2,65	2,56	2,51	2,40
	Kw	3,46	2,78	2,34	2,25	2,30	2,40
	E	3,39	2,94	2,42	2,59	2,28	2,36
Long	K	1,67	1,71	1,74	1,51	1,41	1,53
	Kw	1,62	1,43	1,43	1,41	1,45	1,53
	E	1,44	1,47	1,51	1,32	1,45	1,56
Nierkorteks	K	5,74	5,63	5,65	5,45	5,11	5,23
	Kw	6,49	6,01	5,91	5,74	5,66	4,95
	E	5,29	5,34	5,55	5,24	4,74	4,70
Diafragma	K	1,91	1,89	1,89	1,78	1,56	1,74
	Kw	1,88	1,73	1,69	1,57	1,54	1,54
	E	1,88	2,03	1,75	1,95	1,73	1,80

TABEL 9 : VERVOLG

Weefsel		Q <sub>02</sub> (nat gewig)					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Digitorumspiertjies	K	1,64	1,31	1,14	0,84	0,66	0,57
	Kw	1,53	1,39	1,05	0,74	0,68	0,60
	E	1,12	0,98	0,67	0,52	0,34	0,29
Milt	K	1,90	1,55	1,59	1,58	1,59	1,56
	Kw	1,61	1,56	1,56	1,61	1,59	1,45
	E	0,95	1,22	1,13	1,12	1,13	0,92
Dunderm (jejenum)	K	1,91	1,82	1,59	1,56	1,69	1,11
	Kw	2,01	2,06	2,06	1,91	1,84	1,92
	E	1,13	1,02	1,01	0,88	0,84	0,82
Duur van hipertermie : 10 min.							
Lewer	K	4,02	3,84	3,56	3,57	3,59	3,44
	Kw	4,05	4,00	3,86	3,84	3,58	3,41
	E	3,62	3,41	3,32	3,24	3,08	3,02
Nierkorteks	K	6,18	6,05	5,84	4,85	4,87	4,86
	Kw	5,88	5,65	5,55	5,29	5,21	5,18
	E	5,92	5,79	5,64	5,39	5,32	5,41
Digitorumspiertjies	K	1,69	1,53	1,28	0,99	0,73	0,65
	Kw	1,32	1,22	0,96	0,99	0,53	0,53
	E	1,38	1,05	0,79	0,55	0,44	0,36
Milt	K	1,91	1,70	1,53	1,50	1,59	1,58
	Kw	2,00	2,00	1,97	2,00	2,00	1,92
	E	1,11	1,25	1,12	1,20	1,14	1,12

TABEL 9 : VERVOLG

Weefsel		QO <sub>2</sub> (nat gewig)					
		Tyd in minute					
		10	20	30	40	50	60
Dunderm (jejenum)	K	1,67	1,56	1,53	1,48	1,48	1,44
	Kw	1,59	1,57	1,65	1,57	1,54	1,49
	E	1,14	1,13	0,99	0,93	0,89	0,78
Duur van hipertermie : 5 min.							
Lewer	K	3,65	3,59	3,66	3,44	3,41	3,55
	Kw	3,57	3,71	3,99	3,81	3,64	3,65
	E	3,51	3,45	3,65	3,49	3,25	3,23
Digitorumspiertjies	K	1,20	1,11	1,14	0,79	0,64	0,56
	Kw	1,50	1,45	1,66	1,29	1,12	1,06
	E	1,35	1,21	1,23	0,75	0,81	0,65
Milt	K	1,67	1,49	1,55	1,45	1,47	1,54
	Kw	1,65	1,43	1,58	1,64	1,59	1,64
	E	1,72	1,45	1,69	1,70	1,72	1,78
Dunderm (jejenum)	K	1,84	1,87	1,74	1,76	1,79	1,75
	Kw	1,95	1,94	1,67	1,75	1,58	1,58
	E	1,96	1,82	1,89	1,74	1,64	1,54

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

alle weefsels by  $38^{\circ}\text{C}$  in vitro uitgevoer. Die suurstofopname van die weefsels verkry na 10 minute van inkubasie in hierdie proewe kan moontlik as 'n eerste kriterium gebruik word. 'n Betekenisvolle afname in die suurstofopname van die weefsels van die verhitte diere ten opsigte van die weefsels van die kontrole-diere sou op beskadiging dui. Daar was egter twee kontrole- (K en Kw) diere vir elke verhitte (E) dier gebruik. Alhoewel die K- en Kw-waardes nie betekenisvol van mekaar verskil nie kan die Kw diere egter as 'n meer eksakte kontrole vir die verhitte diere beskou word, aangesien hierdie diere net soos die verhitte diere behandel is behalwe dat hulle liggaamstemperatuur normaal gehou was. Die weefsels wat beskadig is en die volgorde waarin die weefsels beskadig is, word in Tabel 10 weergegee. Die persentasie verskil in die suurstofopname van die kontrole- (Kw) en verhitte (E) diere se weefsels is gebruik om die graad van beskadiging weer te gee. As byvoorbeeld 'n betekenisvolle verskil in die suurstofopname tussen die kontrole- (Kw) en verhitte diere se weefsels, na 'n in vitro-inkubasieperiode van 10 minute, as krite-

TABEL 10 : WEEFSELS BESKADIG NA VERSKILLENDE VERHITTINGSTYDPERKE IN VI

Duur van hipertermie (min.)	Weefsel	% Afwyking van kontrole (K inkubasiëperiode <u>in vitro</u> )	
		10 min. <sup>x</sup>	30 min. <sup>x</sup>
40	Milt	-48,3	-55,6
	Digitorumspiertjies	-42,1	-42,8
	Dunderm (jejenum)	-39,4	-32,7
	Lewer	-26,1	-25,4
	Adduktorspierrepies	-24,1	-45,3
	Timus	-18,8	-20,0
	Diafragma	-18,3	-21,7
	Long	-15,2	-21,0
	Nierkorteks	-12,7	- 6,5
	Hart (linker ventrikel= wand)	-10,2	- 8,8
20	Dunderm	-43,8	-51,0
	Milt	-41,0	-27,6
	Digitorumspiertjies	-26,8	-36,2
	Nierkorteks	-18,5	- 6,1
	Lewer	-17,3	-11,7
10	Milt	-44,5	-43,2
	Dunderm (jejenum)	-28,3	-40,0
	Lewer	-10,6	-14,0
	Digitorumspiertjies	+ 4,6	-17,7
5	Digitorumspiertjies	-10,0	-25,9
	Lewer	- 1,7	- 8,5

<sup>x</sup>In analogie van die verhittingsperiodes wat in Hoofstuk 3 beklemtoon

rium gebruik word vir beskadiging, word nie tot dieselfde slotsom gekom as byvoorbeeld vir die in vitro-inkubasieperiode van 30 minute nie. Uit Tabel 10 is dit duidelik dat die volgorde waarin beskadiging intree, verskil. Ook is gevind dat na 'n in vitro-inkubasieperiode van 30 minute ook nog digitorumspier-tjies en lewer beskadig word, na 10 en 5 minute van hipertermie, respektiewelik, wat nie die geval was na 'n in vitro-inkubasieperiode van 10 minute nie. Verder moet daarop gewys word dat na 'n inkubasieperiode van 30 minute in vitro die Kw-waardes van digitorumspierrepies na 40, 20 en 5 minute van hipertermie beïndrukkend hoër is as die K-waardes. Dit mag ook die gevolgtrekkings in verband met relatiewe hittegevoelighede van weefsels beïnvloed.

Die resultate soos weergegee in Tabel 9 kan sekerlik ook anders verwerk word as op die twee maniere soos hierbo uiteengesit. Waarskynlik sal nogeens ander antwoorde wat betref die relatiewe hittetoleransie van die verskillende weefsels gegee word. Dit is dus uiters moeilik om die relatiewe hittetoleransie van weefsels eksak weer te gee. Dit wil egter voorkom

asof lewer die hittegevoeligste weefsel was in dié ondersoek as in aanmerking geneem word dat die persentasieverskil tussen die Kw- en E-waardes van spier na 'n inkubasieperiode van 5 minute veral te wyte is aan 'n toename in die Kw-waardes.

#### 4.7 SERUMENSIEME

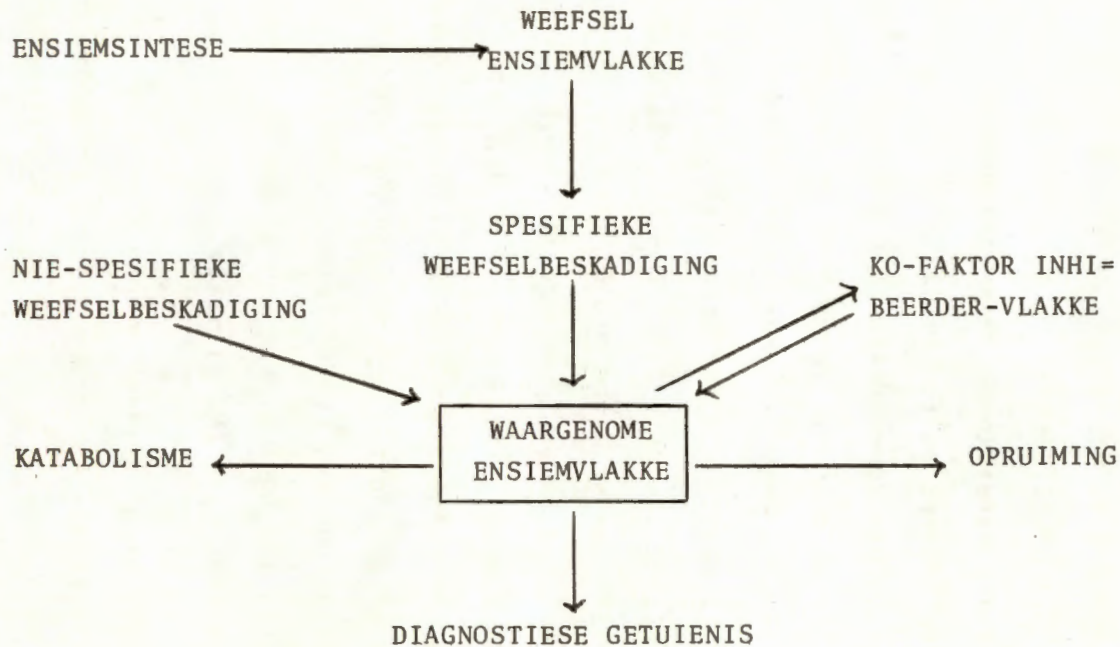
##### 4.7.1 Inleiding

Die eerste gebruik van serumensieme as 'n diagnostiese hulpmiddel is gedemonstreer deur Kay in 1930 in sy studies van serum-alkaliese fosfatase. Hy het gevind dat die ensiem in serum toeneem tydens sekere beensiektes en in obstruktiwe geelsug. Byna gelyktydig met bogenoemde bevinding het Elman gerapporteer dat serum-amilase toeneem tydens akute pankreatitis. Voor 1930 was die bepaling van ensieme in die kliniese chemielaboratorium beperk tot ensieme van die spysverteringskanaal, naamlik pepsien en tripsien. (Kyk McAllister, 1970.)

Dit wat beskryf kan word as die moderne fase van kli-

niese ensimologie het gevolg op die bevinding van La Due et al. (1954), naamlik dat GOT-aktiwiteit in die serum verhoog word na 'n episode van miokardiale infarksie. Die waarneming het onmiddellik toepassing gevind in die kardiologie, maar die belang van hierdie ontdekking het ver buite hierdie spesialiteit betekenis gehad. Die demonstrasie dat intrasellulêre ensieme in die sirkulasie vanaf beskadigde weefsels vrygestel word, is deur 'n groot aantal navorsers bevestig. Faktore wat die serumensiemaktiwiteit beïnvloed, word in Figuur 3 weergegee. Die aktiwiteite van omtrent 20 ensieme word nou min of meer as 'n roetine vir diagnostiese doeleindes bepaal. Die ensieme vir hierdie ondersoek gekies was: ACP, ALD, AP, CPK, GLDH, GOT, GPT, LDH, MDH en SDH. Hierdie ensieme behels een of meer uit die 4 hoofgroepe, naamlik oksidasiereduksie-ensieme, transferases, hidrolases en liasies, wat as die hoofgroepe van diagnosties belangrike ensieme beskou word (Mc Allister, 1970).

In die literatuur is daar enkele verwysings na veranderinge in serum- en serebrospinale ensiemkonsentrasie tydens hittesteek. Herman & Sullivan (1959), Shibo-



Figuur 3. Faktore wat serumensiemaktiwiteit beïnvloed

let et al. (1962) en Romeo (1966) het na 'n studie van enkele gevalle van hittesteek gerapporteer dat serum-GPT toeneem maar het nie verder kommentaar gelewer nie. Vescia & Peck (1962) het in 'n gevalstudie waargeneem dat serum-GPT sowel as serum-LDH toeneem en interpreteer dit as 'n vroeë teken van lewerbeskadiging. Aan die ander kant het Austin & Berry (1956) gevind dat die serum-AP-konsentrasie normaal is in elkeen van 11 gevalle van hittesteek wat bestudeer is. Kew et al. (1967b) het GPT, GOT, LDH en CPK in die serum en serebrospinale vloeistof in 25 gevalle van hittesteek bepaal en gevind dat die ensieme verhoog is. Geen gevolgtrekkings kon gemaak word aangaande die spesifieke organe wat beskadig word nie. Verder het Kew et al. (1971) gewys op die prognosewaarde van veral die serum-GOT-konsentrasie. 'n Verhoging van die ensiem bokant 1000 eenhede (normaal 10 tot 35 eenhede) in die eerste 24 uur, dui op 'n swak prognose.

In die huidige ondersoek is ensieme waaroor al gerapporteer is, gemeet en ook ander, in goed gekontroleerde dierproewe waar die hipertermie heftig en van kor=

te duur was.

#### 4.7.2 Bepaling van die ensieme

'n Ultraviolet-metode is gebruik om die aktiwiteit van ALD, CPK, GLDH, GOT, GPT, LDH, MDH en SDH in die serum te meet. Die metode is gebaseer op die meting van die lig geabsorbeer deur 'n ko-ensiem wat aan die spesifieke reaksie deelneem. Die absorpsie van lig by 340 nm van die gereduseerde ko-ensiem, NADH, gevorm vanaf NAD tydens die reaksies, is in hierdie geval as basis gebruik. ACP en AP is kolorimetries bepaal. p-Nitrofenielfosfaat is as substraat gebruik. Die substraat word deur fosfatase na fosfaat en p-nitrofenol gehidroliseer. Die hoeveelheid p-nitrofenol wat na 'n sekere tyd vrygestel is, is proporsioneel met die fosfatase-aktiwiteit en kan bepaal word deur die meting van die geel kleur se intensiteit by 405 nm wat ontstaan na die byvoeging van natriumhidroksied. In alle gevalle is van Boehringer-toetspakkies gebruik gemaak.\*

---

\*Boehringer & Soehne, Mannheim, GMBH.

#### 4.7.3 Weergee van die ensiemresultate

Die aktiwiteit van die serumensieme in hierdie ondersoek is weergegee in internasionale eenhede IU wat as volg gedefinieer kan word, naamlik 'n internasionale eenheid IU van enige ensiem is daardie hoeveelheid wat die omsetting van 1 mikro-mol van substraat per minuut, of waar meer as 1 band van elke substraat molekule aangeval is, 1 mikro-ekwivalent van die groep ter sake per minuut onder gedefinieerde kondisies bewerkstellig.

Dit is ook aanbeveel dat die aktiwiteit in eenhede per liter of ml weergegee word. Die temperatuur behoort 25°C te wees en die pH optimaal waar moontlik. Vanweë die lae konsentrasie van teenwoordige ensieme is dit deur E.J. King aanbeveel dat ensiemaktiwiteit in IU per liter weergegee word. Dit is dieselfde as mU per ml wat hedendaags gebruik word en ook in hierdie projek gebruik is.

#### 4.7.4 Die serumensiemaktiwiteit van kontrole- (K en Kw) en verhitte (E) diere

Ten einde vas te stel watter ensieme se konsentrasie in die serum toeneem tydens hipertermie, is die serumensiemkonsentrasie van verhitte diere met die serumensiemkonsentrasie van kontrole- (K en Kw) diere vergelyk. Die verhittingsperiode is gevarieer tussen 5 en 40 minute en die rektale temperatuur was altyd  $42,5^{\circ}\text{C}$ . Gepaste kontroles (een K- en een Kw-dier) is altyd saam met 'n verhitte dier hanteer.

In alle gevalle is die diere liggies met eter genarkotiseer en bloed uit die dorsale aorta onttrek. Eers is die hematokrit bepaal en dan is die serum berei. Die hematokrit-waardes is gebruik om die mate van bloedindikking te bepaal. Dit is vasgestel dat bloedindikking wel tydens hipertermie plaasvind (Hoofstuk 5) en dit sou meebring dat die konsentrasie van die ensieme in elk geval per eenheidsvolume verhoog sal word. Dit mag aanleiding gee tot verkeerde gevolgtrekkings aangaande die weefsels wat beskadig word. Die serumensiemkonsentrasie wat in hierdie

reeks proewe verkry is, word gevolglik aangegee sonder korreksie vir bloedindikking en ook word dit weergegee na korreksie vir bloedindikking gemaak is. In hierdie geval is al die waargenome waardes omgewerk na 'n basis van 50% hematokrit.

Die resultate word in Tabel 11 weergegee. Wat vir die huidige projek in die eerste instansie ter sake is, is of die serumkonsentrasie van die getoetse ensieme styg afgesien van bloedindikking. Dit is dus slegs nodig om die ensiemkonsentrasies na korreksie vir bloedindikking te vergelyk.

Opvallend is dat die K- en Kw-waardes verskil. As die E-waardes vergelyk word met die Kw-waardes (Kw-rotte is miskien meer eksakte kontrole vir E-rotte) (bl.62) kan 'n tabel opgestel word (Tabel 12) van die persentasie verskil in die Kw- en E-waardes.

Statistiese vergelyking van die resultate dui daarop dat ondergenoemde ensieme se konsentrasies verhoog en volgens persentasie verskil is die volgorde soos volg: na 5 minute van hipertermie MDH > GOT > GLDH; na 10 minute MDH > GOT > GLDH > GPT; na 20 minute MDH >

TABEL 11 : DIE SERUMENSIEMKONSENTRASIE\* VIR K-, KW- EN E-ROTTE VOOR EN NA KORREKSIE VIR BLOEDINDIKING GEMAAK IS. VIR BLOEDINDIKING IS GEKORRIGEER DEUR AL DIE WAARGENOME WAARDES NA 'N BASIS VAN 50% HEMATOKRIT OM TE REKEN

Ensiem	Duur van hipertermie (min)	Ensiemaktiwiteit (mU/ml)			Hemato-krit (%)			Ensiemaktiwiteit mU/ml: weergegee op 'n basis van 50% hematokrit		
		K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
ACP										
Totaal	5	27,5	31,2	33,0	44	43	46	31,3	36,3	35,9
Prostaat		11,2	14,2	15,6				12,7	16,5	17,0
Totaal	10	27,5	29,2	28,9	43	42	43	32,0	34,8	33,6
Prostaat		11,5	15,3	11,8				13,4	18,2	13,7
Totaal	20	27,5	33,8	32,6	42	44	52	32,7	38,4	31,4
Prostaat		11,5	15,5	11,5				13,7	17,6	11,1
Totaal	40	27,8	29,1	38,4	44	43	54	31,6	33,8	35,6
Prostaat		12,1	12,4	12,4				13,8	14,4	11,5
ALD	5	10,0	10,6	10,0	45	46	49	11,1	11,5	10,2
	10	10,0	10,6	10,9	45	46	50	11,1	11,5	10,9
	20	10,0	10,6	19,0	45	46	50	11,1	11,5	19,0
	40	10,0	10,6	20,0	45	46	58	11,1	11,5	17,2
AP	5	62,4	66,1	56,8	43	43	46	72,6	76,9	61,7
	10	62,4	77,5	79,8	43	42	43	72,6	92,3	92,8
	20	62,4	76,9	91,4	44	42	50	70,9	91,6	91,4
	40	62,4	70,6	98,2	44	45	54	70,9	78,4	90,9
CPK	5	2,1	3,6	1,3	45	46	49	2,3	3,9	1,3
	10	2,1	3,6	0,8	45	46	50	2,3	3,9	0,8
	20	2,1	3,4	Spore	45	46	52	2,3	3,7	Spore
	40	2,1	3,0	Spore	45	46	58	2,3	3,3	Spore

TABEL 11 : VERVOLG

Ensiem	Duur van hiperter= mie (min)	Ensiemaktiwiteit (mU/ml)			Hemato= krit (%)			Ensiemaktiwiteit mU/ml weergegee op 'n basis van 50% hematokrit		
		K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
GLDH	5	1,8	1,8	2,4	44	44	45	2,1	2,1	2,7
	10	1,8	1,8	2,4	44	44	46	2,1	2,1	2,6
	20	1,8	1,8	2,3	44	44	47	2,1	2,1	2,5
	40	1,8	1,8	1,7	44	44	55	2,1	2,1	1,6
GOT	5	42,1	41,8	58,0	45	43	46	46,8	48,6	63,0
	10	42,1	41,5	60,4	45	43	48	46,8	48,3	62,9
	20	42,1	46,6	74,0	45	47	55	46,8	49,6	67,3
	40	42,1	44,4	241,5	45	46	59	46,8	48,3	204,7
GPT	5	7,3	7,5	8,0	44	46	47	8,3	8,2	8,5
	10	7,3	7,5	8,6	44	46	48	8,3	8,2	9,0
	20	7,3	7,7	9,7	44	46	51	8,3	8,4	9,5
	40	7,3	7,7	33,2	44	46	59	8,3	8,4	28,1
LDH	5	126,0	244,0	252,0	44	45	48	143,2	271,1	262,5
	10	127,0	240,0	268,0	44	45	50	144,3	266,7	268,0
	20	130,0	236,0	510,0	44	45	52	147,7	262,2	490,6
	40	125,0	252,0	768,0	44	45	58	142,1	280,0	662,1
MDH	5	50,0	99,0	186,0	45	44	46	55,6	112,5	202,2
	10	50,0	98,0	260,0	45	44	47	55,6	111,4	276,6
	20	50,0	98,0	760,0	45	44	48	55,6	111,4	791,7
	40	50,0	100,0	1960,0	45	44	58	55,6	113,6	1689,7
SDH	5	4,0	3,9	4,0	44	45	45	4,6	4,3	4,4
	10	4,0	3,9	3,5	44	45	45	4,6	4,3	3,9
	20	4,0	4,0	1,8	44	44	47	4,6	4,6	1,9
	40	4,0	4,3	1,0	44	45	54	4,6	4,8	0,9

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

TABEL 12 : PERSENTASIE VERSKIL IN SERUMENSIEMKONSENTRASIE VAN E-ROTTE TEN OPSIGTE VAN KW-ROTTE. DIE PERSENTASIE VERSKIL IS BEREKEN OP DIE WAARDES VERKRY NA GEKORRIGEER IS VIR BLOEDINDIKKING

Ensiem	% verskil Duur van hipertermie (min)			
	5	10	20	40
ACP				
Totaal	- 1,1	- 3,5	- 18,2	+ 5,3
Prostaat	+ 3,0	- 24,7	- 36,9	- 20,1
ALD	-11,3	- 5,2	+ 65,2	+ 49,6
AP	-19,8	+ 0,5	- 0,2	+ 15,9
CPK	-66,6	- 79,5	-	-
GLDH	+28,6	+ 23,8	+ 19,0	- 23,8
GOT	+29,6	+ 30,2	+ 35,7	+ 323,8
GPT	+ 3,7	+ 9,7	+ 13,1	+ 234,5
LDH	- 3,1	- 0,5	+ 87,0	+ 136,4
MDH	+79,7	+148,3	+610,6	+1387,4
SDH	+ 2,3	- 9,3	- 58,7	- 81,3

LDH > ALD > GOT > GLDH > GPT; na 40 minute MDH > GOT  
> GPT > LDH > ALD > AP.

As hierdie resultate in oënskou geneem word en die vraag gestel word watter organe beskadig word tydens hittesteek (waardes na 40 minute van hipertermie verkry), kan skeletspier (MDH, LDH, ALD), hart (GOT, GPT), lewer (GPT) en moontlik dunderm (AP - maar dié styging is meer as gevolg van 'n daling in Kw) genoem word. (Kyk Schmidt & Schmidt, 1967.)

Die vraag watter orgaan/organe eerste tydens hipertermie beskadig word sou 'n vergelyking van die resultate na 5 minute van inkubasie 'n aanduiding kan gee. Die ensieme waarvan konsentrasie in die serum dan statisties betekenisvol styg is MDH, GOT en GLDH. Uit die literatuur (Wieme, 1965) en ook uit studies wat later genoem sal word, blyk MDH nie juis orgaanspesifiek te wees nie. Die GOT-uitlekking kan veral op hart en lewerbeskadiging dui. Deurdat GPT nie ook statisties betekenisvol styg nie, wil dit voorkom asof dié beeld hartbeskadiging aandui (Schmidt & Schmidt, 1967). Die feit dat GLDH toeneem, dui op lewerbeskadiging. Dit

is 'n hoogs spesifieke ensiem vir die lewer en is net in die mitochondria gesetel.

Ander ensieme soos ACP, CPK en SDH se konsentrasie het tydens hipertermie merendeels afgeneem. Dit is bekend dat ensieme as sodanig hittegevoelig is. Die vraag ontstaan dus in hoeverre die in vivo-resultate beïnvloed is deur die hittegevoeligheid van die ensieme per se. Dit is daarom essensieel om die hittegevoeligheid van die serumensieme self eers in vitro na te gaan voordat finale gevolgtrekkings oor die in vivo-resultate gemaak kan word.

#### 4.7.5 Die in vitro-hittestabiliteit van ensieme

Ten einde die in vitro-hittestabiliteit van die ensieme te toets, is 'n mengsel van verskeie diere se sera by kamertemperatuur ( $18^{\circ}\text{C}$ ), by Kw-temperatuur ( $38^{\circ}\text{C}$ ) en by E-temperatuur ( $42,5^{\circ}\text{C}$ ) vir verskillende tye tot 60 minute gehou. Hierna is die ensiemaktiwiteit by  $25^{\circ}\text{C}$  gemeet.

Die resultate is in Tabel 13 weergegee. Slegs die resultate wat vir inkubasieperiodes tot 60 minute ver-

TABEL 13 : DIE IN VITRO-HITTESTABILITEIT VAN SOMMIGE SERUMENSIEME\*

Ensiem	Ensiemaktiwiteit (mU/ml)								
	18°C			38°C			42,5°C		
	20 min	40 min	60 min	20 min	40 min	60 min	20 min	40 min	60 min
ACP									
Totaal	28,0	28,1	28,1	28,0	22,0	18,4	18,2	15,0	12,7
Prostaat	12,4	12,4	12,4	12,1	8,2	6,2	8,5	4,2	0,8
ALD	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	8,2	7,5
AP	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0
CPK	2,0	0,6	Spore	2,0	0,6	Spore	Spore	Spore	Spore
GLDH	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
GOT	42,1	42,1	42,1	42,1	42,1	42,1	42,1	42,1	42,1
GPT	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3
LDH	125,0	125,0	125,0	125,0	125,0	125,0	125,0	125,0	125,0
MDH	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
SDH	4,0	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	4,0	3,9

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

kry is, word aangegee, omdat die diere nie langer as 60 minute by 'n rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$  leef nie. Die resultate toon aan dat AP, GLDH, GOT, GPT, LDH, MDH en SDH so hittestabiel is dat die graad van hipertermie wat in hierdie ondersoek gebruik is, waarskynlik nie die aktiwiteit van die ensieme as sodanig beïnvloed nie. Ander ensieme soos ACP en ALD se aktiwiteit word geïnhibeer deur die graad van hipertermie soos in die proefdiere geïnduseer. Ook is gevind dat CPK baie onstabiel is, selfs in die kontrolesera.

Die in vitro-resultate beïnvloed nie juis die gevolgtrekkings wat op die in vivo-bevindings gemaak is nie. CPK is baie onstabiel. Die geringe afname wat moontlik in vivo verwag kan word van ALD as gevolg van 'n hipertermiese effek as sodanig, kan verklaar hoekom die persentasie styging van dié ensiem in die serum laer is na 'n 40-minute verhittingsperiode as na die 20-minute verhittingsperiode. ACP is nie van belang beskou vir die interpretasie van die in vivo-resultate nie.

## 4.8 ISO-ENSIEMSTUDIES

### 4.8.1 Inleiding

Net soos die ensieme, miskien nog meer so, is die iso-ensieme orgaan- en selfs organelspesifiek. Die iso-ensieme waaraan, vir die huidige, die meeste diagnosiese waarde gekoppel word, is die LDH-iso-ensieme. Serum-LDH neem toe tydens hipertermie en is dus verder bestudeer. . Ook is die iso-ensiempatroon van MDH nagegaan, omdat die ensiem verreweg die meeste van alle ensieme wat bestudeer is, toeneem tydens hipertermie.

Informasie wat betref die iso-ensiempatroon tydens hittesteek is baie beperk. Waarskynlik is die publikasie van Kew et al. (1969) die enigste tot dusver daaroor. Dié navorsers het 'n abnormale LDH-iso-ensiempatroon in die sera van hittesteekpasiënte gevind wat veral op hartskade sou dui, maar lewer- en nier-skade was ook nie uitgesluit nie.

### 4.8.2 Bepaling van die iso-ensieme

Aanvanklik is daar net die serum-LDH-iso-ensieme (le=

wer- en harttipe) bepaal. Dit is gedoen met Boehringertoetspakkies (DEAE Sephadex A-50 prosedure). Eers is die totale LDH-aktiwiteit in die serum bepaal. Daarna is die serum met die Sephadex gemeng en na sentrifugering is die LDH-aktiwiteit weer op die helder supernatant bepaal. Hierdeur word die lewer-tipe- (nie-geadsorbeerde) LDH gemeet. Die harttipe-LDH (geadsorbeerde) is deur berekening verkry. Die serum-LDH-iso-ensiempatroon is ook elektroforeties bepaal met behulp van 'n Beckman-mikrosonesisteesem. Selulose-asetaatrepië is gebruik terwyl die ensiemaktiwiteit vasgelê is met behulp van die nitro-blou-tetra-zoliumprosedure soos beskryf deur Wieme (1965). Ook is die MDH-iso-ensiempatroon van die serum elektroforeties op 'n wyse soortgelyk aan die LDH-iso-ensiemprosedure bepaal, behalwe dat appelsuur as substraat gebruik is in plaas van melksuur. Aangesien afwykings slegs in die serum-MDH-iso-ensiempatroon gevind was, is slegs dié ensiem se iso-ensiempatroon ook in weefsels nagegaan om die plek en oorsprong te probeer omskryf. MDH is in die selsitoplasma en in die mitochondria gesetel. Die MDH-iso-ensiempatroon is op

die sogenaamde oplosbare selffraksie van die weefsels berei soos beskryf deur Umbreit et al. (1964), bepaal. Die mitochondria van die weefsels is ook berei soos deur Umbreit et al. (1964) beskryf. Die ensiem is daaruit verkry deur die mitochondria met soniese golwe te breek.

#### 4.8.3 Resultate

Die resultate verkry waar die serum-LDH (lewer- en harttipe) chemies bepaal is, is in Tabel 14 opgesom. Die resultate dui daarop dat in rotserum die LDH-lewertipe oorheersend is en dat hipertermie nie die normale patroon versteur nie. Dieselfde waarneming is ook met die elektroforese ondersoek gemaak (Tabel 15).

Die serum-MDH-iso-ensiempatroon verander wel tydens hipertermie, veral is 'n toename in fraksie 3 gevind (Tabel 15).

In 'n ander reeks proewe waar die iso-ensiempatroon van die oplosbare selffraksie en van mitochondria van verskeie organe nagegaan is, is aangetoon dat fraksie 3 by

TABEL 14 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP LDH-ISO-  
ENSIEME (CHEMIESE METODE)\*

Duur van hipertermie (min)	Tipe (%)					
	Lewer			Hart		
	K	Kw	E	K	Kw	E
5	84,7	84,0	83,7	15,3	16,0	16,3
10	83,7	83,5	83,5	16,3	16,5	16,5
20	83,4	83,4	83,8	16,6	16,6	16,2
40	83,5	82,6	85,0	16,5	17,4	15,0

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

TABEL 15 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE LDH- EN MDH-ISO-ENSIEMPATROON (ELEKTROFORESE METODE)<sup>x</sup>

Duur van hipertermie (min)	Persentasie														
	LDH 1			LDH 2			LDH 3			LDH 4			LDH 5		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
5	15,0	15,0	15,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85,0	85,0	85,0
10	15,0	15,0	15,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85,0	85,0	85,0
20	15,0	15,0	15,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85,0	85,0	85,0
40	15,0	15,0	15,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85,0	85,0	85,0
	MDH 1			MDH 2			MDH 3			MDH 4			MDH 5		
5	31,6	22,9	20,7	7,4	5,7	6,4	26,0	38,9	49,0	8,0	7,8	5,4	27,0	24,7	18,5
10	37,0	28,5	17,5	7,2	7,8	4,1	22,2	37,3	64,0	13,3	10,6	3,5	20,3	15,8	10,9
20	34,1	27,3	21,0	10,6	7,7	5,1	30,6	41,9	61,6	9,7	9,7	5,3	15,0	13,4	7,0
40	36,0	31,0	12,0	10,0	7,0	5,8	31,0	43,0	71,2	9,0	9,0	5,3	14,0	10,0	5,7

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

alle weefsels wat ondersoek is, voorkom (Tabel 16). Fraksie 3 is dus nie weefselspesifiek nie. Dit verleen steun aan ander navorsers se bevindings, nl. dat die MDH-iso-ensieme nie juis weefselspesifiek is nie (Wieme, 1965).

Die ondersoek na die LDH- en MDH-iso-ensieme het getoon dat hierdie iso-ensieme van beperkte waarde blyk te wees om beskadigde weefsels tydens hipertermie te lokaliseer.

#### 4.9 SAMEVATTING

In hierdie hoofstuk is beskryf hoedat hipertermie by proefdierere opgewek is, deur hulle in 'n waterbad te verwarm. Dié prosedure is gevolg omdat die prosedure besonder doeltreffend is vir die fyn kontrole van die liggaamstemperatuur. Ander verhittingsprosedures sou waarskynlik geen invloed op die eindresultate gehad het nie (Bierman & Fishberg, 1934; Hench et al. 1935).

Die weefsels wat tydens hipertermie beskadig is, is eers met behulp van die Warburg-tegniek aangetoon. Dit was verrassend dat by breinweefsel nie beskadiging

TABEL 16 : DIE MDH-ISO-ENSIEMPATROON VAN WEEFSELS VAN  
KONTROLEROTTE<sup>x</sup>

Weefsel	Persentasie				
	MDH 1	MDH 2	MDH 3	MDH 4	MDH 5
	Oplosbare fraksie en homogenate (met soniese golwe behandel)				
Hart	0	0	66	0	34
Dunderm	0	0	54	0	46
Brein	0	0	100	0	0
Spier	0	0	100	0	0
Nier	0	0	88	0	12
Lewer	0	0	100	0	0

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

aangetoon kon word nie. Waarskynlik is die brein van die rot dus nie so gevoelig vir hitte, net soos in die geval van die hond en die aap (Kubicek et al., 1958), as die brein van die mens nie. Die feit dat hier gevind is dat skeletspier en lewer, van die hittegevoeligste weefsels is van die weefsels wat ondersoek is, genoodsaak 'n herwaarderung van die volgorde van ineenstorting in die liggaam tydens hipertermie as wat tot nog toe voorgehou is.

In 'n poging om serumensiem- en iso-ensiempatrone te gebruik om die spesifieke orgaan wat die vroegste tydens hipertermie beskadig word, te lokaliseer, is geen duidelike beeld gekry nie maar dat die resultate tog ook op 'n vroeë lewerbeskadiging gedui het.

## HOOFSTUK 5

## DIE BLOEDSAMESTELLING TYDENS HIPERTERMIE

## 5.1 INLEIDING

Dit het uit die resultate van Hoofstukke 3 en 4 geblyk dat 'n klaarblyklike verskil tussen die relatiewe hittegevoeligheid van verskillende weefsels bestaan indien die ondersoek van die invloed van hipertermie in vitro of in vivo uitgevoer word. Dit mag te wyte wees aan opmekaar inwerkende invloede wat tydens hipertermie geïnduseer word. Metaboliese veranderinge tydens hipertermie mag van besondere belang wees in 'n poging tot die bepaling van die meganisme van weefselbeskadiging tydens hipertermie (Minard & Copman, 1963). As in gedagte gehou word dat die graad van hipertermie (rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$  wat in hierdie projek ondersoek is, die dood van die proefdier binne 40 minute veroorsaak, sou in die eerste instansie na veranderinge gesoek word wat gou intree. Uit die literatuur blyk dit sinvol te wees om te toets vir:

- (a) 'n hipoksietoestand waar veral vir oormaat melksuur in die bloed getoets is;

(b) suurbasisstatus deur die meting van die bloed-pH,  $p\text{CO}_2$ , basis-oormaat (BE), bufferbasis (BB), standaard-bikarbonaat (St.  $\text{HCO}_3^-$ ), ware bikarbonaat (Act.  $\text{HCO}_3^-$ ) en totale  $\text{CO}_2$ ;

(c) bloedelektroliete deur die meting van kalium, natrium en totale kalsium in bloedserum, chloried in bloedplasma en in heelbloed;

(d) parameters geassosieer met:

i. koolhidraatmetabolisme soos die meting van bloedglukose-, -melksuur- en -piruviensuurkonsentrasie

ii. vetmetabolisme soos die meting van vry-vet-suur, totale cholesterol, cholesterol-esters, vry-cholesterol, trigliseried en fosfolipiede in plasma,

iii. proteïenmetabolisme soos die meting van bloed-nie-proteïenstikstof-, -ammoniak- en -ureumkonsentrasie, serumtotale proteïen en proteïenelektroforese en plasma-aminogramme.

Behalwe dat bogenoemde studies 'n indikatie kan gee van die metaboliese veranderinge wat optree tydens

hipertermie, kan hulle ook 'n indikasie gee van die omvang van 'n samestellingsverandering van die bloed (as ekstrasellulêre vloeistof), tydens hipertermie en eventueel lig werp op die verskille in relatiewe gevoeligheid van weefselbeskadiging tydens in vitro- en in vivo-eksperimente.

## 5.2 DIE PROEFDIERE

Albinorotte met 'n gewig van 250 g en wat vir 24 uur gevas het, is gebruik. Hipertermie (rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$ ) is soos voorheen beskryf (bl. 60), geïnduseer. Twee kontrolediere (K en Kw) is vir elke verhitte dier (E) gebruik (sien bl. 62). Vir die neem van bloed is die diere liggies met eter genarkotiseer en bloed anaerobies onttrek. Waar nodig, is heparien as antistollingsstof gebruik.

## 5.3 HEMATOKRIT EN DROË GEWIG

Uit die literatuur blyk dit dat bloedindikking wel tydens hipertermie plaasvind, maar die verwysings daarna was merendeels indirek. Ferris et al. (1938) het

bloedindikking as 'n bestendige verskynsel in hittesteek beskryf op grond van die inisiële hoë rooiseltellings en hemoglobienwaardes in die oorgrote meerderheid van hulle 44 hittesteekpasiënte. Malamud et al. (1946) het die hematokrit gemeet en kon slegs in enkele hittesteekgevalle 'n verhoging aantoon. Ferguson & O'Brien (1960) het weer die rooiseltellings by hittesteekpasiënte gedoen en gevind dat dit aansienlik varieer en het die variasies aan die pasiënte se toestand van hidrasie toegeskryf. Barry & King (1962) het spesifiek ook die hematokrit by 75 hittesteekpasiënte gemeet en gevind dat 'n toename slegs in 5 voorgekom het. Aan die ander kant het Austin & Berry (1956) weer verlaagde rooiseltellings by 31 hittesteekgevalle uit 56 gevind, 'n bevinding wat op bloedverduunning sou dui. Uit die voorafgaande is dit duidelik dat die informasie oor bloedindikking wat tydens hipertermie plaasvind onvolledig en selfs teenstrydig is. Wat meer is, is dat bloedindikking waar dit wel gerapporteer is, nie spesifiek in berekening gebring is om te korrigeer vir die konsentrasie van die stowwe wat in die bloed gemeet is nie.

In hierdie ondersoek is ondersoek ingestel na die moontlikheid van bloedindikking tydens hipertermie deur die hematokrit te bepaal. Hierdie bepalinge kon egter beïnvloed gewees het deur veranderinge in rooï-seltellings en/of -volume. Gevolglik is ook die droë gewigte van die bloed en die serum gemeet. Die resultate is in Tabel 17 opgesom.

Uit Tabel 17 is dit duidelik dat bloedindikking wel by hipertermiese rotte plaasvind. Ook kan uit Tabel 17 bereken word dat die toename in hematokrit wel 'n weerspieëling is van die verlies aan bloedwater. Ook kan uit Tabel 17 bereken word dat die volume bloed met omtrent 25% kan verminder in die uiterste toestand van hipertermie. So 'n drastiese en akute vermindering in bloedvolume mag as sodanig die gesondheid van die dier ernstig versteur.

Daar is nie verder ingegaan op watter rol die bloedindikking in die patogeneese van hittesteek speel nie, maar die mate van bloedindikking is altyd in aanmerking geneem waar substansie in die bloedanalise kwantitatief weergegee is. Daar moet egter beklemtoon word

TABEL 17 : EKSPERIMENTELE HITTESTEEK : HEMATOKRIT<sup>x</sup> EN DROË GEWIGTE<sup>x</sup>  
 VAN BLOED EN SERUM

Duur van hipertermie (min)	Hemato=			Droë gewigte					
	krit (%)			Bloed			Serum		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
5	44	44	46	20,30	20,30	21,30	7,65	7,58	7,90
10	44	44	48	20,30	20,20	21,80	7,65	7,53	8,00
20	44	44	52	20,30	20,30	22,20	7,65	7,63	8,40
40	44	44	58	20,30	20,20	24,80	7,65	7,64	9,80

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde van triplikaatbepalings op 40 proef= diere.

dat in alle analyses, korreksies nie noodwendig aangebring is nie. Waar relatiewe waardes, dit wil sê waar een waarde ten opsigte van 'n ander waarde weergegees is, waar beide aan dieselfde invloed van bloedindikking onderhewig was, is korreksie vir bloedindikking nie aangebring nie. Verder moet daarop ge wys word dat korreksie vir bloedindikking nie noodwendig die beste vertolking van die resultate is nie. Dit kan help om te verklaar of die verandering in 'n substans dui op wanfunksie in die liggaam en of dit net bloot 'n weerspieëling is van bloedindikking. Aan die ander kant moet onthou word dat die liggaamselle blootgestel word aan die bloed met sy samestelling soos dit is tydens hipertermie. As byvoorbeeld die bloedglukosekonsentrasie in die hittesteekdiere as 45 mg % gevind is voordat daar gekorrigeer is vir bloedindikking en sê 36 mg % na korreksie vir bloedindikking, bly die waarde van 45 mg % die belangrikste, want dit is op dié glukosekonsentrasie in die bloed waaraan die liggaamselle blootgestel word en op sal reageer.

## 5.4 HIPOKSIE

### 5.4.1 Inleiding

Dit is algemeen bekend dat die suurstofopname van die intakte dier (Rahn, 1941) en van weefsels in vitro (cf. Field et al., 1944) eers toeneem en dan afneem. Die afname in suurstofopname sou beskadiging aantoon. Die meganisme van beskadiging blyk egter nie hieruit nie, aangesien enige beskadiging wat tot selwanfunksie kan lei in 'n afname in suurstofopname weerspieël kan word. Daar kan egter geredeneer word dat in die eerste instansie ondersoek ingestel behoort te word na die intaktheid van die meganismes wat suurstof voorsien aan die liggaamselle (suurstofversadiging van die bloed by die longe en die suurstofdravermoë van die bloed) en die vermoë van die liggaamselle om suurstof te gebruik.

Dat 'n hipoksietoestand in die liggaam van primêre belang mag wees vir die ontstaan van die dood tydens hipertermie, is vir die eerste keer deur Hartman (1937) voorgestel. Die algemene kliniese waarnemings

van serebrale wanfunksie en sianose tydens koorsterapie versterk dié moontlikheid (Kendell, 1951). In baie gevalle egter is die arteriële suurstofspanning en suurstofinhoud gerapporteer, maar dit is gevind dat dit tydens hipertermie naastenby onveranderd of selfs verhoog is (Gordon et al., 1949; Kubicek et al., 1958; Maxwell et al., 1959; Albers, 1961). Dit was egter Frankel et al. (1963) wat begin het met 'n goed beplande eksperimentele ondersoek na suurstofversadiging en suurstofdravermoë van arteriële bloed in honde tydens hipertermie deur die  $pO_2$  en persentasie versadiging van hemoglobien te bepaal. Daar is ook verder ondersoek ingestel na die ontwikkeling van weefselhipoksie deur die beginsel van Huckabee (1958a) toe te pas waarvolgens oormaat melksuur in die bloed op weefselhipoksie sou dui. Die navorsers kon 'n weefselhipoksie demonstreer selfs nog voor arteriële hipoksie. Hierna het Hales et al. (1967) die ontstaan van weefselhipoksie in beeste tydens uitermatige hitteblootstelling ondersoek en het die  $pO_2$  van arteriële bloed asook oormaat melksuur gemeet. Die navorsers het egter tot die gevolgtrek=

king gekom dat weefselhipoksie wel tydens hipertermie voorkom wat die gevolg is van verandering in respirasie per se of in kombinasie met hipertermie.

In die huidige ondersoek is rotte as proefdiere gebruik en daar is gepoog om die suurstofversadiging van die bloed by die longe en suurstofdra vermoë van die bloed te toets deur die meting van arteriële  $pO_2$ , die suurstofinhoud van die bloed en die suurstof gebind aan hemoglobien. Verder is getoets vir weefselhipoksie deur die bepaling van oormaat melksuur en die  $pO_2$ -waardes van arteriële en gemengde veneuse bloed.

Die  $pO_2$ -waardes is met behulp van suurstofelektrodes, gekoppel aan 'n bloed-pH-meter (Astrup-apparaat), bepaal. Die bloed se suurstofinhoud is met behulp van 'n van Slyke-apparaat (van Slyke & Neill, 1924; Conzozio et al., 1963) bepaal. Die hemoglobieninhoud is met behulp van 'n fotokolorimetriese metode bepaal (Wintrobe, 1962) en die volume suurstof gebind aan hemoglobien bereken. Die oormaat melksuur is volgens die metode van Huckabee (1958a) bereken nadat

die bloed se melksuur- en piruviensuurkonsentrasie bepaal is. Die bloedmelksuur- en piruviensuurkonsentrasie is ensiematies, deur gebruikmaking van die Boehringertoetspakkies, gemeet. Die gemete waardes is in Tabelle 18, 19 en 20 opgesom.

#### 5.4.2 $pO_2$ , suurstofinhoud en volume suurstof gebind aan hemoglobien

In Tabel 18 is die waardes van die bloed- $pO_2$ , die suurstofinhoud van die bloed en die volume suurstof gebind aan hemoglobien weergegee. Vanweë die fisiese effek van 'n verhoging in temperatuur op die  $pO_2$ -waarde van bloed (Gordon et al., 1949; Bradley et al., 1956) is die  $pO_2$ -waardes in vitro van die kontrole diere sowel as die van verhitte diere by  $38^{\circ}C$  en  $42,5^{\circ}C$  gemeet, ten einde die fisies-chemiese effek te elimineer. Daar is gevind dat vir elke  $1^{\circ}C$  styging in temperatuur die bloed- $pO_2$ -waarde met omtrent 6% toeneem. Dit is in ooreenstemming met wat ander navorders ook gevind het (Bradley et al., 1956).

Afgesien wat die oorsaak ook al is, is gevind dat die

TABEL 18 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE pO<sub>2</sub>-WAARDES, SUURSTOF GEBIND AAN HEMOGLOBIEN  
EN DIE SUURSTOFINHOUD VAN DORSALE AORTABLOED<sup>\*</sup>

Duur van hipertermie (min)	Temperatuur van pH-meter (°C)	pO <sub>2</sub> (mm Hg)			O <sub>2</sub> gebind aan Hb (ml)			Suurstofinhoud (ml)			Hematokrit (%)		
		K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
5	38,0	104,8	105,0	93,4	18,81	19,18	20,00	19,06	19,43	20,30	44	44	48
	42,5	131,4	132,6	123,6	-	-	-	-	-	-			
10	38,0	105,7	107,6	97,4	18,70	19,00	21,30	19,01	19,40	21,50	44	44	50
	42,5	136,1	136,0	126,2	-	-	-	-	-	-			
20	38,0	105,1	107,1	93,1	18,75	18,71	22,40	19,04	19,41	22,70	44	44	52
	42,5	136,5	139,2	122,2	-	-	-	-	-	-			
40	38,0	105,5	106,8	96,8	18,81	19,18	23,13	19,06	19,43	23,38	44	44	58
	42,5	136,0	140,0	123,6	-	-	-	-	-	-			

<sup>\*</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

TABEL 19 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE MELKSUUR- EN PIRUVIENSUURKONSENTRASIE EN OORMAAT MELKSUUR IN DORSALE AORTABLOED\*

Substans (mEkw/liter)	Duur van hipertermie (min)											
	5			10			20			40		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
Melksuur	2,1	2,1	6,9	2,1	2,1	7,8	2,1	2,2	8,2	2,1	2,2	7,1
Piruviensuur	0,30	0,30	0,36	0,30	0,30	0,36	0,30	0,30	0,35	0,30	0,30	0,34
Oormaat melksuur	-	-	4,38	-	-	5,28	-	-	5,64	-	-	3,61

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

TABEL 20 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE  $pO_2$  VAN  
 ARTERIËLE- EN GEMENGDE VENEUSE BLOED<sup>x</sup>

Bloed	Duur van hiper= termie (min)	$pO_2$		
		K	Kw	E
Dorsale aorta	5	104,8	105,0	123,6
	10	105,7	107,6	126,2
	20	105,1	107,1	122,9
	40	105,5	106,8	123,0
Regter-atrium	5	26,5	28,0	27,5
	10	26,0	28,0	26,0
	20	26,9	28,0	26,8
	40	26,9	28,0	14,1

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

$pO_2$  van die kontrolediere se bloed (by  $38^{\circ}C$  in vitro gemeet) laer is as die bloed- $pO_2$  van die verhitte diere (by  $42,5^{\circ}C$  in vitro gemeet). As die fisies-chemiese effek van verhoogde temperatuur uitgeskakel word, wil dit voorkom of die bloedbelugting in die longe effe minder in die verhitte diere as in die kontrolediere was (in beide gevalle by  $38^{\circ}C$  in vitro gemeet). Dit was egter na 5 minute van hipertermie net soveel as na 40 minute. Dit wil dus voorkom of dit nie 'n verskynsel van hipertermie is nie. Die geringe laer  $pO_2$  in die bloed van verhitte diere (gemeet by  $38^{\circ}C$  in vitro) mag miskien te wyte wees aan die verlies van suurstof uit oplossing van die bloed by die hoë temperatuur in vivo. Wat betref die volume suurstof gebind aan hemoglobien en die suurstofinhoud van die bloed kan dit bereken word dat die gerapporteerde toename bloot 'n verskynsel is van bloedindikking.

#### 5.4.3 Weefselhipoksie

Wat betref weefselhipoksie soos gemeet aan die hand van oormaat melksuur (Tabel 19) blyk dit dat weefsel=

hipoksie vroeg al tydens hipertermie ontstaan. In 'n ander reeks proewe is ook probeer om weefselhipoksie aan te toon deur die gelyktydige meting van die  $pO_2$ -waardes van aortabloed en gemengde veneuse bloed (regter-atrium).

Die resultate is in Tabel 20 opgesom. Uit hierdie tabel is dit duidelik dat die  $pO_2$  van gemengde veneuse bloed van verhitte diere veel laer is as die kontrolediere. Dit dui daarop dat suurstof wel meer onttrek is tydens hipertermie, maar daar is so 'n komplekse aantal faktore wat hierin saamloop dat 'n definitiewe gevolgtrekking moeilik gemaak kan word. Wat opvallend is, is dat daar tussen die 20 minute en 40 minute verhittingsperiode 'n opvallende verlaging in die  $pO_2$ -waarde van gemengde veneuse bloed is, wat moontlik op sirkulasie-ineenstorting mag dui, wat in ooreenstemming met die bevindings van Daily & Harrison (1948) en Gold (1960) is.

#### 5.4.4 Bespreking

Uit die bogenoemde studies in verband met hipoksie is

weefselhipoksie gedemonstreer. Die oorsaak daarvan is egter onduidelik. Uit die meting van suurstofversadiging van die bloed by die longe en die suurstofdravermoë van bloed wil dit voorkom of hierdie meganismes nie so abnormaal laag is dat die nadelige effek van hipertermie toegeskryf kan word aan die ineenstorting van uitwendige respirasie en die suurstofdravermoë van bloed nie. Inteendeel, die  $pO_2$  van arteriële bloed van 'n hipertermiese rot is hoër as dié vir die kontrole rot en die suurstofdravermoë is normaal. Tot dieselfde gevolgtrekking kom Frankel et al. (1963) met hulle studies op honde. Die heilsame invloed van suurstof terapie tydens koors soos gerapporteer deur Cullen et al. (1942), moet na faktore anders as arteriële hipoksie herlei word.

Verder mag die lewering van suurstof aan die weefsels faal deurdat sirkulasie ineenstort. In die huidige ondersoek is geen sirkulasiestudies gedoen nie, maar 'n aanduiding is wel indirek verkry deur die verlaging van die  $pO_2$ -waarde van gemengde veneuse bloed tussen die 20- en 40 minuutperiode van hipertermie. Dit is egter moeilik om te aanvaar dat sirkulasie ineenstort=

ing verband hou met die oormaat melksuur in die bloed, aangesien die oormaat melksuur alreeds na 5 minute van hipertermie uitgesproke waargeneem word, waar dit onwaarskynlik is dat sirkulasie dan al gefaal het. Dit is interessant om te verneem dat die oormaat melksuur wat na 40 minute van hipertermie gemeet is, selfs nog laer is as wanneer die meting na 20 minute gedoen is. Dit mag miskien verder daarop dui dat die melksuur in die weefsels waar dit gevorm is, bly, juis vanweë die swak bloedvloei.

Uit die studies oor hipoksie wil dit voorkom of die weefselhipoksie, veral aanvanklik, ontstaan as gevolg van selbeskadiging as sodanig deur die hipertermie, as oormaat melksuur as grondslag vir selhipoksie aanvaar kan word.

Vir die bestudering van die meganisme van selbeskadiging deur hipertermie per se sal studies op die weefsels as sodanig uitgevoer moet word. (Kyk Hoofstuk 6.)

## 5.5 SUURBASISSTATUS

Die suurbasisstatus kan ook in die liggaam deur akute veranderinge versteur word en as die versteuring groot genoeg is, kan dit die dood veroorsaak.

### 5.5.1 Die pH

Wood (1863) het gevind dat die bloed van 'n hittesteekpasiënt suur reageer. Sedertdien is deur verskeie navorsers oor die bloed-pH tydens hittesteek gerapporteer. Die bevindings was egter baie uiteenlopend en selfs teenstrydig. Hall & Wakefield (1927) en Kubicek et al. (1958) het 'n daling in die bloed-pH- en serum-pH-waardes by hipertermiese honde waargeneem, terwyl ander (Frankel & Cain, 1966; Frankel & Ferrante, 1966; Hales et al., 1967) 'n toename in die bloed-pH by honde, katte en beeste, waargeneem het tydens eksperimentele hipertermie.

In die huidige ondersoek is weer eens ondersoek ingestel na die invloed van hipertermie op die bloed-pH waar rotte as proefdiere gebruik is.

Die bloed-pH is met behulp van 'n bloed-pH-meter (As-trup-apparaat) gemeet.

Die resultate is in Tabel 21 opgesom. Die resultate dui daarop dat die pH van die bloed betekenisvol verlaag tydens hipertermie, 'n verlaging wat deels te wyte is aan die invloed van 'n verhoogde temperatuur op die bloed in vitro (Rosenthal, 1948; Wilson, 1951; Adamsons et al., 1964). 'n Uitgesproke verlaging van die bloed-pH in vivo is veral duidelik uit die waardes verkry in gemengde veneuse bloed. Die pH-veranderinge in vivo word deur hiperventilasie soos hier waargeneem en deur hoë nie-vlugtige suurkonsentrasie in die bloed soos melksuur (bl. 117) gekompliseer. Hiperventilasie sal meer koalsuurgas uit die bloed verwyder en dus styging in bloed-pH, naamlik 'n respiratoriese alkalose veroorsaak, wat moontlik dan ook die rede is waarom ander navorsers hierbo genoem 'n styging in bloed-pH gerapporteer het. Aan die ander kant is in hierdie proewe 'n verhoging in die bloedmelksuurkonsentrasie gevind wat die alkali-reserwe sou uitput en 'n metaboliese asidose daarstel. In die rot-proewe is dit duidelik dat 'n gekompliseerde

TABEL 21 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE pH VAN BLOED<sup>\*</sup>

Bloed	Duur van hipertermie (min)	Temperatuur waarby pH-meter gestel is (°C)	pH		
			K	Kw	E
Dorsale aorta	5	38,0	7,44	7,43	7,41
		42,5	7,38	7,38	7,36
	10	38,0	7,44	7,43	7,40
		42,5	7,39	7,38	7,35
	20	38,0	7,44	7,43	7,39
		42,5	7,39	7,38	7,34
	40	38,0	7,44	7,43	7,38
		42,5	7,38	7,30	7,33
Regter-atrium	5	38,0	7,33	7,32	7,31
		42,5	7,28	7,28	7,28
	10	38,0	7,33	7,32	7,31
		42,5	7,28	7,28	7,28
	20	38,0	7,33	7,32	7,30
		42,5	7,28	7,27	7,27
	40	38,0	7,33	7,32	7,26
		42,5	7,27	7,26	7,20

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

toestand bestaan, naamlik 'n respiratoriese alkalose (verlaging in bloed- $p\text{CO}_2$ , Tabel 22) maar ook 'n metabooliese asidose ('n verlaging in basisoormaat (BE) en afname in serumbikarbonaat (Tabel 22)). Uit die pH-metings is dit egter vasgestel dat 'n metabooliese asidose-toestand oorheers.

Dit is nie moontlik om uit bloed-pH-metings alleen die bloedsuurbasisbalans te evalueer nie. Vir 'n vollediger begrip van die bloedsuurbasisstatus word veral die Astrup-tegniek toegepas (Siggaard-Andersen & Engel, 1960; Siggaard-Andersen, 1962). Die besonderhede van die metings afgesien van die pH-metings word hieronder beskryf.

5.5.2  $p\text{CO}_2$ , basisoormaat (BE), bufferbasis (BB), standaardbikarbonaat (St.  $\text{HCO}_3^-$ ), ware bikarbonaat (Act.  $\text{HCO}_3^-$ ) en totale  $\text{CO}_2$

Vir 'n verdere ontrafeling van die bloed se suurbasisstatus is bogenoemde metings gedoen.  $p\text{CO}_2$  verteenwoordig veral die respiratoriese aspek, terwyl die belangrikste parameter vir die interpretasie van suurbasis-

basiswanbalans as gevolg van metaboliese steuring waarskynlik BE is.

Al die suurbasisparameters is met behulp van 'n Astrup-apparaat gemeet met gebruikmaking van die Siggaard-Andersen se nomogram vir suurbasisevaluering (Siggaard-Andersen & Engel, 1960; Siggaard-Andersen, 1962).

In die literatuur is min informasie beskikbaar oor die invloed van hipertermie op bogenoemde parameters. Dit is beperk tot  $p\text{CO}_2$ -metings van bloed in hipertermiese honde (Kubicek et al., 1958; Frankel & Cain, 1966) en beeste (Hales et al., 1967) waar in alle gevalle 'n afname gevind is. 'n Verlagings in die plasmabikarbonaat is ook in hittesteekpasiënte gevind (Ferris et al., 1938; Malamud et al., 1946).

In die huidige ondersoek is ook gevind (Tabel 22) dat die  $p\text{CO}_2$  van arteriële en veneuse bloed afneem in hipertermiese rotte. Hierdie daling in bloed- $p\text{CO}_2$  is betreklik uitgesproke, want die fisiese effek van verhoging in temperatuur is om die partiële spanning van bloedgasse in oplossing, ook van  $\text{CO}_2$  te verhoog

TABEL 22 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE BLOED SE KOOLSUURGAS-PARSIËLE SPANNING ( $pCO_2$ ), BASISOOR-  
 MAAT (BE), BUFFERBASIS (BB), STANDAARDBIKARBONAAT (St.  $HCO_3^-$ ), WARE BIKARBONAAT (Act.  $HCO_3^-$ )  
 EN TOTALE KOOLSUURGAS (Tot.  $CO_2$ )<sup>x</sup>

Bloed	Temperatuur van radiometer (°C)	Duur van hipertermie (min)	$pCO_2$ (mm Hg)			BE (mEkw/liter)			BB (mEkw/liter)			St. $HCO_3^-$ (mEkw/liter)			Act. $HCO_3^-$ (mEkw/liter)			Tot. $CO_2$ (mEkw/liter)		
			K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
			Dorsale aorta	38,0	5	33,0	31,3	27,1	-2,4	-3,0	-4,9	46,7	44,7	43,1	22,0	20,0	19,8	20,5	18,1	18,0
42,5	5	38,1		39,5	29,9	-2,4	-3,0	-4,9	46,7	44,9	43,2	22,0	20,0	19,6	20,5	18,1	18,0	21,5	19,0	18,8
38,0	10	32,0		32,4	26,0	-2,7	-3,6	-7,3	45,5	43,4	41,3	22,2	19,8	18,1	19,9	18,3	15,1	20,8	19,3	16,0
42,5	10	37,5		39,0	28,2	-2,7	-3,6	-7,3	45,5	43,4	41,1	22,2	19,8	17,9	19,9	18,3	15,1	20,8	19,3	16,0
38,0	20	33,0		32,0	24,0	-2,4	-3,8	-10,6	46,7	44,0	41,7	22,0	20,0	17,4	20,5	18,4	12,3	21,5	19,7	13,1
42,5	20	38,1		39,0	26,0	-2,4	-3,8	-10,6	46,4	44,0	41,7	22,0	20,0	16,9	20,5	18,4	12,3	21,5	19,7	13,1
38,0	40	30,2		27,3	21,3	-2,7	-2,5	-11,3	44,5	43,6	36,9	21,2	21,2	15,8	18,9	18,4	11,6	19,8	19,2	12,2
42,5	40	36,3		34,8	25,0	-3,7	-4,0	-12,5	44,6	43,2	36,8	21,1	20,8	15,2	20,3	18,6	11,9	21,3	20,8	12,6
Regter-atrium	38,0	5	38,0	38,0	30,3	-1,9	-2,3	-10,1	44,5	42,0	39,8	19,0	19,0	16,4	22,0	20,6	14,9	22,7	23,0	15,9
	42,5	5	46,0	45,0	34,0	-1,9	-2,3	-10,1	44,5	42,0	39,8	19,0	19,0	16,3	22,0	20,6	14,9	22,7	23,0	15,9
	38,0	10	37,0	38,0	30,0	-1,9	-2,3	-11,7	44,5	42,0	38,1	19,0	19,0	15,4	22,0	20,6	14,8	22,7	23,0	15,9
	42,5	10	44,0	46,0	34,5	-1,9	-2,3	-11,7	44,5	42,0	38,1	19,0	19,0	15,4	22,0	20,6	14,8	22,7	23,0	15,9
	38,0	20	38,0	38,0	29,6	-1,9	-2,3	-12,8	44,5	42,0	38,0	19,0	19,0	14,8	22,0	20,6	14,5	22,7	23,0	15,7
	42,5	20	45,0	46,0	33,5	-1,9	-2,3	-12,8	44,5	42,0	38,0	19,0	19,0	14,6	22,0	20,6	14,5	22,7	23,0	15,7
	38,0	40	36,0	37,0	29,3	-1,9	-2,3	-13,0	44,5	40,0	35,0	21,0	19,0	14,0	22,0	18,6	12,0	22,7	23,0	13,0
	42,5	40	44,0	46,0	33,6	-1,9	-3,4	-14,4	46,0	40,3	35,2	21,1	19,7	13,5	22,5	19,4	12,2	22,9	23,0	13,2

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

(Bradley et al., 1956). Soos reeds aangetoon, is hierdie daling in  $p\text{CO}_2$  moontlik te wyte aan hiperventilasie (bl. 124).

Die ander parameters gemeet in verband met suurbasisstatus verminder tydens hipertermie (Tabel 22), en dit is waarskynlik te wyte aan die ophoping van melksuur (Tabel 19).

As bogenoemde metings tesame met pH-metings geneem word, word tot die gevolgtrekking gekom dat in die hipertermiese rot 'n ongekompanseerde metaboliese asidose bestaan.

Hierdie versteuring in suurbasisstatus kan moontlik ook versteuring in die elektrolietstatus tot gevolg hê, veral as in gedagte gehou word dat bikarbonaat en chloried baie nou skakel en chloried weer nou skakel met natrium en kalium. In die volgende afdeling is die invloed van hipertermie dus op sekere bloedelektroliete nagegaan.

## 5.6 BLOEDELEKTROLIETE

Oor die elektrolietkonsentrasie van bloed tydens hi=

pertermie is meestal in pasiënte gerapporteer maar ook in enkele dierproewe. Veral is bloedkalium, -natrium, -chloried en -kalsium ondersoek afgesien van die bloedbikarbonaat wat vroeër bespreek is.

Austin & Berry (1956) het hipokalemie in 27 uit 44 hittesteekpasiënte gerapporteer. Ook Ferris et al. (1938) het in 2 hittesteekpasiënte die plasmakalium-konsentrasie bepaal en 'n daling gevind. In 'n gevalstudie is ook 'n daling in plasmakalium deur Knochel et al. (1961) gerapporteer. Aan die ander kant is hiperkalemie ook soms in hittesteekpasiënte gevind (Austin & Berry, 1956; Baxter & Teschan, 1958).

Frankel (1959) het die konsentrasie van kalium, natrium en kalsium in die serum van hittesteekrotte gemeet. 'n Styging in die kalium- en kalsiumkonsentrasie, maar slegs 'n geringe styging in die natriumkonsentrasie is gerapporteer. Die hematokrit het egter ook gestyg en volgens die waardes aangegee wil dit voorkom dat as daarvoor gekorrigeer word, slegs die styging in die kaliumkonsentrasie nie ten volle

verklaar kan word deur bloedindikking nie. Uit die literatuur blyk dit verder dat natrium- en chloried-konsentrasie in die plasma nie juis verander in hittesteekgevalle nie (Leithead & Lind, 1964).

Die moontlikheid bestaan dat 'n verlaging in serumkalsiumkonsentrasie mag bydra tot die konvulsies wat tydens hipertermie waargeneem word. Spesiale aandag is deur Iampietro (1963) aan hitte-geïduseerde tetanie gegee. Dié navorsers het tetanie by mense opgewek en in die bloedplasma-totale- $\text{CO}_2$ , plasmaproteïen, totale kalsium en pH bepaal. Kalsium het gestyg maar ook in sommige gevalle gedaal. Die ander gemete parameters het gedaal.

In die huidige ondersoek is ondersoek ingestel na die serumkalium-, -natrium en -kalsiumkonsentrasie asook na die chloriedkonsentrasie in plasma en heelbloed in rotte. Behalwe dat hiermee ekstra informasie ingewin sal word in verband met genoemde elektroliete, is die analyses onder omstandighede soortgelyk aan dié waar die suurbasisparameters gedoen is, gemeet wat sinvoller interpretasie van die resultate moontlik

maak.

Die resultate is in Tabel 23 opgesom. Hierdie resultate kan op twee maniere bespreek word, naamlik voordat daar vir bloedindikking gekorrigeer is (hematokrit nie in berekening gebring nie) en nadat vir bloedindikking gekorrigeer is (hematokrit wel in berekening gebring). Dit is belangrik om te weet wat die konsentrasie van 'n substans in die bloed in die intakte dier is, veral as 'n verhoging of verlaging in die konsentrasie van die substans die liggaam per se kan benadeel. Van die getoetste parameters is dit veral nodig om te weet wat die konsentrasie van kalium en kalsium is, sonder korreksie vir bloedindikking. Die redes is dat hiperkalemie tot hartversteurings aanleiding kan gee, terwyl 'n hipokalsemie tetanie kan veroorsaak. Die kalsiumkonsentrasie bly konstant in hierdie studie, maar die kaliumkonsentrasie styg betekenisvol. As in gedagte gehou word dat 'n 2- tot 3-voudige toename in serumkalium hartfunksie kan belemmer, is dit duidelik uit Tabel 23 dat die serumkaliumkonsentrasie tydens hipertermie veral teen die einde van die verhittingsperiode sodanig

TABEL 23 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE KONSENTRASIE VAN ELEKTRO-  
LIETE VAN DORSALE AORTABLOED<sup>x</sup>

	Elektroliete (voor hematokrit- korreksie)			Elektroliete (na hematokrit- korreksie)			Hemato- krit <sup>xx</sup> (%)		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
Duur van hipertermie : 5 min									
Kalium (mEkw/liter serum)	3,8	3,7	5,1	3,8	3,7	4,7	44	44	48
Natrium (mEkw/liter serum)	141,8	138,5	139,7	141,8	138,5	128,1	44	44	48
Totale kalsium (mEkw/liter serum)	4,6	4,5	4,4	4,6	4,5	4,0	44	44	48
Chloried (mEkw/liter plasma)	100,8	100,8	102,1	100,8	100,8	93,6	44	44	48
Chloried (mEkw/liter bloed)	85,6	85,7	83,1	85,5	85,7	76,2	44	44	48
Duur van hipertermie : 10 min									
Kalium (mEkw/liter serum)	3,8	3,6	5,7	3,8	3,6	4,8	44	44	52
Natrium (mEkw/liter serum)	141,8	138,5	142,0	141,8	138,5	120,2	44	44	52
Totale kalsium (mEkw/liter serum)	4,6	4,5	4,7	4,6	4,5	4,0	44	44	52
Chloried (mEkw/liter plasma)	100,8	101,0	102,1	100,8	100,0	86,4	44	44	52
Chloried (mEkw/liter bloed)	85,0	85,5	82,3	85,0	85,5	69,6	44	44	52
Duur van hipertermie : 20 min									
Kalium (mEkw/liter serum)	3,7	3,6	6,2	3,7	3,6	5,1	44	44	54
Natrium (mEkw/liter serum)	139,8	138,5	140,1	139,8	138,5	114,2	44	44	54
Totale kalsium (mEkw/liter serum)	4,5	4,5	4,4	4,5	4,5	3,6	44	44	54
Chloried (mEkw/liter plasma)	100,8	100,4	104,4	100,8	100,4	85,1	44	44	54
Chloried (mEkw/liter bloed)	85,6	85,7	82,4	85,6	85,7	67,1	44	44	54

TABEL 23 : VERVOLG

	Elektroliete (voor hematokrit- korreksie)			Elektroliete (na hematokrit- korreksie)			Hemato= krit (%)		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
	Duur van hipertermie : 40 min.								
Kalium (mEkw/liter serum)	3,7	3,7	8,0	3,7	3,7	6,1	44	44	58
Natrium (mEkw/liter serum)	141,8	137,6	136,5	141,8	137,6	103,6	44	44	58
Totale kalsium (mEkw/liter serum)	4,6	4,5	4,3	4,6	4,5	3,3	44	44	58
Chloried (mEkw/liter plas=ma)	100,8	101,2	107,4	100,8	101,2	81,5	44	44	58
Chloried (mEkw/liter bloed)	85,0	86,2	81,3	85,0	86,2	61,7	44	44	58

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

\*\*'n Hematokrit van 44% is as die normale waarde vir korreksie doeleindes aanvaar.

styg dat dit wel toksies kan wees.

'n Tweede benadering om die resultate te interpreteer is om vir bloedindikking te korrigeer en dan te sien of enige verandering plaasgevind het wat nie op grond van bloedindikking verklaar kan word nie.

Die resultate van die elektroliete na korreksie vir bloedindikking word in Tabel 23 weergegee. Uit hierdie tabel blyk dit dat kalium in die serum tydens hipertermie styg. Die styging is miskien nie tot 'n toksiese vlak nie maar hoogs betekenisvol. Al die ander gemete elemente se konsentrasie daal. So 'n patroon sal in die breë inpas by 'n asidose toestand soos dan ook in hierdie ondersoek aangetoon is. In asidose beweeg die kalium uit die selle in die ekstrasel= lulle vloeistof en natrium van die ekstrasel= lulle vloeistof in die selle in. Onder die omstan= dighede neig die serumkalium om misleidend hoog te wees. In hierdie omstandighede dan is die serumna= triumkonsentrasie gewoonlik verminder en die serum= kalsiumkonsentrasie is normaal of verlaag.

Die verlaging in bloed- en plasmachloriedkonsentrasie

tydens hipertermie is moeilik te verklaar, trouens uit veranderinge in bloedchloriedkonsentrasie kan in elk geval nie dieselfde definitiewe gevolgtrekkings gemaak word as vir baie ander bloedbestanddele nie. In hierdie geval mag die chloriedverskuiwing saamhang met die natriumverskuiwing.

#### 5.7 PARAMETERS GEASSOSIEER MET DIE KOOLHIDRAAT-, VET- EN PROTEÏENMETABOLISME

Dit is bekend dat koolhidrate die onmiddellike bron van energie is, terwyl vette by uitstek die energieleweringssubstans in die liggaam is. Oormatige behoefte aan energielewende substrate kan aanleiding gee dat ook proteïene verwerk word vir energiedoelendes. Gedurende hipertermie, wanneer biochemiese prosesse versnel, in elk geval aanvanklik, mag die behoefte aan energieverkaffende substrate sodanig wees dat koolhidraat-, vet- en proteïenmetabolisme betrek word. Daar is dus sekere metings deurgevoer wat hopelik meer lig op die hantering van koolhidrate, vette en proteïene deur die liggaam tydens hipertermie sal werp.

5.7.1 Parameters geassosieer met koolhidraatmetabolisme (bloedglukose, -piruviensuur en -melksuur)

#### 5.7.1.1 Bloedglukose

In hittesteekpasiënte is min informasie beskikbaar aangaande die bloedglukosekonsentrasie. Gewoonlik word die gevalle behandel deur die intraveneuse toediening van glukose voordat bloedanalises gedoen kan word. Bazette (1931) het 'n daling in die bloedglukosekonsentrasie by bonormale liggaamstemperature gerapporteer, terwyl Simon (1935) weer 'n styging in die bloedglukosekonsentrasie tydens hipertermie gerapporteer het. Peter (1972) rapporteer weer 'n hiperglusemiese toestand in mildelike gevalle van hittesteek maar 'n hipoglusemiese toestand in erge gevalle van hittesteek.

Vir soverre dit die bloedglukosekonsentrasie in hipertermiese diere aangaan, het Hall & Wakefield (1927) 'n toename by verhitte honde gerapporteer. Dié toename in bloedglukosekonsentrasie was egter

nie 'n gereelde waarneming nie en het selfs in sommige gevalle gedaal. Kubicek et al. (1958) en Kanter (1959) het dan ook gevind dat die bloedglukosekonsentrasie wel in verhitte honde en ook in ape daal (Kubicek et al., 1958).

Die huidige proewe se resultate is in Tabel 24 opgesom. Die resultate is weergegee voordat en nadat daar vir die verandering in hematokrit gekorrigeer is. Belangrik in hierdie resultate is die hipogluemiese toestand wat gevind is by die verhitte diere wat veral, na vir hematokrit gekorrigeer is, 'n duidelike afname getoon het met toename in graad van hipertermie.

#### 5.7.1.2 Bloedpiruviensuur

Volgens die studies van Frankel et al. (1963) en Frankel & Ferrante (1966) styg die bloedpiruviensuurkonsentrasie in hipertermiese honde en in beeste (Hales et al., 1967) tot 'n geringe mate. Dit skyn die enigste rapporte te wees oor dié onderwerp. Dié waarnemings word deur die huidige werk op rotte be-

TABEL 24 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE KONSENTRASIE VAN GLUKOSE, MELKSUUR EN PIRUVIENSUUR  
VAN DORSALE AORTABLOED<sup>x</sup>

	Duur van hipertermie (min)											
	5			10			20			40		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
Glukose (mg/100 ml)												
voor hematokrit-korreksie	80,0	80,0	55,0	80,0	80,0	55,0	80,0	80,0	38,0	80,0	80,0	45,0
na hematokrit-korreksie	80,0	80,0	50,4	80,0	80,0	48,4	80,0	80,0	32,1	80,0	80,0	34,1
Piruvien suur (mg/100 ml)												
voor hematokrit-korreksie	2,6	2,6	3,2	2,6	2,6	3,1	2,6	2,6	3,1	2,6	2,6	3,0
na hematokrit-korreksie	2,6	2,6	2,9	2,6	2,6	2,7	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,3
Melksuur (mg/100 ml)												
voor hematokrit-korreksie	19,0	18,8	62,2	19,0	18,8	70,0	19,0	20,0	74,0	19,0	20,6	64,3
na hematokrit-korreksie	19,0	18,8	57,0	19,0	18,8	61,6	19,0	20,0	62,6	19,0	20,6	48,8
Hematokrit <sup>xx</sup>	44	44	48	44	44	50	44	44	52	44	44	58

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

<sup>xx</sup>'n Hematokrit van 44% is as die normale waarde vir korreksie doeleindes aanvaar.

vestig (Tabel 24). Veral nadat vir hematokrit gekorrigeer is, is dit duidelik dat die piruviensuurkonsentrasie nie verander nie.

#### 5.7.1.3 Bloedmelksuur

Vir soverre dit die bloedmelksuurkonsentrasie aangaan, word dit algemeen aanvaar dat hipertermie 'n toename in mense en in diere veroorsaak. Ferris et al. (1938) het 'n verhoogde melksuurkonsentrasie in die bloed van hittesteekpasiënte aangetoon. Hall & Wakefield (1927), Marsh (1930), Frankel et al. (1963) en Frankel & Cain (1966) het 'n verhoogde bloedmelksuurkonsentrasie in verhitte honde en Hales et al. (1967) in verhitte beeste aangetoon.

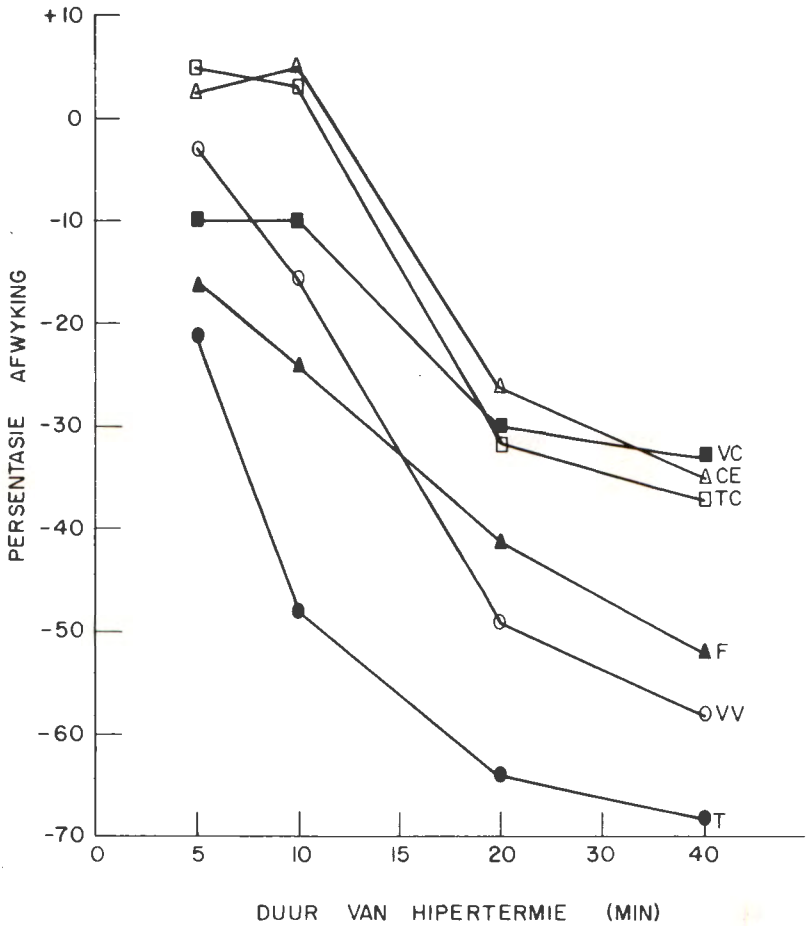
In die huidige ondersoek waar rotte as proefdiere gebruik is, is ook 'n uitgesproke verhoging in bloedmelksuurkonsentrasie aangetoon (Tabel 24). Die verband daarmee, waar ook die piruviensuurkonsentrasie in berekening gebring is met weefselhipoksie is alreeds aangetoon (bl. 119).

5.7.2 Parameters geassosieer met vetmetabolisme  
(totale cholesterol, cholesterol-esters, vry-  
cholesterol, vry-vetsure, trigliseriede en  
fosfolipiede in plasma)

Fahræus et al. (1925) het bewys dat as vars weefsel= skyfies wat vetmateriaal bevat, verwarm word, die cholesterol-esters bokant  $37^{\circ}\text{C}$  gehidroliseer word. Lovelock (1954) toon aan dat die cholesterolinhoud van rooibloedliggaampies van die mens baie beïnvloed word deur temperatuur. Irvine et al. (1957) het gevind dat die toevoeging van cholesterol tot die basiese dieet van Pabulum, die weerstand van goudvisse teen hitte laat toeneem. In 1968 het Frankel aange= toon dat serum-totale lipiede en vetsure afneem in katte tydens progressiewe hipertermie.

In die huidige ondersoek is addisionele informasie ingewin deur rotte as proefdiere te gebruik en ook deur verskeie bloedsustanse wat nog nie gemeet is nie, tydens hipertermie te meet.

Die resultate is grafies (Figuur 4) weergegee. Uit hierdie resultate blyk dit dat die vry-cholesterol,



Figuur 4: Die invloed van hipertermie op plasma-lipogramme. Die per= sentasie afwyking van die E-waardes is bereken en grafies voorgestel. Elke punt is die gemiddelde waarde vir 10 proefdiere. Sleutel: VC = vry-cholesterol; CE = cholesterolesters; TC = totale cholesterol; F = fosfolipiede; VV = vry-vetsure; T = trigliserieede.

totale cholesterol, cholesterol-esters, vry-vetsure, trigliseriede en fosfolipiede afneem met progressiewe hipertermie. Dit dui moontlik daarop dat vet as energiebron gebruik word, veral aangesien die bloedglukose so baie daal. Die afname van veral vryvetsure, trigliseriede en fosfolipiede is reeds na 5 minute van hipertermie betekenisvol. Verder blvk dit dat na 20 minute van hipertermie die waardes naastenby 'n plato bereik. Dit mag, ook soos in die geval van melksuur en ander bloedsustanse, toege-skryf word aan bloedsirkulasie-ineenstorting. Dit kan natuurlik ook wees omdat die daling neig na 'n 100% afname, met ander woorde 'n plato sal altyd bereik word en hoef nie normaalweg 'n gevolg van die sirkulasie te wees nie.

5.7.3 Proteïenmetabolisme (bloed-nie-proteïenstikstof-, -ammoniak-, -ureumkonsentrasie, serum-totale proteïen en proteïenelektroforese en plasma-aminogramme)

Hall & Wakefield (1927) en Marsh (1930) het aangetoon dat bloed-nie-proteïenstikstof- en -ureumkonsentrasie

in verhitte honde styg. Marsh (1930) is van mening dat die toename in nie-proteïenstikstof in die bloed op proteïenafbreking sou dui en die styging in bloed-ureumkonsentrasie op nierbeskadiging. Ook is die bloed-nie-proteïenstikstof en -ureumkonsentrasie in hittesteekpasiënte verhoog (Malamud et al., 1946; Chakravasti & Tyagi, 1938; Austin & Berry, 1956; Barry & King, 1962).

'n Toename in ammoniakproduksie in geïsoleerde visbrein by bonormale temperature is deur Fuhrman et al. (1944) waargeneem. Kozlov (1958) het gevind dat die ammoniakkonsentrasie in die bloed van konyne wat vir 1 tot 2 uur in 'n omgewingstemperatuur van 50°C gehou word, toeneem. Ammoniak is 'n hoogs sitotoksiese stof (Prior et al., 1970). Afgesien van die metaboliese informasie wat uit die meting van die bloedammoniakkonsentrasie bekom kan word, kan ook vasgestel word of dit dalk sulke hoë waardes bereik dat dit toksies mag wees.

Verder is ook al totale serumproteïen by hipertermiese honde gemeet (Hall & Wakefield, 1927). Baie

geringe daling is waargeneem.

In die huidige ondersoek is rotte as proefdiere gebruik. Die bloed van kontrole- en verhitte diere is geanaliseer:

(i) vir normale proteïenbeeld, naamlik totale proteïen en proteïenelektroforese (Tabel 25);

(ii) vir die plasma-aminosuurpatroon (Tabel 26); en

(iii) vir proteïen-kataboliete, soos nie-proteïen-stikstof en ureum in serum en veral met die oog op 'n toksiese stof is die serumammoniakkonsentrasie ook bepaal (Tabel 27).

Uit Tabel 25 is dit duidelik dat hipertermie wel 'n geringe afname in totale serumproteïen teweegbring, maar die vermindering is nie statisties beduidend nie. Daar is ook geringe verskuiwings in die proteïenelektroforese patroon, maar ook dié is nie statisties betekenisvol nie.

Wat betref die aminosuurpatroon (Tabel 26) is waargeneem dat hipertermie 'n styging in die plasma-glu=

TABEL 25 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE TOTALE PROTEÏENKONSENTRASIE EN PROTEÏENELEKTROFORESE PATROON VAN BLOEDSERUM (DORSALE AORTA)\*

	Duur van hipertermie (min)											
	5			10			20			40		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
Hematokrit (%)**	44	44	48	44	44	50	44	44	52	44	44	58
Totale proteïen (g/100 ml)												
voor hematokrit-korreksie	6,8	7,0	7,1	6,9	6,9	7,2	6,8	6,8	7,4	6,8	7,1	7,9
na hematokrit-korreksie	6,8	7,0	6,5	6,9	6,9	6,3	6,8	6,8	6,3	6,8	7,1	6,0
Albumien (%)	46,3	46,4	46,0	46,3	45,9	46,3	46,3	45,9	46,8	46,3	46,1	47,3
Globulien (%)												
Alfa	17,5	17,1	17,8	17,5	17,6	17,4	17,5	17,6	17,8	17,5	17,1	19,3
Beta	26,8	27,1	26,8	26,8	27,1	26,9	26,8	27,1	26,0	26,8	27,8	25,5
Gamma	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,0	7,9

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

\*\*n Hematokrit van 44% is as die normale waarde vir korreksie doeleindes aanvaar.

TABEL 26 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP BLOEDPLASMA-AMINOGRAMME\*

Aminosure ( $\mu$ mol/ml)	Duur van hipertermie (min)					
	20			40		
	K	Kw	E	K	Kw	E
Treonien	0,18	0,15	0,13	0,18	0,12	0,11
Serien	0,22	0,20	0,18	0,22	0,19	0,13
Glutamiensuur	0,04	0,04	0,06	0,04	0,03	0,09
Glisien	0,25	0,26	0,26	0,25	0,19	0,20
Alanien	0,24	0,24	0,34	0,24	0,23	0,34
Valien	0,16	0,16	0,14	0,16	0,13	0,19
Metionien	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,06
Iso-leusien	0,08	0,07	0,06	0,08	0,07	0,01
Leusien	0,12	0,14	0,12	0,12	0,10	0,12
Tirosien	0,08	0,07	0,06	0,08	0,05	0,11
Fenielalanien	0,06	0,07	0,06	0,06	0,04	0,06
Lisien	0,35	0,34	0,35	0,35	0,25	0,23
Histidien	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,04
Ammoniak	0,12	0,12	0,14	0,12	0,08	0,17

\*Elke waarde is die gemiddelde van 5 bepalings op die plasma waar 2 tot 5 proefdiere se plasma gemeng was. Die waardes is vir bloedindikking gekorrigeer.

TABEL 27 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE KONSENTRASIE VAN NIE-PROTEÏENSTIKSTOF, UREUM EN AMMONIAK VAN DORSALE AORTABLOED<sup>x</sup>

	Duur van hipertermie (min)											
	5			10			20			40		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
Nie-proteïen-stikstof (mg/100 ml)												
voor hematokrit-korreksie	31,6	29,4	35,0	31,6	29,5	37,0	31,6	29,8	45,0	31,6	28,8	68,4
na hematokrit-korreksie	31,6	29,4	32,1	31,6	29,5	32,6	31,6	29,8	38,1	31,6	28,8	51,9
Ammoniak (µg/ml)												
voor hematokrit-korreksie	1,4	1,6	1,6	1,4	1,6	1,8	1,4	1,6	2,0	1,4	1,6	2,4
na hematokrit-korreksie	1,4	1,6	1,5	1,4	1,6	1,6	1,4	1,6	1,7	1,4	1,6	1,8
Ureum (mg/100 ml)												
voor hematokrit-korreksie	37,6	40,2	44,4	37,6	40,0	48,1	40,0	40,0	58,0	37,6	41,2	73,6
na hematokrit-korreksie	37,6	40,2	40,7	37,6	40,0	42,3	40,0	40,0	49,1	37,6	41,2	55,8
Hematokrit <sup>xx</sup>	44	44	48	44	44	50	44	44	52	44	44	58

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

<sup>xx</sup>in Hematokrit van 44% is as die normale waarde vir korreksie doeleindes aanvaar.

tamiensuur-, -alanien-, -valien- en -tiroisienkonsentrasie teweegbring terwyl 'n daling in -serien- en -iso-leusienkonsentrasie waargeneem is. Die volle betekenis van dié veranderinge is nie duidelik nie.

Uit Tabel 27 blyk dit dat die bloed-nie-proteïenstikstof styg en so ook die bloedureum- en tot 'n geringe mate die bloed-ammoniakkonsentrasie. Die bloedureumkonsentrasie kan nie die styging in nie-proteïenstikstof verklaar nie. Die geringe styging in bloedammoniakkonsentrasie kan ook nie veel byvoeg nie, dus moet daar nog ander bronne wees soos 'n toename in die totale aminosure gemeet (Tabel 26). Alhoewel die bloedammoniakkonsentrasie statisties beduidend styg, is dit onwaarskynlik dat dit wel 'n toksiese vlak bereik het volgens waarnemings by skape (Coombe & Tribe, 1958) en mense (Phillips et al., 1952; McDermott & Adams, 1954).

## 5.8 ALGEMENE BESPREKING

Hierdie bloedondersoek is onderneem om te probeer vasstel hoe die normale liggaamsfunksie versteur word

tydens hipertermie. Alhoewel daar deur bloedanalise nie noodwendig 'n wanbalans in die liggaam opgespoor kon word nie, is die parameters wat onder die huidige toestande gemeet is, veral so gekies dat hulle wel 'n aanduiding sal gee van die status van daardie sisteme waaroor informasie ingewin wou word. Die spanning waaronder die proefdiere verkeer het, was ook akuut en heftig sodat daar nie juis tyd was vir volkome aanpassing nie. Juis vanweë die korte duur van die hipertermie sou wanbalans verwag word in daardie meganismes wat tot 'n skielike dood aanleiding kon gee. Ook is gepoog om die proewe so uit te voer, veral deur die tydsduur van die hipertermie te verander, om 'n aanduiding te kry van daardie veranderinge wat die vroegste intree.

Uit die literatuur blyk dit dat dit veral van waarde kan wees om te toets vir suurbasis- en elektrolietstatus asook vir selhipoksie.

Tydens 'n akute steuring van selfunksie soos tydens selhipoksie sou verwag word dat alle selfunksies belemmer is. In hierdie ondersoek is veral gepoog om

daardie sisteme te bestudeer wat direk by energiepro=duksie betrokke is en/of 'n aanduiding kan gee van die hoeveelheid van 'n voedingstof wat vir energie=doeleindes gebruik word. Die metaboliese paaie wat in gedagte gehou is, is die glikoliseproses en die trikarboksielsuursiklus. Daarom is glukose, melk= suur en piruviensuur altyd gelyktydig op elke bloed=monster bepaal. Bykomend sou veral die vetsuurvlak in die bloed en die bloedureumkonsentrasie (met voor=behoud, bl. 18) 'n aanduiding wees van die mate van vet- en proteïenafbreking vir energiedoeleindes, respektiewelik. Dit gaan egter hier ook om wanme=tabolisme daarom is vir die bykomende parameters ge=assosieer met vet- en proteïenmetabolisme getoets.

As die resultate in oënskou geneem word, is dit dui=delik dat daar 'n verskeidenheid van chemiese proses=se tydens hipertermie ernstig beskadig word.

Wat betref die versteuring wat eerste optree, kon nie 'n duidelike beeld verkry word nie. Na selfs 5 minute van hipertermie is daar 'n styging in die hema=tokrit-waarde, droë gewigte van bloed en serum, 'n

styging in nie-proteïenstikstof-, ureum-, melksuur-, piruviensuurkonsentrasie van bloed en oormaat melksuur is in bloed aanwesig; kaliumkonsentrasie van serum en die arteriële bloed- $pO_2$  styg ook. Aan die ander kant is daar 'n daling in die konsentrasie van fosfolipiede en trigliseriede van bloedserum; daling in bloedglukosekonsentrasie asook 'n daling in die bloed se pH,  $pCO_2$ , BE, BB, St.  $HCO_3^-$  en totale  $CO_2$ . Deur bloedanalises is dit baie moeilik om veral meganismes van veranderinge te bestudeer. Alhoewel op elkeen van die veranderinge wat in die bloed waargeneem is 'n diepgaande studie gemaak kan word, is dit my oorwoë mening dat veral die waarneming in verband met die selhipoksie van groot betekenis is en vir my baie interessant voorkom. Om meer te wete te kom van die meganisme van hierdie afwyking sal studies op sellulêre vlak uitgevoer moet word. Sodanige studies is die onderwerp van die volgende hoofstuk.

## HOOFSTUK 6

METABOLIESE VERANDERINGE IN DIE LEWER TYDENS HIPER-  
TERMIE

## 6.1 INLEIDING

In hierdie hoofstuk is ondersoek ingestel na metabo-  
liese veranderinge op subsellulêre vlak tydens hiper-  
termie. Lewerweefsel is hiervoor gekies, omdat ge-  
vind is dat dit een van die weefsels is wat die vroeg-  
ste tydens hipertermie beskadig word, geoordeel aan  
die afname in suurstofopname selfs slegs na 5 minute  
by 'n rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$  (Tabel 10) 'n  
bevinding wat tot 'n mate deur die serumensiemanali-  
ses gesteun word (bl. 93).

'n Afname in suurstofopname dui nie die meganisme van  
beskadiging aan nie. Dit mag 'n weergawe wees van  
die primêre ineenstorting van die oksidasie-reduksie-  
meganismes, maar dit mag ook selwanfunksie in sy ge-  
heel weergee, waar sisteme buite die oksidasie-reduk-  
sie-sisteme benadeel is en die sisteem dan sekondêr

betrek word.

In Hoofstuk 5 is deur bloedanalise 'n poging aangewend om vas te stel watter chemiese veranderinge in die hipertermiese dier plaasvind. Daar is besluit om veral die invloed van hipertermie op die suurbasis- en elektrolietstatus van die liggaam te ondersoek. Daar is gevind dat die suurbasis- en elektrolietstatus versteur word tydens hipertermie. Hipertermie veroorsaak ook selhipoksie en versteuring in koolhidraat-, vet- en proteïenmetabolisme.

Die vraag ontstaan nou watter van die bogenoemde biochemiese steurings primêr aan lewerwanfunksie toegeskryf kan word. Gesien die funksies van die lewer, sou versteuring in die suurbasis- en elektrolietstatus van die liggaam nie in die eerste plek aan lewerwanfunksie toegeskryf word nie. Bloot die demonstrasie van selhipoksie is nie spesifiek vir een soort liggaamsel nie maar dit sluit eintlik al die liggaamselle in. Wat ookal die oorsaak van hierdie selhipoksie mag wees, dié toestand kan aanleiding gee tot die spesifieke versteuring soos waargeneem tydens hipertermie

in die koolhidraat-, vet- en proteïenmetabolisme.

Die feit dat die bloedglukosekonsentrasie verlaag en -melksuurkonsentrasie verhoog, dui moontlik daarop dat glukose by uitstek in die glikoliseproses afgebreek word. Aangesien melksuur in die liggaam uitsluitlik van piruviensuur afkomstig is, kan vetsuur- en proteïenkatabolisme ook 'n bydrae lewer. Die vermeerderde katabolisme van vet en proteïen vir energiedoeleindes word veral weerspieël in die afname in die vetsuurkonsentrasie van die bloed en styging van die bloedureumkonsentrasie respektiewelik. Die toename in bloedureumkonsentrasie mag egter ook te wyte wees aan nierwanfunksie, alhoewel onwaarskynlik, volgens die hittetoleransie van die nierweefsel.

(Die bloedureumkonsentrasie styg voordat die nierweefsel se suurstofopname afneem.) Net soos selhipoksie is die versteurings in koolhidraat-, vet- en proteïenmetabolisme nie eie aan een selsoort nie, tog is die belangrike rol wat die lewer in die koolhidraat-, vet- en proteïenmetabolisme speel, bekend. Aangesien dit bewys is dat lewerweefsel een van die weefsels is wat die vroegste tydens hipertermie be-

skadig word (Hoofstuk 4) sou vermag kan word dat die lewer wel deeglik sy bydrae lewer om die toestand daar te stel soos waargeneem in die bloedanalises. Aangesien die selhipoksie in vivo deur 'n kompleks van veranderinge geskep kan word, is die beskadiging van die oksidasie-reduksie-meganismes en energieproduksie soos vervat in die oksidatiewe fosforilasieproses en die aanverwante metaboliese paaie soos die trikarboksielsuursiklus die Emden-Meyerhof-pad, die piruviensuurdehidrogenasesisteam die heksosemonofosfaatompad, baie moontlik.

Alhoewel studies aangaande die invloed van hipertermie spesifiek op die oksidasie-reduksie-meganismes, die trikarboksielsuursiklus, die Emden-Meyerhof-pad, die piruviensuurdehidrogenasesisteam en die heksosemonofosfaatompad uiters beperk is, is daar tog indikasies uit veral in vitro-studies dat sekere van hierdie nou gekoppelde sisteme, beïnvloed mag word. Al sou beskadiging slegs op een punt geskied, kan 'n hele reeks veranderings natuurlik vermag word. Morris & King (1962) het die invloed van hipertermie ( $42,2^{\circ}\text{C}$ ) op die vermoë van die Keilin-Hartreeprepa-

raat vir NADH-oksidasie bestudeer en gevind dat dit onderdruk word selfs omtrent na 5 minute van verhitting. Christiansen & Kvamme (1969) het weer ondersoek ingestel na die invloed van in vitro-temperatuur op tot 45°C op oksidatiewe fosforilasie en die respiratoriese kontrole van onder andere muisbrein en -lewer. Daar is gevind dat oksidatiewe fosforilasie van muislewer mitochondria afneem na 10 minute blootstelling by  $\pm 41^{\circ}\text{C}$ .

Oor die invloed van hipertermie spesifiek op die trikarboksielsuursiklus, die Emden-Meyerhof-pad, die piruviensuurdehidrogenasesisteam en die heksosemonofosfaatompad is waarskynlik nog glad nie gerapporteer nie.

In hierdie navorsingsprojek is dus ondersoek ingestel na die intaktheid van bogenoemde sisteme in lewerweefsel van verhitte rotte.

## 6.2 DIE PROEFDIERE

Hipertermie is by die rotte geïnduseer soos reeds beskryf (bl. 60). 'n Liggaamstemperatuur van 42,5°C

is vir ðf 5, ðf 10, ðf 20, ðf 40 minute onderhou waarna die dier onthoof is, die lewer vinnig verwyder en afgekoel en dan verder hanteer soos vereis vir die verskillende proewe. Saam met elke verhitte rot (E-rot) is ook twee kontrollerotte (K- en Kw-rotte, bl. 62) hanteer.

### 6.3 DIE EMDEN-MEYERHOF-PAD, PIRUVIENSUURDEHIDROGENASE-SISTEEM EN DIE HEKSOSEMONOFOSFAATOMPAD

#### 6.3.1 Proewe met $^{14}\text{C}$ -substrate

Lewerskyfies is met behulp van 'n Martin-apparaat berei (Martin, 1942) en die suurstofopname in 'n Warburg-apparaat volgens die direkte Warburg-metode in 'n Krebs-Ringerfosfaat-medium met glukose- $^{14}\text{C}$  as substraat bepaal. Glukose-1- $^{14}\text{C}$  is as substraat in een reeks proewe gebruik en in 'n ander reeks is glukose-6- $^{14}\text{C}$  as substraat gebruik. Die  $^{14}\text{CO}_2$  gevorm van glukose-6- $^{14}\text{C}$  sou informasie verskaf oor die verbreking van glukose via die Emden-Meyerhof-pad en ook die dekarboksilasie van die gevormde piruviensuur. Terwyl die  $^{14}\text{CO}_2$  gevorm van glukose-1- $^{14}\text{C}$  as sub=

straat uit die afbreking van glukose tot asynsuur gevorm word en dit word ook in die heksosemonofosfaat-ompad gevorm (Prinsloo, 1970).

Daar is egter vasgestel dat die lewerskyfies tot 'n uiters geringe mate eksogene glukose as substraat gebruik, in so 'n mate dat die waardes verkrv as onbetroubaar beskou is en nie hier weergegee word nie. Hierdie resultate bevestig die bevinding van Stoesz & Le Page (1949), naamlik dat lewerskyfies nie eksogene glukose as substraat gebruik nie, waarskynlik omdat dit nie die glukose kan fosforileer nie. Aan die ander kant kan glukose-6-fosfaat weer nie deur die lewerskyfies se membraan dring nie (Le Page, 1950).

Volgens Farnararo et al. (1968) is die hoofpaie van glukosemetabolisme in die lewer glikogenese, glikogenolise en glukose-vrystelling. Dit word tot 'n groot mate weerspieël deur die meting van glikogeeninhoud van die lewerskyfies voor en na die respirasieproef en die bepaling van die glukosekonsentrasie in die suspensiemedium (Tabel 28). (Die metodes ge-

TABEL 28 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP ASPEKTE VAN GLUKOSEMETABOLISME VAN LEWERSKYFIES\*

Duur van hipertermie (min)**	Glukosekonsentrasie <sup>+</sup> in suspensie=medium na temperatuurekwilibrasie (mg per 100 ml)			Glukosekonsentrasie <sup>+</sup> in suspensie=medium na afloop van proef (mg per 100 ml)			Glukose afkomstig van glikogeen in lewerskyfies na temperatuurekwilibrasie (mg per 100 g nat gewig weefsel)			Glukose afkomstig van glikogeen in lewerskyfies na afloop van proef (mg per 100 g nat gewig weefsel)		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
40	16	16	16	20	20	17	0,34	0,34	0,08	0,31	0,28	0,30

\*Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere

\*\*Slegs die waardes verkry na 40 minute van hipertermie is aangegee, omdat die resultate verkry na 5, 10 en 20 minute van hipertermie naastenby dieselfde was.

<sup>+</sup>Die weefselgewigte in die suspensiemedium is in aanmerking geneem.

bruik, is beskryf deur Muller, 1965.)

### 6.3.2 Verdere toetse vir die intaktheid van die Emden-Meyerhof-pad en die heksosemonofosfaat-ompad

Die eksperimente met  $^{14}\text{C}$ -glukose het nie eenduidige resultate ten opsigte van veranderinge in die heksosemonofosfaat en die Emden-Meyerhof-metaboliese weë gegee nie, en dit kan dus van belang wees om die status van die ensiemaktiwiteit van prominente ensieme in hierdie prosesse na te gaan. Daar is toe besluit om die aktiwiteit van die ensiem glukose-6-fosfaatdehidrogenase en glukose-6-fosfoglukonaatdehidrogenase te meet as 'n aanduiding van hierdie metaboliese pad se intaktheid. Dié twee ensieme inisieer glukose-afbreking via die heksose-monofosfaatompad. Veral glukose-6-fosfaatdehidrogenase is die snelheidsbeperkende ensiem in hierdie metaboliese pad (Kauffman et al., 1968; Gumaa & McClean, 1968).

Die ensieme se aktiwiteit is gemeet in die oplosbare fraksie, verkry van die lewerhomogenate. Die weef-

selffraksie is berei soos beskryf deur Umbreit et al. (1964). Die ensiemaktiwiteit is gemeet volgens die metodes van Kotzé (1967).

Die resultate is in Tabel 29 opgesom. Geen uitgesproke verandering is gevind nie.

Om die intaktheid van die Emden-Meyerhof-pad te toets is van lewerhomogenate gebruik gemaak en glukose-6-fosfaat is as substraat gebruik. Die metode beskryf deur Umbreit et al. (1964) is gevolg. Koolsuurgasafgawe sowel as melksuurproduksie is gemeet.

Die resultate is in Tabel 30 opgesom. Die K-, Kw- en E-waardes wat verkry is, was dieselfde.

Ook is die invloed van hipertermie op die glukokinase ensiemsisteem volgens die metode van Kotzé (1967) getoets.

Die resultate is in Tabel 31 weergegee. Alhoewel daar 'n geringe styging in aktiwiteit by die verhitte diere was, was die verandering nie statisties betekenisvol nie.

TABEL 29 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE GLUKOSE-6-FOSFAATDEHIDROGENASE (G-6-PDH) EN 6-FOSFOGLUKONAATDEHIDROGENASE (6-PGADH) AKTIWITEIT<sup>x</sup>

Duur van hipertermie (min) <sup>+</sup>	Ensiemaktiwiteit; $\mu\text{mol}$ substraat omvorm per mg proteïen <sup>xx</sup> per min					
	G-6-PDH			6-PGADH		
	K	Kw	E	K	Kw	E
40	2,3	2,4	2,5	0,05	0,06	0,06

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere

<sup>+</sup>Slegs die waardes verkry na 40 minute van hipertermie is aangegee, omdat die resultate verkry na 5, 10 en 20 minute van hipertermie naastenby dieselfde was.

<sup>xx</sup>Proteïen is volgens 'n Kjeldahl-metode bepaal.

TABEL 30 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE EMDEN-MEYERHOF-PAD<sup>x</sup>

Duur van hipertermie (min) <sup>+</sup>	μl CO <sub>2</sub> -produksie per mg nat gewig weefsel per uur			Melksuurproduksie (mg per g nat gewig weefsel/uur)		
	K	Kw	E	K	Kw	E
40	7,2	7,2	7,2	0,45	0,45	0,45

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

<sup>+</sup>Slegs die waardes verkry na 40 minute van hipertermie is aangegee, omdat die resultate verkry na 5, 10 en 20 minute van hipertermie naastenby dieselfde was.

TABEL 31 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP GLUKOKI= NASE-AKTIWITEIT<sup>x</sup>

Duur van hipertermie (min) <sup>+</sup>	$\mu\text{mol}$ substraat omvorm per mg proteïen <sup>xx</sup> per min		
	K	Kw	E
40	1,2	1,3	1,4

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

<sup>+</sup>Slegs die waardes verkry na 40 minute van hipertermie is aangegee, omdat die resultate verkry na 5, 10 en 20 minute van hipertermie naastenbv dieselfde was.

<sup>xx</sup>Proteïen is volgens 'n Kjeldahl-metode bepaal.

Die aktiwiteit van die piruviensuurdehidrogenasesis- teem spesifiek is ondersoek deur die suurstofopname van lewerskivies met behulp van die direkte Warburg- metode in 'n Ringerfosfaatmedium te meet (Umbreit et al., 1964). As substraat is piruvaat-1- $^{14}\text{C}$  ge- bruik en die hoeveelheid gevormde  $^{14}\text{CO}_2$  is geneem as weergawe van die aktiwiteit van die sisteem. Die hoeveelheid  $^{14}\text{CO}_2$  gevorm, is gemeet soos deur Muller (1965) beskryf. Waar die radioaktiwiteit in die suspensiemedium waarin die weefselskivies was, bepaal is, is moontlik geadsorbeerde aktiwiteit verwyder deur verhitting (Vinuela et al., 1967). Die sintil- lasievloeistof was 'n Bray-oplossing (Murphy, 1967).

Die resultate is in Tabel 32 opgesom. Piruvaat-1- $^{14}\text{C}$  word wel deeglik as substraat gebruik, maar hi- pertermie beïnvloed nie die verbruik statisties bete- kenisvol nie.

#### 6.4 DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE TRIKARBOKSIEL- SUURSIKLUS

Ook die intaktheid van die trikarboksielsuursiklus is

TABEL 32 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE PIRU-  
VAATDEHIDROGENASESISTEEM<sup>x</sup>

Duur van hipertermie (min) <sup>+</sup>	Aktiwiteitsverdwyning (d.p.m./mg nat gewig weefsel per uur)			<sup>14</sup> CO <sub>2</sub> -produksie (d.p.m./mg nat gewig weefsel per uur)		
	K	Kw	E	K	Kw	E
40	797	700	794	750	747	746

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

<sup>+</sup>Slegs die waardes verkry na 40 minute van hipertermie is aangegee omdat die resultate verkry na 5, 10 en 20 minute van hipertermie naastenby dieselfde was.

getoets deur die suurstofopname van die lewerskyfies met behulp van die direkte Warburg-metode in 'n Rin-ger-fosfaatmedium te bepaal (Umbreit et al., 1964). In hierdie geval is piruvaat-3- $^{14}\text{C}$  as substraat gebruik. Weer is die hoeveelheid  $^{14}\text{CO}_2$  gevorm as maatstaf vir die reaksiesnelheid gebruik (Muller, 1965).

Die resultate is in Tabel 33 opgesom. Die verskil in aktiwiteit wat verdwyn het en dié wat as  $^{14}\text{CO}_2$  verkry was is in ooreenstemming met vorige werkers se bevindings (Olson & Stare, 1951; Miller & Olson, 1952; Muller, 1965). Die  $^{14}\text{CO}_2$ -produksie is veel laer as in die geval van piruvaat-1- $^{14}\text{C}$  wat beteken dat slegs omtrent 50% van die piruvaat wat gedekarboksileer word, verdere oksidasie tot  $^{14}\text{CO}_2$  ondergaan.

#### 6.5 DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN MITOCHONDRIA

Die mitochondria is dié organel wat by uitstek gemoei is by die verbruik van suurstof en die produksie van energie veral in die vorm van adenosientrifosfaat. Om 'n aanduiding van die intaktheid van die mitochon-

TABEL 33 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE TRIKARBOKSIELSUURSIKLUS<sup>x</sup>

Duur van hipertermie (min) <sup>+</sup>	Aktiwiteitsverdwyning (d.p.m./mg nat gewig weefsel per uur)			<sup>14</sup> CO <sub>2</sub> -produksie (d.p.m./mg nat gewig weefsel per uur)		
	K	Kw	E	K	Kw	E
40	770	772	782	519	523	533

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

<sup>+</sup>Slegs die waardes verkry na 40 minute van hipertermie is aangegee, omdat die resultate verkry na 5, 10 en 20 minute van hipertermie naastenby dieselfde was.

dria te kry, is die suurstofopname van die mitochondria van kontrole- (K en Kw) en hipertermiese (E) diere in vitro in die Warburg-apparaat gemeet. Die mitochondria is berei volgens die metode van Clark (1964) en die suurstofopname is bepaal soos beskryf deur Engelbrecht & Burger (1961) met die volle suspensiemedium en met die suspensiemedium sonder sitochroom-c.

Die resultate is in Tabel 34 weergegee. In die teenwoordigheid van sitochroom-c is die respirasie van mitochondria vinniger as sonder sitochroom-c. Die stimulasie van die mitochondria se suurstofopname deur hipertermie word slegs in teenwoordigheid van sitochroom-c waargeneem. Dit is moontlik te wyte aan 'n meer fisiologiese toestand wat geskep word vir die funksionering van oksidatiewe fosforilasie in die teenwoordigheid van sitochroom-c as die geval is in die afwesigheid van sitochroom-c.

#### 6.6 DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP OKSIDATIEWE FOSFORILASIE

Die intaktheid van oksidatiewe fosforilasie van mito=

TABEL 34 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP DIE SUURSTOFOPNAME VAN MITOCHONDRIA<sup>x</sup>

Duur van hipertermie	$\mu\text{l O}_2$ per mg proteïen <sup>**</sup> per uur. Volle suspensiemedium																	
	Inkubasiëperiode in min																	
	K						Kw						F					
	10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60
5	32	33	33	34	34	33	33	33	33	33	33	33	34	32	33	34	33	34
10	32	33	33	32	32	31	32	32	32	32	32	31	34	32	31	30	31	32
20	32	33	32	32	32	31	33	33	32	31	32	31	34	32	31	30	31	30
40	34	34	33	32	33	33	34	34	34	34	34	34	31	40	40	38	36	36
	<u>Suspensiemedium minus sitochroom-c</u>																	
5	27	26	25	25	26	23	27	28	27	26	25	25	25	24	23	21	21	20
10	27	27	26	25	24	23	28	27	27	25	25	24	25	23	20	20	21	20
20	27	27	26	25	25	24	28	28	27	26	25	25	25	23	21	21	20	19
40	27	27	26	25	25	24	28	28	27	26	25	25	25	23	22	20	18	18

<sup>x</sup>Elke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

<sup>\*\*</sup>Proteïen is volgens 'n Kjeldahl-metode bepaal.

chondria, berei van kontrole- (K en Kw) en verhitte (E) rotte is ondersoek. Die bereiding van die lewermitochondria en die metode waarvolgens oksidatiewe fosforilasie getoets is, is deur Clark (1964) beskryf. As substrate is malaat in een series gebruik, barnsteensuur in 'n ander series en vitamien C in 'n derde series. So is die drie gebiede van fosforilasie, gekoppel aan oksidasie, in die oksidatiewe fosforilasie-ketting nagegaan.

Die resultate is in Tabel 35 opgesom. Dit toon dat oksidatiewe fosforilasie ontkoppel word as gevolg van hipertermie. Die gevoeligste segment blyk te wees die barnsteensuur-sitochroom-c segment. Die lokalisiteit is ook deur Morris & King (1962) en Christiansen & Kvamme (1969) uitgewys.

## 6.7 ALGEMENE BESPREKING

In hierdie hoofstuk is die intaktheid van die Emden-Meyerhof-pad, die piruviensuurdehidrogenasesisteem, die heksosemonofosfaatompad, die trikarboksielsuursiklus en die oksidatiewe fosforilasieproses in die

BEL 35 : DIE INVLOED VAN HIPERTERMIE OP OKSIDATIEWE FOSFORILASIE VAN LEWERMITOCHONDRIA<sup>x</sup>

Duur van hipertermie (min)	$\mu$ atome O <sub>2</sub> per 25 min per mg pro= teien			$\mu$ mol fos= faat per mg proteien			P/O		
	K	Kw	E	K	Kw	E	K	Kw	E
	<u>Malaat as substraat</u>								
5	2,8	3,0	3,0	7,5	7,7	7,5	2,7	2,6	2,5
10	2,8	3,0	3,0	7,5	7,7	7,5	2,7	2,6	2,5
20	2,8	3,0	3,0	7,5	7,7	7,5	2,7	2,6	2,5
40	2,8	3,0	3,0	7,4	7,8	6,5	2,7	2,6	2,2
	<u>Barnsteensuur as substraat</u>								
5	1,9	1,9	1,8	3,4	3,4	3,1	1,8	1,8	1,7
10	1,9	1,9	1,8	3,4	3,4	3,1	1,8	1,8	1,7
20	1,9	1,9	1,8	3,4	3,4	3,1	1,8	1,8	1,7
40	1,9	1,9	1,8	3,4	3,4	2,2	1,8	1,8	1,2
	<u>Vitamiën C as substraat</u>								
5	1,2	1,1	3,3	1,0	0,8	0,9	0,8	0,7	0,7
10	1,2	1,1	3,3	1,0	0,8	0,9	0,8	0,7	0,7
20	1,2	1,1	1,3	1,0	0,8	0,9	0,8	0,7	0,7
40	1,2		1,2	1,0	1,2	0,8	0,8	0,9	0,7

1ke waarde is die gemiddelde vir 10 proefdiere.

lewer van hipertermiese rotte getoets. Gepaste kontroleterotte is saam met die hipertermiese rotte hanter. Daar is gevind dat al die bogenoemde sisteme behalwe oksidatiewe fosforilasie intak is.

Die beskadiging is te wyte aan verminderde fosforilasie. Wat die rede vir die ontkoppeling van oksidatiewe fosforilasie is, is moeilik te verklaar.

Christiansen & Kvamme (1969) is van mening dat dit gewyt moet word aan beskadiging van die mitochondriamembraan<sup>x</sup> en dat sitochroom-c uit die mitochondria diffundeer. In analogie van Christiansen & Kvamme (1969) se proewe is in hierdie ondersoek die suurstofopname van mitochondria in die teenwoordigheid

---

<sup>x</sup>Dit is interessant om te noem dat 'n kollega, prof. J.J. Theron (1972) die ultrastruktuur van die lewer van hierdie hipertermiese en kontrolediere bestudeer het. Daar is gevind dat die mees uitgesproke verandering die beskadiging van die mitochondriamatriks was. Ook kapillêre wande is erg beskadig.

van sitochroom-c in die suspensiemedium bepaal en in die afwesigheid van sitochroom-c. In die afwesigheid van sitochroom-c daal die respirasie van die mitochondria van hipertermiese diere (Tabel 34). In die teenwoordigheid van sitochroom-c word die mitochondria se respirasie goed onderhou en is by die uiterste toestand van hipertermie hoër as by die kontrolediere. Volgens Clark (1964) sou die toename in respirasie bo die kontrolewaarde 'n aanduiding van ont-koppeling van oksidasie met fosforilasie wees, omrede die spoedbeperkende meganisme fosforilasie is.

As dan gevra sou word wat die meganisme van die beskadiging van die lewerweefsel is tydens hipertermie kan die presiese lokaliteit nog nie gespesifiseer word nie. Uit hierdie navorsingsprojek wil dit ook voorkom dat die beskadiging nie gewyt kan word aan net een faktor nie maar dat selfunksie faal as gevolg van die somtotaal van 'n verskeidenheid van veranderinge. In hierdie ondersoek is gevind dat oksidatiewe fosforilasie gedeeltelik beskadig is. Dié beskadiging is egter nie so uitgesproke dat die afname in suurstofopname van die sel (lewerskyfie-proewe)

ten volle verklar kan word nie.

## HOOFSTUK 7

### ALGEMENE BESPREKING

#### 7.1 INLEIDING

Die doel van hierdie studie was in die eerste instansie om meer informasie in te win aangaande die relatiewe hittegevoeligheid van weefsels. Om die meganisme van die dood tydens hipertermie te ontrafel is dit waarskynlik van primêre belang dat die weefsel(s) wat primêr tydens hipertermie beskadig word, bepaal moet word. Daar is dan ook breedvoerig en sistematies ondersoek ingestel na die relatiewe hittetoleransie van 'n verskeidenheid van weefsels. Die weefsels is in vitro verhit (Hoofstuk 3). Ook (Hoofstuk 4) is die proefdier verhit en die intaktheid van die weefsels weer in vitro getoets. Verder is daar in hierdie reeks proewe ensiem- en iso-ensiemstudies op die serum van die diere uitgevoer om verdere informasie in te win aangaande die weefsels wat tydens hipertermie beskadig word.

Daar is in die tweede instansie ondersoek ingestel na die meganisme van die weefselbeskadiging. Hiervoor is eerstens chemiese analises op die bloed van die proefdiere uitgevoer ten einde informasie in die breë in te win aangaande moontlike metaboliese stoornisse (Hoofstuk 5). Hierna is op sellulêre en subsellulêre vlak metaboliese studies op een weefselsoort wat besonder gevoelig vir hitte is, naamlik die lewer, uitgevoer (Hoofstuk 6).

## 7.2 DIE RELATIEWE HITTEGEVOELIGHEID VAN DIE WEEFSELS

Uit die literatuur is dit duidelik dat weefsels verskil in gevoeligheid vir hoë temperature. Dit is veral duidelik uit in vitro-werk met weefselskyfies (nierkorteks - Fuhrman & Field, 1942; serebrale korteks - Field et al., 1944; lewer - Fuhrman & Field, 1945; hart - Fuhrman et al., 1950). Bogenoemde navorsers se proewe was egter nie so opgestel dat 'n noukeurige omskrywing van die relatiewe hittegevoeligheid van die ondersoekte weefsels gegee kon word nie.

In die huidige ondersoek is hierdie probleem meer sis

tematies aangepak. Vergelykbare eksperimentele kondisies is gebruik en die aantal weefselsoorte wat getoets is, is baie uitgebrei. Alhoewel nie 'n eenduidige kriterium vir die relatiewe hittegevoeligheid neergelê kon word nie, kan, uitgaande van verskillende kriteria, tog 'n bepaalde rangorde van die hittegevoeligheid van die weefsels vasgestel word (Tabelle 4, 5 en 6). Hieruit blyk dit dat skeletspier die gevoeligste weefsel vir hoë temperature is van al die ondersoekte weefsels. Dit was verrassend aangesien dit algemeen aanvaar is dat die brein die weefsel is wat die vroegste tydens hipertermie beskadig word.

Voordat die belang van bogenoemde bevinding in verband met die beskadiging tydens hittesteek gebring kan word, moet allereers beseef word dat in vitro-werk nie sonder meer in vivo toegepas kan word nie. Alhoewel daar bewyse is dat die weefselrespirasie-tegniek soos hier toegepas onder normale omstandigede 'n betreklike getroue weergawe van algemene metabolismesnelheid in vivo is (Martin & Fuhrman, 1955), mag dit in patologiese toestande heeltemal anders wees. Veral die opmekaar inwerkende invloede van

weefselsoorte word tydens hipertermie wat in vitro uitgevoer word, uitgeskakel. Waar sekere weefselsoorte gevoeliger vir hitte as ander is, mag dit die beeld van relatiewe hittegevoeligheid heeltemal verander. Ook die effek van bloedvoorsiening en hormone is nie peilbaar nie. Tog verskaf hierdie resultate waardevolle inligting in soverre dit kan help om vas te stel of 'n spesifieke weefselsoort primêr uitermatig hittegevoelig is en of beskadiging soos in die intakte dier voorkom, sekondêr is.

Om vas te stel of die weefsels in vitro getoets vir hittegevoeligheid, ook in vivo in dieselfde volgorde beskadig word, is hittesteek in vivo by proefdiere opgewek en die intaktheid van die weefselsoorte daarna in vitro in respirasieproewe nagegaan. As die in vivo-resultate (Tabel 10) met die in vitro-resultate (Tabelle 4, 5 en 6) vergelyk word, is dit duidelik dat die volgorde van beskadiging verskil. Weer eens is skeletspier uitgewys as besonder hittegevoelig, maar lewerweefsel blyk die gevoeligste vir in vivo-uitgevoerde hipertermie te wees.

Dit is veral van betekenis dat lewerweefsel tydens die in vivo-proewe vroeg beskadig word, terwyl dit met die in vitro-studies besonder hittestabiel voorkom het.

Alhoewel uit die serumensiem en -iso-ensiemstudies geen duidelike beeld kon verkry word aangaande die hittetoleransie van die weefsels nie, het dit tog ook op 'n vroeë lewerbeskadiging gedui.

Die verskil in die hittegevoeligheid van die lewer in vitro en in vivo word nie deur genoemde eksperimente verklaar nie. Malamud et al. (1946) skryf die beskadiging van die lewer tydens hittesteek aan skok toe, wat onder andere 'n lae bloeddruk impliseer en as sodanig 'n hipoksietoestand skep. Dit is bekend dat die lewer besonder gevoelig vir 'n hipoksietoestand is (Reed et al., 1964), maar hoe 'n hipoksietoestand tydens hipertermie geskep word, is nie duidelik nie. Dit is onwaarskynlik dat die hipoksietoestand 'n gevolg van belemmerde bloedvloei is. Wat betref die aflewering van suurstof aan die weefsels is 'n hoë temperatuur juis bevorderlik.

Dat die beskadigde lewer 'n belangrike rol speel in die ontstaan van die dood tydens hipertermie is deur Reed et al. (1964) bewys. Hierdie navorsers het met lewerperfusieproewe bewys dat die verhitte lewer die dood van 'n dier met 'n normale liggaamstemperatuur veroorsaak met simptome soortgelyk as die gevind tydens hittesteek.

Die feit dat die skeletspier ook besonder hittegevoelig is, kan van besondere betekenis wees. Spierweefsel maak omtrent 50% van die liggaamsgewig uit. Wanfunksie van hierdie weefselsoort kan die liggaam as geheel erg benadeel. In hierdie verband het Heilbrunn et al. (1946) aangetoon dat die beskadiging van skeletspier tydens hipertermie 'n nadelige invloed op die hele liggaam kan hê. Hierdie navorsers het bevind dat verhitting van slegs die agterpote van die rotte die dood van die dier tot gevolg kan hê. Hulskryf die effek aan die vrystelling van 'n toksiese stof toe. Ook Bale et al. (1968) bevind dat ernstige en wydverspreide spiernekrose tydens hittesteek voorkom. Hierdie navorsers is van mening dat die spierveranderinge belangrike sistemiese versteur

ings van veral die serumkalium teweeg kan bring. Serumkalium neem wel toe tydens hittesteek (Tabel 23) en die belang van hierdie verandering in die meganisme van ineenstorting van liggaamsfunksie is ook beklemtoon. Ook het Ushakov (1964) die meganisme van hipertermiese beskadiging van die spier probeer ontrefel en het gevind dat die beskadiging saamhang met die oplosbare proteïenfraksie.

As die intaktheid van die weefsels, geneem net voor die dood intree by die proefdiere wat verhit is, ondersoek word, word gevind dat alle weefsels wat ondersoek is, beskadig is, behalwe vir die brein en vel (Hoofstuk 4).

Dat by senuweeweefsel nie beskadiging aangetoon kon word nie, is onverwags, veral aangesien senuweesteurings simptome besonder kenmerkend by die mens is (Minard & Copman, 1963). Ook het Malamud et al. (1946) en Haymaker et al. (1955) aangetoon dat hipertermie per se tydens hittesteek verantwoordelik is vir wydverspreide degenerasieverskynsels in senuweeweefsel in pasiënte met hittesteek. Geen opvallende simptome

ten opsigte van senuweesteuring kon in die proefdiere wat verhit is, gesien word wat met die simptome in die mens vergelyk kan word nie. Tog was daar geringe krampagtige sametrekings in die voorpote te bespeur op 'n gevorderde stadium van hipertermie. Ook het die agterpote betreklik gou tydens hipertermie verlam geword. Die huidige resultate dui moontlik daarop dat die brein van rotte minder gevoelig is vir hittebeskadiging as die brein van mense.

Aan die ander kant moet daarop gewys word dat die aard van asemhaling 'n betroubare kriterium was om die siektetoestand van die proefdiere te peil. Dit mag dus wees dat 'n vitale sentrum of sentra in die brein wel beskadig word wat nie met die huidige tegniek opgespoor kon word nie. Veral histochemiese werk behoort te help om duidelikheid oor hierdie moontlikheid te kry.

Die algemene beskadiging van weefsels as gevolg van hipertermie, soos dit in hierdie ondersoek na vore gekom het, dui op 'n komplekse beeld van ineenstorting en sluit vitale organe soos die hart, niere en longe

en ander organe soos die milt, dunderm en timus in. Dit dui dus daarop dat waarskynlik nie 'n enkele, maar meerdere liggaamsfunksies as gevolg van die hipertermie versteur word en eventueel ineens stort, soos in die volgende paragraaf meer breedvoerig uiteengesit sal word.

### 7.3 DIE MEGANISME VAN DIE WEEFSELBESKADIGING

Ten einde meer besonderhede aangaande die meganisme van hittebeskadiging te wete te kom, is die invloed van hipertermie op die proefdier op indirekte wyse deur middel van bloedanalises en op 'n meer direkte wyse deur middel van metaboliese studies op subsellulêre komponente bestudeer.

#### 7.3.1 Bloedveranderinge

Soos reeds daarop gewys, is die bloed geanaliseer om as riglyn vir verdere studie op sellulêre vlak te dien. (In Hoofstuk 5 is die besonderhede in verband met hierdie analises weergegee.)

Aanvanklik was die mees algemene waarneming dat bloed=

indikking tydens hipertermie plaasvind. Dit kompliseer nie alleen die interpretasie van die chemiese analise geweldig nie maar is by die uiterste toestand van hipertermie so uitgesproke dat die vermindering in bloedvolume op sigself nadelig kan wees. In die lig hiervan is die bloedindikking in aanmerking geneem by die interpretasie van die resultate. (Kyk Hoofstuk 4, bl. 88 en Hoofstuk 5, bl. 107.)

Dit is gevind dat die chemiese parameters in die bloed in die uiterse toestand van hipertermie verander, sodat so 'n komplekse beeld van wanbalans verkry is dat dit moeilik was om hieruit navorsing vir sekere aspekte te selekteer. Die resultate is egter ingewinnet voor die dood by die dier intree. Daarom is die tydsduur van blootstelling aan hipertermie gewysig in die hoop om die veranderinge wat die vroegste optree op te spoor. Selfs na 5 minute van hipertermie (rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$ ) tree 'n verskeidenheid van veranderinge in, maar myns insiens is die daling in bloedglukose en die styging in bloedmelksuurkonsentrasie die mees prominente waarnemings.

Volgens Kanter (1959), wat 'n hipoglusemiese toestand in honde tydens hipertermie gevind het, is die daling in bloedglukosekonsentrasie te wyte aan die toenemende gebruik van glukose deur die respiratoriese spiere tydens hiperventilasie. Hiperventilasie is by die proefdiere van hierdie ondersoek waargeneem, sodat die verklaring ook hier sou kon geld. Dit sal ook die toename in bloedmelksuurkonsentrasie verklaar maar nie die spesifieke verhouding tussen bloedmelksuur- en -piruviensuurkonsentrasie wat saamgevat is in die begrip van oormaat melksuur nie (Huckabee, 1958a). Volgens Huckabee (1958a) sou 'n oormaat melksuur in die bloed op weefselhipoksie dui. Die begrip is verder tydens oefening (Huckabee, 1958b; Neill et al., 1969) en tydens die kunsmatige skepping van hipoksie in die liggaam ondersoek (Huckabee, 1959). Dit is veral in die laasgenoemde kritiese ontleding van die tegniek dat weer eens bevestig is dat die begrip van oormaat melksuur in die bloed op weefselhipoksie dui maar dat die verandering in die melksuurkonsentrasie van lokale weefsels nie noodwendig verband hou met 'n weefselhipoksie nie. Die ak=

kummulasie van oormaat melksuur in die liggaam as geheel gee geen indikasie van watter bydrae tot die taal gemaak word deur die verskillende liggaamsdele nie. Dit wil voorkom of daar verskeie moontlikhede is, naamlik (i) dat alle liggaamsdele oormaat melksuur produseer in 'n uniforme manier; (ii) dat die suurstofskuld van die liggaam gedeeltelik of geheel-en-al in een lokale area saamgetrek is; en (iii) dat die suurstofskuld in verskillende grade in sommige weefsels heers en gedeeltelik vergoed word deur ander, sodat die totale suurstofskuld die netto resultaat is van baie verskillende patrone.

Gesien in die lig van waarnemings dat die lewer so besonder hittegevoelig is, mag dit sy bydrae lewer in die patologiese toestand van die liggaam tydens hipertermie, spesifiek mag suurstofgebrek daarin heers. Die suurstofgebrek mag saamhang met selfskadiging as geheel en/of direkte beskadiging van die sel se oksidasie-reduksie-meganisme.

### 7.3.2 Sellulêre veranderinge tydens hipertermie

Alhoewel die bloedanalise nie 'n direkte duidelike

indikasie gee van die vlak waarby hittebeskadiging op subsellulêre vlak die duidelikste verwag kan word nie, is nogtans aandag gegee aan hierdie probleem. Dit is veral uitgevoer aangesien die meganisme van selbeskadiging tydens hipertermie nog geensins ontrafel is nie. Daar is veral in die jongste tyd aanduidings dat ineenstorting van selmetabolisme die dood uiteindelik veroorsaak (Minard & Copman, 1963). Dat selbeskadiging wel intree is byvoorbeeld bewys met 'n afname in suurstofopname van weefsels tydens hipertermie. Dit op sigself beskryf egter geensins die meganisme nie. Dit beteken hoogstens dat die weefseloksidasie-reduksie-meganisme wel beskadig is, of dit primêr of sekondêr beskadig mag wees volg egter nie hieruit nie. Daar is wel aanduidings in die literatuur dat oksidatiewe fosforilasie in vitro tydens hipertermie beïnvloed word (Morris & King, 1962; Christiansen & Kvamme, 1969). Dit is ook in vivo in die lewerweefsel in die huidige ondersoek gevind. Ook die lokaliteit van beskadiging stem met Morris & King (1962) en Christiansen & Kvamme (1969) ooreen, naamlik in die barnsteensuur-sitochroom-c segment.

'n Studie na die invloed van hipertermie op die in-  
 taktheid van die sisteme wat ten nouste met die oksida-  
 tiewe fosforilasieproses skakel, soos die trikar-  
 boksielsuursiklus, die Emden-Meyerhof-pad en die hek-  
 sosemonofosfaatompad is vervolgens ondersoek. Die  
 sisteme is nie spesifiek deur hipertermie beïnvloed  
 nie. Die informasie is egter op "gesupplementeerde"  
 sisteme ingewin. In vivo mag juis 'n supplement  
 kort, soos dan ook geïnsinueer word deur die studies  
 van mitochondria-respirasie in 'n sisteem met en  
sonder sitochroom-c. Die sitochroomdiffusie mag  
 weer die gevolg wees van 'n beskadigde eenheidsmem-  
 braan (Christiansen & Kvamme, 1969) en die kan weer  
 die gevolg wees van die verbreking van struktuurge-  
 bonde lipied (Wojtczak & Lehninger, 1961). Uit hier  
 die ondersoek is dit duidelik dat die inhibisie van  
 oksidatiewe fosforilasie nie ten volle die afname in  
 suurstofopname kan verklaar nie. Nie alleen is die  
 persentasie afname in oksidatiewe fosforilasie veel  
 minder as die afname in die suurstofopname van die  
 lewerskyfies nie, maar die afname van die suurstofop-  
 name begin baie vroeër in die lewerskyfies as ont-

koppeling van oksidatiewe fosforilasie soos gevind in die proewe met lewermitochondria.

As ten slotte die resultate wat in hierdie ondersoek behaal is, in die lig van bestaande literatuurgegewens betrag word, wil dit voorkom of seldood tydens hipertermie as gevolg van 'n sameloop van baie veranderinge plaasvind waar volgorde moeilik te bepaal is. Dit sluit die beste aan by die sogenaamde veelvuldige hipotese (bl. 5) wat deur Bělehrádek (1967) gestel is.

## OPSOMMING

In hierdie ondersoek is weefselbeskadiging tydens hipertermie bestudeer.

Die witrot is as proefdier gebruik.

Daar is eerstens ondersoek ingestel na die relatiewe hittegevoeligheid van weefsels in vitro. Hiervoor is weefsels uit normale diere verwyder en dan aan verskillende bonormale liggaamstemperature in 'n Warburg-apparaat blootgestel. Selfunksie is weergegee in terme van suurstofopname, gemeet met behulp van die direkte Warburg-tegniek op weefselskyfies, -stukkies of -repies. Die volgende weefsels is bestudeer: serebrale korteks, hipotalamus, breinstam minus medulla oblongata, medulla oblongata, serebellum, timus, long, milt, lewer, adduktorspier, diafragma, digitorumspier, hart (linker ventrikelwand), nierkorteks, vel en dunderm (jejenum).

Uit hierdie studie het dit geblyk dat veral skeletspier besonder hittegevoelig is.

Tweedens is die in vivo-hittegevoeligheid van die selfde weefsels hierbo genoem ondersoek deur die proefdiere te verhit en dan die suurstofopname van die weefsels in vitro te meet. Hipertermie ('n rektale temperatuur van  $42,5^{\circ}\text{C}$ ) is in die proefdiere (E-diere) geïnduseer deur die proefdiere in 'n gaasdraadkou te plaas en dan gedeeltelik in 'n waterbad, waarvan die temperatuur  $42^{\circ}\text{C}$  was, te dompel. Na verskillende verhittingsperiodes is die suurstofopname van die weefsels in vitro gemeet. Daar was altyd twee kontroleproefdiere vir elke verhitte proefdier. Een dier is by kamertemperatuur gehou (K-rot) en die ander dier is in 'n waterbad van  $37^{\circ}\text{C}$  (Kw-rot) vir dieselfde duur as die verhitte dier (E-rot) geplaas. Sorg is gedra dat die Kw-rot se liggaamstemperatuur nie bo die normale waarde gestyg het nie.

Daar is vasgestel dat die hittegevoeligheid van die weefsels in vivo verskil van die hittegevoeligheid in vitro. Lewerweefsel is nou deur die respirasieproewe uitgewys as besonder hittegevoelig te wees. Die waarneming is gedeeltelik deur die meting van serumensieme en -iso-ensieme gesteun.

Daar is verder ondersoek ingestel na die meganisme van die weefselbeskadiging deur in die eerste instansie chemiese analyses op die bloed van die proefdier uit te voer ten einde informasie aangaande metaboliese stoornisse in die breë in te win. Daar is ge=toets vir:

(a) 'n hipoksietoestand waar veral die oormaat melksuur in die bloed bepaal is;

(b) suurbasisstatus deur die meting van die bloed-pH,  $pCO_2$ , basisoormaat (BE), bufferbasis (BB), standaardbikarbonaat (St.  $HCO_3^-$ ), ware bikarbonaat (Act.  $HCO_3^-$ ) en totale  $CO_2$ ;

(c) bloedelektroliete deur die meting van kalium, natrium en totale kalsium in bloedserum, chloried in bloedplasma en in heelbloed;

(d) parameters geassosieer met:

(i) koolhidraatmetabolisme soos die meting van bloedglukose-, -melksuur- en -piruviensuurkonsentrasie,

(ii) vetmetabolisme soos die meting van plas= mavry-vetsuur, totale cholesterol, cholesterol-esters, vry cholesterol, trigliseriede en fosfolipiede,

(iii) proteïenmetabolisme soos die meting van bloed-nie-proteïenstikstof-, -ammoniak- en -ureumkonsentrasie, serumtotale proteïen en proteïenelektroforese en plasma-aminogramme.

Tydens hittesteek verander byna elkeen van bogenoemde parameters. Die mees uitstaande bevinding was egter die demonstrasie van weefselhipoksie soos bepaal deur die meting van 'n oormaat melksuur in die bloed.

Hierna is op sellulêre en subsellulêre vlak metaboliese studies uitgevoer op een weefselsoort wat besonder gevoelig vir hitte is, naamlik die lewer. Veral daardie prosesse wat in die laaste instansie met energieproduksie in die sel te doen het, is bestudeer.

Die volgende metaboliese paaie is bestudeer, naamlik die Emden-Meyerhof-pad, die heksosemonofosfaatompad, die trikarboksielsuursiklus en oksidatiewe fosforilasie. Met die gesupplementeerde sisteme in vitro is slegs 'n inhibisie van die oksidatiewe fosforilasiesisteem aangetoon. Daar is voorts die lokaliteit van beskadiging, naamlik tussen barnsteensuur en sitochroom-b, uitgewys. Die beskadiging van oksidatiewe fosforilasie was egter nie van so 'n aard dat dit ten

volle die afname in suurstofopname van die lewersklyfies kon verklaar nie. Dit wil voorkom dat suurstofopname voor oksidatiewe fosforilasie faal en dat dit nie aan 'n enkele stap in die ketting van prosesse van selfunksie gewyt kan word nie maar die gevolg is van die somtotaal van baie veranderinge wat uiteinde=lik selfunksie laat ineenstort.

Gedeeltes van hierdie navorsing is reeds gepubliseer, nl.:

(i) Burger, F.J. & Fuhrman, F.A. (1964). Evidence of injury by heat in mammalian tissues. *Am. J. Physiol.*, 206, 1057.

(ii) Burger, F.J. & Fuhrman, F.A. (1964). Evidence of injury to tissues after hyperthermia. *Am. J. Physiol.*, 206, 1062.

(iii) Opie, L.H., Burger, F.J., Brink, A.J. & Lochner, A. (1965). Hyperthermic damage to isolated rat heart tissue. *Clin. Sci.*, 28, 461.

(iv) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1966). Metabolism of heart slices with special reference to

the effect of hyperthermia. S. Afr. Med. J., 40, 124.

(v) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1966). Die hittetoleransie van rotweefselsoorte in vitro. S. Afr. Tydskr. Geneesk., 40, 699.

(vi) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1967). The tolerance of tissues to heat in vitro. S. Afr. Med. J., 41, 108.

(vii) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1967). Changes in blood composition in experimental heatstroke. S. Afr. Med. J., 41, 718.

(viii) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1968). The in vitro oxygen uptake of tissues of heatstroke animals. S. Afr. Med. J., 42, 780.

(ix) Burger, F.J., Engelbrecht, F.M. & Jordaan, E.M. (1970). The in vitro oxygen uptake of tissues after hyperthermia. S. Afr. Med. J., 44, 148.

(x) Burger, F.J., Engelbrecht, F.M., Jordaan, E.M. & Bester, P. (1970). Studies on the blood con=

position of hyperthermic animals. S. Afr. J. Med., 44, 524.

(xi) Burger, F.J., Malan, J. & Bester, P. (1970). The effect of hyperthermia on serum enzymes' activity. S. Afr. Med. J., 44, 899.

(xii) Burger, F.J., du Plessis, J.P., Bieler, E.U. & Lategan, P.J. Further studies on the chemical changes in the blood and tissues of rats during hyperthermia. (Aanvaar vir publikasie in S. Afr. Tydskr. Geneesk. in Mei 1972.)

## SUMMARY

In this investigation tissue damage during hyperthermia was studied.

The white rat was used as experimental animal.

Firstly, the relative heat sensitivity of tissues was investigated in vitro. For this, tissues of normal animals were removed and exposed to various above-normal body temperatures in a Warburg apparatus. Cell function was expressed in terms of oxygen uptake, measured by means of the direct Warburg technique on tissue slices, tissue pieces or tissue strips.

The following tissues were studied: cerebral cortex, hypothalamus, brain stem minus medulla oblongata, medulla oblongata, cerebellum, thymus, lung, spleen, liver, adductor muscle, diaphragm, digitorum muscle, heart (left ventricle wall), cortex of kidney, skin and small intestine (jejunum).

From this study it became evident that skeletal mus=

cle is exceptionally sensitive to heat.

Secondly, the in vivo heat sensitivity of the above mentioned tissues was investigated by increasing the temperature of the experimental animals and then measuring the oxygen uptake of the tissues in vitro. Hyperthermia (a rectal temperature of  $42,5^{\circ}\text{C}$ ) was induced in the experimental animals (E animals) by placing them in a wire gauze cage partly immersed in a waterbath (temperature  $42^{\circ}\text{C}$ ). After various periods of heating, the oxygen uptake of the tissues was measured in vitro. Two control animals were used for each experimental animal. One animal was kept at room temperature (C-rat) and the other (Cw-rat) was placed in a waterbath at  $37^{\circ}\text{C}$  for the same length of time as the experimental animal (E-rat). Care was taken that the body temperature of the Cw-rat did not rise above the normal value.

It was established that the heat sensitivity of the tissues in vivo differed from the heat sensitivity in vitro. Liver tissue was then shown to be particularly heat sensitive by means of respiratory tests. Thi

observation was partly assisted by the measurement of serum enzymes and iso-enzymes.

Further investigation was conducted on the mechanism of tissue damage, in the first instance by chemical analyses of the blood of the experimental animals, for the purpose of obtaining general information concerning metabolic disturbances. Tests were employed to investigate:

- (a) a hypoxic condition where excess lactic acid in the blood was determined;
- (b) acid-base status by measurement of the blood pH,  $pCO_2$ , base excess (BE), buffer base (BB), standard bicarbonate (St.  $HCO_3^-$ ), actual bicarbonate (Act.  $HCO_3^-$ ) and total  $CO_2$ ;
- (c) blood electrolytes by the measurement of potassium, sodium and total calcium in serum, chloride in plasma and whole blood;
- (d) parameters associated with:
  - (i) carbohydrate metabolism such as the measurement of blood glucose, lactic acid and pyruvic acid concentration;
  - (ii) lipid metabolism such as the measurement

of plasma free fatty acids, total cholesterol, cholesterol esters, free cholesterol, triglycerides and phospholipids;

(iii) protein metabolism such as the measurement of blood non-protein nitrogen, ammonia and urea concentration, serum total protein and protein electrophoresis and plasma aminograms.

During heatstroke, practically each of the above-mentioned parameters was found to be altered. The most marked finding was the demonstration of tissue hypoxia determined by the measurement of excess lactic acid in the blood.

Metabolic studies at a cellular and sub-cellular level were subsequently undertaken on a tissue type particularly sensitive to heat, viz. the liver. Those processes which are finally involved in energy production in the cell were studied. The following metabolic pathways were studied: the Emden-Meyerhof pathway, the hexose monophosphate shunt, the tricarboxylic acid cycle and oxidative phosphorylation. With the supplemented systems in vitro an inhibition only of the oxidative phosphorylation system was de-

monstrated. More over, the site of damage, viz. between succinic acid and cytochrome-b was established. The damage to oxidative phosphorylation was not of such a nature as to explain fully the drop in oxygen uptake of the liver sections. It would appear that oxygen uptake fails before oxidative phosphorylation and that this cannot be attributed to a single step in the chain of processes of cell function, but that the result is rather the sum total of many changes which eventually cause cell function to break down. Parts of this research have already been published, viz.

(i) Burger, F.J. & Fuhrman, F.A. (1964). Evidence of injury by heat in mammalian tissues. *Am. J. Physiol.*, 206, 1057.

(ii) Burger, F.J. & Fuhrman, F.A. (1964). Evidence of injury to tissues after hyperthermia. *Am. J. Physiol.*, 206, 1062.

(iii) Opie, L.H., Burger, F.J., Brink, A.J. & Lochner, A. (1965). *Clin. Sci.*, 28, 461.

- (iv) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1966). Metabolism of heart slices with special reference to the effect of hyperthermia. S. Afr. Med. J., 40, 124.
- (v) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1966). Die hittetoleransie van rotweefselsoorte in vitro. S. Afr. Tydskr. Geneesk., 40, 699.
- (vi) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1967). The tolerance of tissues to heat in vitro. S. Afr. Med. J., 41, 108.
- (vii) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1967). Changes in blood composition in experimental heatstroke. S. Afr. Med. J., 41, 718.
- (viii) Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1968). The in vitro oxygen uptake of tissues of heatstroke animals. S. Afr. Med. J., 42, 780.
- (ix) Burger, F.J., Engelbrecht, F.M. & Jordaan, E.M. (1970). The in vitro oxygen uptake of tissues after hyperthermia. S. Afr. Med. J., 44, 148.

(x) Burger, F.J., Engelbrecht, F.M., Jordaan, E.M. & Bester, P. (1970). Studies on the blood composition of hyperthermic animals. S. Afr. J. Med., 44, 524.

(xi) Burger, F.J., Malan, J. & Bester, P. (1970). The effect of hyperthermia on serum enzymes' activity. S. Afr. Med. J., 44, 899.

(xii) Burger, F.J., du Plessis, J.P., Bieler, E.U. & Lategan, P.J. Further studies on the chemical changes in the blood and tissues of rats during hyperthermia. (Accepted for publication in S. Afr. Med. J. in May 1972.)

## LITERATUUR

- Adamsons, K., Daniel, S.S., Gandy, G. & James, L.S.  
(1964): J. Appl. Physiol., 19, 897.
- Adolph, E.F. (1947): Am. J. Physiol., 151, 564.
- Albers, C. (1961): Arch. Ges. Physiol., 274, 125.
- Aldridge, W.N. & Stoner, H.B. (1960): Biochem. J.,  
74, 148.
- Austin, M.G. & Berry, J.W. (1956): J. Am. Med. As=  
soc., 161, 1525.
- Baldwin, W.M. & Nelson, W.C. (1928): Proc. Soc. Exp.  
Biol. Med. (N.Y.), 26, 588.
- Bale, P.M., Calvert, A.F. & Hirst, E. (1968): Am. J.  
Clin. Path., 50, 440.
- Barry, M.E. & King, B.A. (1962): S. Afr. Med. J.,  
36, 455.
- Baxter, C.R. & Teschan, P.E. (1958): A.M.A. Arch.  
Intern. Med., 101, 1040.
- Bazette, H.C. (1931): J. Am. Med. Assoc., 89, 177.
- Bělehrádek, J. (1935): Temperature and Living Mat=  
ter, Vol. 8. in : Protoplasma Monographien. Ber=  
lin : Borntraeger.
- Bělehrádek, J. (1957): Ann. Rev. Physiol., 19, 59.

- Bělehrádek, J. (1967): Intermolecular aspects of the structural stability of protoplasm at the temperature extremes. in : The Cell and Environmental Temperature. ed. A.S. Troschin. London : Pergamon Press.
- Bierman, W. & Fishberg, E.H. (1934): J. Am. Med. Assoc., 103, 1354.
- Boivin, A., Vendrely, R. & Vendrely, C. (1948): Compt. Rend. Acad. Sci., 226, 1061.
- Bradley, A.F., Stupfel, M. & Severinghaus, J.W. (1956): J. Appl. Physiol., 9, 201.
- Brues, C.T. (1927): Quart. Rev. Biol., 2, 181.
- Burger, F.J. & Engelbrecht, F.M. (1967): S. Afr. Med. J., 41, 718.
- Cerecedo, L.R. & Bresnick, E. (1961): Exp. Med. Surg., 19, 251.
- Chaet, A.B. (1956): Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91, 599.
- Chakravarti, D.N. & Tyagi, N. (1938): Ind. J. Med. Res., 25, 791.
- Christiansen, E.N. & Kvamme, E. (1969): Acta Physiol. Scand., 76, 472.
- Clark, J.M. (1964): Experimental Biochemistry. London : W.H. Freeman & Co.
- Coombe, J.B. & Tribe, D.E. (1958): Nature (Lond.), 182, 116.

- Conzolazio, C.F., Johnson, R.E. & Pecora, L.J. (1963):  
Physiological Measurements of Metabolic Functions in  
Man. London : McGraw-Hill.
- Cullon, S.C., Weir, E.F. & Cook, E. (1942): A-  
nesthesiology, 3, 123.
- Daily, W.M. & Harrison, T.R. (1948): Am. J. Med.  
Sci., 215, 42.
- Davenport, C.B. (1897): Experimental Morphology,  
Vol. I, New York. p. 322.
- David, H. & Uerlings, I. (1968): Acta Biol. Med.  
Germ., 20, 65.
- Davidson, J.N. & Leslie, I. (1950): Nature, 165, 49.
- Elman (1930): Kyk McAllister (1970).
- Engelbrecht, F.M. & Burger, F.J. (1961): S. Afr. J.  
Lab. Clin. Med., 7, 16.
- Esper, H. & Isler, H. (1965): Endocrinology, 77, 218.
- Fahræus, R., Anderson, O., Sundberg, S. & von Euler,  
U. (1925): Acta Pathol. et Microbiol. Scand., 2,  
323.
- Farnararo, M., Sgaragli, G., Bigazzi, M. & Meloni, F.  
(1968): Life Sciences, 7, 667.
- Ferguson, M. & O'Brien, M.M. (1960): N.Y. St. J.  
Med., 60, 2531.
- Ferris, E.B., Blankenhorn, M.A., Robinson, H.W. &  
Cullen, G.E. (1938): J. Clin. Invest., 17, 249.

- Field, J. (1948): Methods in Medical Research. Chicago, III. Yearbook, 1, 289.
- Field, J., Belding, H.S. & Martin, A.W. (1939): J. Cell. Comp. Physiol., 14, 143.
- Field, J., Fuhrman, F.A. & Martin, A.W. (1944): J. Neurophysiol., 7, 117.
- Frankel, H.M. (1959): J. Appl. Physiol., 14, 997.
- Frankel, H.M. (1968): Life Sciences, 7, 1203.
- Frankel, H.M. & Cain, S.M. (1966): Am. J. Physiol., 210, 1265.
- Frankel, H.M., Ellis, J.P. & Cain, S.M. (1963): Am. J. Physiol., 205, 733.
- Frankel, H.M. & Ferrante, F.L. (1966): Am. J. Physiol., 210, 1269.
- Fuhrman, F.A. & Field, J. (1942): J. Pharmacol. & Exp. Therap., 75, 58.
- Fuhrman, F.A. & Field, J. (1945): Arch. Biochem., 6, 337.
- Fuhrman, F.A. & Fuhrman, G.J. (1957): J. Appl. Physiol., 10, 219.
- Fuhrman, F.A., Hollinger, N., Crismon, J.M., Field, J. & Weymouth, F.W. (1944): Physiol. Zoöl., 17, 42.
- Fuhrman, G.J., Fuhrman, F.A. & Field, J. (1950): Am. J. Physiol., 163, 642.
- Gold, J. (1960): J. Am. Med. Assoc., 173, 1175.

- Gordon, E.E., Darling, R.C. & Shea, E. (1949): J. Appl. Physiol., 1, 496.
- Gore, I. & Isaacson, N.H. (1949): Am. J. Path., 25, 1029.
- Gumaa, K.A. & McClean, P. (1968): F.E.B.S. letters, 1, 227.
- Hales, J.R.S., Findlay, J.D. & Mabon, R.M. (1967): Resp. Physiol., 3, 43.
- Hall, W.W. & Wakefield, E.G. (1927): J.A.M.A., 89, 177.
- Hartman, F.W. (1937): J. Am. Med. Assoc., 109, 2116.
- Hartman, F.W. & Major, R.C. (1935): Am. J. Clin. Path., 5, 392.
- Haymaker, W., Teabeaut, J.R., Krainer, L. & Schickele, E. (1955): Acta Neuroveg., 11, 142.
- Heilbrunn, L.V. (1952): An Outline of General Physiology. London : W.B. Saunders Co.
- Heilbrunn, L.V. (1954): Sci. Am., 190, 54.
- Heilbrunn, L.V., Harris, D.L., le Fevre, P.G., Wilson W.L. & Woodward, A.A. (1946): Physiol. Zoöl., 19, 404.
- Hench, P.S., Slocumb, C.H. & Popp, W.C. (1935): J. Am. Med. Assoc., 104, 1779.
- Herman, R.H. & Sullivan, B.H. (1959): Am. J. Med., 27, 154.

- Hollinger, N., Fuhrman, F.A., Lewis, J.J. & Field, J. (1949): J. Cell. Comp. Physiol., 33, 223.
- Huckabee, W.E. (1958a): J. Clin. Invest., 37, 244.
- Huckabee, W.E. (1958b): J. Clin. Invest., 37, 255.
- Huckabee, W.E. (1959): Am. J. Physiol., 196, 253.
- Iampietro, P.F. (1963): Fed. Proc., 22, 884.
- Irvine, D.G., Newman, K. & Hoar, W.S. (1957): Can. J. Zoöl., 35, 691.
- Jacobsen, V.C. & Hosoi, K. (1931): Arch. Path., 11, 744.
- Kauffman, F.C., Brown, J.C., Passonneau, J.V. & Lowry, O.H. (1968): Fed. Proc., 27, 463.
- Kanter, G.S. (1959): Am. J. Phvsiol., 196, 619.
- Kay (1930): Kyk McAllister, R.A. (1970).
- Kendell, H.W. (1951): Fever Therapy. Springfield, Ill. Thomas.
- King, E.J.: Kyk McAllister (1970).
- Kew, M.C., Abrahams, C., Levin, N.W., Seftel, H.C., Rubenstein, A.H. & Bersohn, I. (1970): Quart. J. Med., New Series, 36, 277.
- Kew, M.C., Abrahams, C. & Seftel, H.C. (1970a): Quart. J. Med., New Series, 39, 189.
- Kew, M.C., Bersohn, I., Peters, J., Wyndham, C.H. & Seftel, H.C. (1967b): S. Afr. Med. J., 41, 530.

- Kew, M., Bersohn, I. & Seftel, H. (1971): Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 65, 325.
- Kew, M., Bersohn, I., Seftel, H. & Kent, G. (1970b): Am. J. Med., 49, 192.
- Kew, M.C., Tucker, R.B.K., Bersohn, I. & Seftel, H.C. (1969): Am. Heart J., 77, 324.
- Klein, R.L. & Neff, R.J. (1960): Exp. Cell Res., 19, 133.
- Knockel, J.P., Beisel, W.R., Herndon, E.G., Gerard, E.S. & Barry, K.G. (1961): Am. J. Med., 30, 299.
- Kotzé, J.P. (1967): Water Research, 1, 351.
- Kozlov, N.B. (1958): Ukr. Biokhim. Zha., 30, 656.
- Krebs, H.A. (1950): Biochim. Biophys. Acta, 4, 249.
- Kubicek, W.G., Anderson, W.D. & Gerber, W.F. (1958): Am. J. Physiol., 195, 601.
- Laddell, W.S.S., Waterlow, J.C. & Hudson, M.F. (1944): Lancet, 287, 491.
- La Due, J.S., Wroblewski, F. & Karmen, A. (1954): Science, 120, 497.
- Leithead, C.S. & Lind, A.R. (1964): Heat Stress and Heat Disorders. London : Cassell.
- Le Page, G.A. (1950): Cancer Res., 10, 77.
- Lovelock, J.E. (1954): Nature, 173, 659.
- Lutz, Z. (1931): Am. Museum Novitates, No. 498.

- Malamud, N., Haymaker, W. & Custer, R.P. (1946):  
Mil. Surgeon, 99, 397.
- Marsh, F. (1930): Tr. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 24,  
257.
- Marsh, M.E. (1934): Am. J. Physiol., 109, 502.
- Martin, A.W. (1942): Endocrinology, 30, 624.
- Martin, A.W. & Fuhrman, F.A. (1955): Physiol. Zoöl.,  
28, 18.
- Maxwell, G.M., Castillo, C.A., Crumpton, C.W. & Rowe,  
G.G. (1959): Am. Heart J., 58, 854.
- McAllister, R.A. (1970): Enzymes and the Determina=  
tion of Enzyme Activity. London : Butterworths.
- McDermott, W.V. & Adams, R.D. (1954): J. Clin. In=  
vest., 33, 1.
- Michaelli, D. (1969): Brit. Med. J., 1, 844.
- Miller, O.N. & Olson, R.E. (1952): J. Biol. Chem.,  
199, 457.
- Minard, D. & Copman, L. (1963): in : Temperature  
Its Measurement and Control, vol. 3, part 3, Biolo=  
gy and Medicine, p. 253. New York : Reinhold Pu=  
blishing Corporation.
- Mirsky, A.E. & Ris, H. (1949): Nature, 163, 666.
- Moon, R.C. (1962): Am. J. Physiol., 203, 939.
- Morris, R.O. & King, T.E. (1962): Biochemistry, 1,  
1017.

- Morrison, J.F., Wyndham, C.H., Strydom, N.B., Cooke, H.M., Williams, C., Bredell, G., Peter, J. & Kleyn, V. (1961): A.P.L. Report No. 6/61. p. 1.
- Muller, M.A. (1965): Die Invloed van pH op die Intermediêre Koolhidraat-Metabolisme van Rothartskyfies in vitro. M.Sc.-thesis. Universiteit van Stellenbosch.
- Murphy, B.E.P. (1967): J. Clin. Endocr., 27, 973.
- Neill, W.A., Jensen, P.E., Rich, G.B. & Werschull, J.D. (1969): J. Clin. Invest., 48, 1862.
- Olson, R.E. & Stare, F.J. (1951): J. Biol. Chem., 190, 149.
- Oog, R.K. (1940): J. Path. Bact., 51, 137.
- Peter, J. (1972): Persoonlike mededeling.
- Phillips, G.B., Schwartz, R., Gabuzda, G.J. & Davidson, C.S. (1952): New Eng. J. Med., 247, 239.
- Precht, H., Christophersen, J. & Hensel, H. (1955): Temperatur und Leben. Springer, Berlin.
- Prinsloo, H. (1970): Enzyme Studies in Pneumoconiosis. D.Sc.-thesis. University of Pretoria.
- Prior, R.L., Clifford, A.J. & Visek, W.J. (1970): Am. J. Physiol., 219, 1680.
- Rahn, O. (1941): Temperature and Life, in Temperature : Its Measurement and Control in Science and Industry. New York : Reinhold Publishing Corporation. Vol. 1.

- Rapoport, S., Nieradt-Hiebsch, Ch., & Thamm, R.  
(1968): *Acta Biol. Med. Germ.*, 21, 291.
- Reed, W.A., Manning, R.T. & Hopkins, L.T. (1964):  
*Am. J. Physiol.*, 206, 1304.
- Romeo, J. (1966): *Milit. Med.*, 131, 669.
- Rosenthal, T.B. (1948): *J. Biol. Chem.*, 173, 25.
- Schmidt, E. & Schmidt, F.W. (1967): *Guide to Practical Enzyme Diagnosis*. Mannheim : C.F. Boehringer & Sohne GmbH.
- Schrier, R.W., Henderson, H.S., Tisher, C.C. & Tan=nen, R.L. (1967): *Ann. Intern. Med.*, 67, 356.
- Shibolet, S., Coll, R., Gilat, T. & Sohar, E. (1967):  
*Quart. J. Med.*, 36, 525.
- Shibolet, S., Fisher, S., Gilat, T., Bank, H. & Hiller, H. (1962): *New Engl. J. Med.*, 266, 169. .
- Siggaard-Andersen, O. (1962): *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 14, 598.
- Siggaard-Andersen, O. & Engel, K. (1960): *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 12, 177.
- Simon, J.F. (1935): *J. Lab. Clin. Med.*, 21, 400.
- Sohar, E., Michaeli, D., Waks, U. & Shibolet, S.  
(1968): *Arch. Intern. Med.*, 122, 159.
- Stadie, W.C. & Riggs, B.C. (1944): *J. Biol. Chem.*, 154, 687.
- Stoesz, P.A. & Le Page, G.A. (1949): *J. Biol. Chem.*, 180, 587.

- Theron, J.J. (1972): Persoonlike mededeling.
- Tucker, H.A. & Reece, R.P. (1962): Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 111, 639.
- Umbreit, W.W., Burris, R.H. & Stauffer, J.F. (1964): Manometric Techniques. Minneapolis 15 : Burgess Publishing Co.
- Ushakov, V.B. (1964): Dokl. Akad. Nauk USSR, Otd. Biokh., 155, 1178.
- Van Slyke, D.D. & Neill, J.M. (1924): J. Biol. Chem., 61, 554.
- Vendrely, R. & Vendrely, C. (1948): Experientia, 4, 434.
- Vendrely, R. & Vendrely, C. (1949): Experientia, 5, 327.
- Vescia, F.G. & Peck, O.C. (1962): Gastroenterology, 43, 340.
- Vinuela, E., Algranati, I.D. & Ochoa, S. (1967): European J. Biochem., 1, 3.
- Webb, J.L., Saunders, P.R. & Thienes, C.H. (1949): Arch. Biochem., 22, 444.
- Weiss, A.K. (1957): Am. J. Physiol., 188, 430.
- Wieme, R.J. (1965): Agar Gel Electrophoresis. Amsterdam : Elsevier Publishing Co.
- Wilson, R.H. (1951): J. Lab. Clin. Med., 37, 129.
- Wintrobe, M.M. (1962): Clinical Hematology. Philadelphia : Lea & Febiger.

Wojtczak, L. & Lehninger, A.L. (1961): Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 51, 442.

Wood, H.C. (1863): Am. J. Med. Sci., 46, 377.

Zamenhof, S., Marthens, E.V. & Margolis, F.L. (1968): Science, 160, 322.

## AFKORTINGS

ACP	suurfosfatase
Act. $\text{HCO}_3^-$	ware bikarbonaat
ALD	aldolase
AP	alkaliese fosfatase
BB	bufferbasis
BE	basis oormaat
$^{14}\text{C}$	radioaktiewe koolstof
$\text{CaCl}_2$	kalsiumchloried
$\text{CO}_2$	koolsuurgas
$^{14}\text{CO}_2$	koolsuurgas met radioaktiewe kool=stof
CPK	kreatienfosfokinase
DNA	deoksiribonukleïensuur
d.p.m.	disintegrasies per minuut
E-rot	verhitte rot
g	gram
GLDH	glutamiensuurdehidrogenase
GOT	glutamiensuuroksaloasynsuur-transami-nase
GPT	glutamiensuurpiruviensuurtransamina-se

G-6-PDH	glukose-6-fosfaatdehidrogenase
IU	internasionale eenheid
KCl	kaliumchloried
K-rot	kontrolerot
Kw-rot	waterbadkontrolerot
LDH	melksuurdehidrogenase
LDH 1	melksuurdehidrogenase iso-ensiem een
LDH 2	melksuurdehidrogenase iso-ensiem twee
LDH 3	melksuurdehidrogenase iso-ensiem drie
LDH 4	melksuurdehidrogenase iso-ensiem vier
LDH 5	melksuurdehidrogenase iso-ensiem vyf
MDH	appelsuurdehidrogenase
MDH 1	appelsuurdehidrogenase iso-ensiem een
MDH 2	appelsuurdehidrogenase iso-ensiem twee
MDH 3	appelsuurdehidrogenase iso-ensiem drie
MDH 4	appelsuurdehidrogenase iso-ensiem vier
MDH 5	appelsuurdehidrogenase iso-ensiem vyf
mEkw	milli-ekwivalent
mg	milligram
min	minuut
mm Hg	millimeter kwik
mU	milli-eenheid

NaCl	natriumchloried
NAD	nikotienamiedademiendinukleotied (geoksideerde vorm)
NADH	nikotienamiedadeniendinukleotied (gereduseerde vorm)
pCO <sub>2</sub>	parsiële koolsuurgasspanning
P-DNA	deoksiribonukleïensuurfosfor
g-PGADH	6-fosfoglukonaatdehidrogenase
pH	minus die logaritme waterstofioon= konsentrasie
p-nitrofeniel= fosfaat	para-nitrofenielfosfaat
pO <sub>2</sub>	parsiële suurstofspanning
P/O-verhouding	fosforilasie-oksidasie-verhouding
QO <sub>2</sub>	mikroliter suurstof opgeneem per mil ligram nat gewig weefsel per uur
SDH	sorbitol dehidrogenase
St. HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	standaard bikarbonaat
μ	mikro
μl CO <sub>2</sub>	mikroliter koolsuurgas
μl O <sub>2</sub>	mikroliter suurstof
>	groter as

## BEDANKINGS

Graag wil ek die volgende persone en instansies bedank:

- Dr. C.J. Reinecke, onder wie se leiding hierdie proefskrif voltooi is.
- Dr. D.P. Wissing, Departement van Afrikaans, P.U. vir C.H.O., vir die taalkundige versorging van die proefskrif.
- Mej. M. Brits, vir die tikwerk.
- Pro Rege Pers Beperk, vir die duplisering en hulp met die tegniese versorging van die proefskrif.
- Die Biblioteek van die P.U. vir C.H.O., vir die bind van sommige eksemplare.
- Die Mediese Navorsingsraad, vir finansiële steun waardeur hierdie ondersoek moontlik gemaak is.