

Simposia en konferensies

Referate gelewer tydens die Afdeling Biologie van die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns se jaarkongres, 22 Junie 1993, Universiteit van Suid-Afrika, Pretoria.

Intra- en interindividuale variasies in LP(a)-konsentrasies in hiperlipidemiese Afrikaners

J.A. Kellerman, H.H. Vorster, C.S. Venter en W. Oosthuizen

Departement Voeding, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Potchefstroom 2520

W.J.H. Vermaak

Departement Chemiese Patologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

M.J. Kotze

Departement Mensgenetika, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch 7600

Lipoproteïen(a) (Lp(a)) is vir die eerste keer in 1963 deur Kåre Berge beskryf. Serum Lp(a) is 'n cholesterolryke lipoproteïen wat strukturele ooreenkoms met laedighedslipoproteïen (LDL) en plasminogeen vertoon. Hierdie ooreenkoms skep moontlik 'n verbintenis tussen die lipiedkomponent van aterosklerose en die stollingskomponent van trombose. Resente studie het bewys dat Lp(a) 'n kwantitatiewe genetiese polimorfisme is, wat kodominant oorgeërf word. Ses isoforme van Lp(a) is geïdentifiseer wat assosiasies met plasma-Lp(a)-konsentrasies toon. Lp(a) is 'n voorbeeld van die genetiese valbaarheid van 'n individu vir KHS.

Die doel van hierdie studie was om die stabilitet van Lp(a) binne persone, en die verspreiding binne groepe en geslagte te ondersoek.

Driehonderd twee-en-veertig Afrikaners wat pasiënte van die Lipiedkliniek, PU vir CHO, Potchefstroom is, was die studiepopulasie. Pasiënte het die Lipiedkliniek met ongeveer ses- tot agtweeklikse intervalle in die periode Januarie 1992 tot Mei 1993 besoek. Proefpersone is in vyf subgroepe verdeel op grond van die volgende insluitingskriteria:

- * Kontrole en dieetgeïnduseerde hiperlipidemiese groep: pasiënte is ingedeel volgens die Suid-Afrikaanse ouderdomspesifieke afsnypunte van serum-cholesterol. Pasiënte wat in die geen en matige risikobied geval het, is ingesluit.
- * Bevestigde familiële hipercholesterolemie(FH)-groep: TC $\geq 7,5$ mmol/L, 'n familiegeskiedenis van KHS met 'n bevestigde mutasie op ekson 4 of ekson 9 van die LDL-reseptorgene. Pasiënte kon ook 'n TC van $\leq 7,5$ mmol/L, maar xanthomas en arkusse vertoon, en hipoholesteroliese medikasie gebruik.
- * Vermoedelike FH: familiegeskiedenis van KHS, TC normaal of effens verhoog met gebruik van hipoholesteroliese medikasie.
- * Diabetes mellitus-pasiënte: soos gediagnoseer deur 'n algemene praktisyn.

Serumbloedmonsters is na 'n 12-uurvasperiode geneem. Lp(a) is met 'n RIA-metode van Pharmacia bepaal

(Koeffisiënt van variasie (KvV) = 0,3 - 2,9%). Inter- en intra-individuale KvV vir elke pasiënt wat twee of meer besoeke aan die kliniek gebring het, en vir elke subgroep is bepaal. Betekenisvolheid is met die SAS-program deur middel van 'n tweerigtingvariansie-analise ($p < 0,1$ betekenisvol) bereken.

Geen betekenisvolle verskille het in die interindividuale KvV tussen groepe onderling of tussen geslagte voorgekom nie (tabel). 'n Moontlike verduideliking hiervoor is dat al die groepe en geslagte 'n wye verspreiding van Lp(a)-vlakte gehad het. Geen betekenisvolle verskille is vir intra-individuale KvV tussen

TABEL 1
Gemiddelde interindividuale KvV(%) van serum-Lp(a)

Groepsbeskrywing	MANS	DAMES
KONTROLE		
N	24	23
GRENSE	20-840	16-840
SA	300.1	184.2
GEM	335.5	202.1
KvV (%)	89.4	91.2
HIPERLIPS		
N	65	68
GRENSE	16-840	16-840
SA	280.5	294.2
GEM	324	329.9
KvV (%)	86.6	89.2
BEVESTIGDE FH		
N	20	18
GRENSE	16-840	24-840
SA	306.1	275.5
GEM	314	458.9
KvV (%)	97.5	60.7
VERMOEDELIKE FH		
N	38	39
GRENSE	16-840	23-840
SA	282	272.9
GEM	320.5	329.7
KvV (%)	88	82.8
DIABETE		
N	31	16
GRENSE	16-840	16-840
SA	285.3	252
GEM	213.9	221.2
KvV (%)	133.4	113.9

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol
(Tweerigtingvariansie-analise, $p < 0.1$)

geslagte en groepe opgemerk nie. 'n Moontlike verklaring hiervoor is dat die geslagte en groepe telkens 'n soortgelyke wye verspreiding getoon het ($16 - 840 \text{ E/L}$). 'n Interessante verskynsel was die groot getal persone met $\text{Lp}(\text{a})$ -konsentrasies bo 840 E/L ($1\text{E} = 0,7 \text{ mg Lp}(\text{a})$). Dit wil dus voorkom asof blankes in Suid-Afrika eerder 'n bimodale as 'n gekonsentreerde verspreiding van $\text{Lp}(\text{a})$ na links vertoon, soos wat in die literatuur vir Kaukasiërs gerapporteer word. Teenstrydig met die literatuur toon die intra-individuale KvV vir sommige van die pasiënte buitengewone variasies. Verskillende sintesetempo's, wat eerder die bepalende faktor vir $\text{Lp}(\text{a})$ -konsentrasie as die katabolismetempo is, bestaan moontlik vir verskillende isoforme. 'n Onbekende faktor wat aanleiding gee tot

variasie in gemete $\text{Lp}(\text{a})$ -konsentrasies kan moontlik in serum voorkom. Die waargenome $\text{Lp}(\text{a})$ -variasies binne persone kan moontlik die gevolg wees van 'n meer labiele $\text{Lp}(\text{a})$. 'n Beperkende faktor in 'n poging om 'n ware beeld van betekenisvolle verskille te bepaal, is die metingsmetode. 'n Leemte in die metode is die onvermoë om konsentrasies hoër as 840 E/L en laer as 16 E/L te meet. 'n Ware beeld van die $\text{Lp}(\text{a})$ -verspreiding binne bevolkingsgroepe is dus moeilik definieerbaar.

Die volgende gevolgtrekkings is gemaak:

1. Geslag het geen effek op variasie in $\text{Lp}(\text{a})$ -konsentrasies gehad nie.
2. Sommige persone vertoon teenstrydig met die literatuur groot variasies in $\text{Lp}(\text{a})$ -vlakte.

Die langtermyninvloed van droëbone en soja op die metaboliese beheer van tipe II diabetes mellitus-pasiënte

A. Verster, N. Silvis, H.H. Vorster, C.S. Venter, F.J. Veldman, W. Oosthuizen, J.A. Kellerman en J.C. Jerling
Departement Dieetkunde, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Potchefstroom, Potchefstroom 2520

W.J.H. Vermaak

Departement Chemiese Patologie, Universiteit van Pretoria

Droëbone is 'n ryk bron van wateroplosbare en water-onoplosbare dieetvesel. Wateroplosbare dieetvesel verbeter glukemiese beheer van diabetiese pasiënte deur die vertering en absorpsie van koolhidrate te vertraag. Daarbenewens verlaag wateroplosbare dieetvesel ook verhoogde serumlipiedvlakke, sowel as die konsentrasies van sommige stollingsfaktore, beide risikofaktore vir koronêre hartvaatsiektes (KHS). Dit is belangrik ten opsigte van die hoe risiko wat diabete vir KHS het.

Plantproteïene word as hipoholesterolermies teenoor die hipercholesterolermiese effek van dierlike proteïene beskou, moontlik as gevolg van die verskille in die aminosuurverhouding, asook die effek van plantproteïene op die LDL-receptoraktiwiteit.

Die doel van hierdie studie was om die langtermyninvloed van 'n daagliks porsie van 150 g (gaar produk) droëbone teenoor 'n daagliks porsie van 50 g (rou produk) soja, in die konteks van 'n hoëkoolhidraat-, hoëvesel-, laevet-verslankingsdieet, op die metaboliese beheer van tipe II diabetes mellitus-pasiënte te bepaal. Twintig nie-insulienafhanklike diabete is in een van twee groepe ingedeel, en het óf die droëbone- óf die sojadieet vir 12 weke lank gevvolg, waarna 'n terugkeerperiode van 8 weke gevvolg het. Die doel van die terugkeerperiode was om die mate van inskikklikheid tot die twee diéte, na afloop van die eksperimentele periode, te bepaal. Die pasiënte het in hierdie 20-weekperiode die Lipiedkliniek van die Departement Dieetkunde, PU vir CHO, 5 keer besoek, waartydens massas bepaal is, bloeddrukke gemeet is, dieetnavrae beantwoord is en bloedmonsters versamel is. Bloedmonsters is in serum en plasma verdeel vir analise van:

- * glukosebeheer getoets deur HbA1c en fruktosamien;
- * lipide en lipoproteïene; en

* stollingsfaktor (fibrogeen) en fibrinolitiese aktiwiteit. Die medikasiegebruik van die proefpersone was onveranderd deur die eksperimentele periode.

Geleidelike massaverlies het in beide groepe voorgekom, maar was egter nie statisties betekenisvol nie (van $90,55 \pm 16,1 \text{ kg}$ na $88,9 \pm 17,6 \text{ kg}$ in die droëbonegroep en van $86,96 \pm 10,87 \text{ kg}$ na $84,31 \pm 10,79 \text{ kg}$ in die sojagroep).

Die glukemiese beheer van die pasiënte soos gemeet teen HbA1 het van $9,03 \pm 1,92 \text{ mmol/L}$ na $7,98 \pm 0,93 \text{ mmol/L}$ in die droëbonegroep en van $9,64 \pm 2,6 \text{ mmol/L}$ na $7,84 \pm 1,57 \text{ mmol/L}$ in die sojagroep, verbeter.

Die totale cholesterol het van $5,71 \pm 1,44 \text{ mmol/L}$ na $5,42 \pm 1,57 \text{ mmol/L}$, en van $5,76 \pm 0,99 \text{ mmol/L}$ na $5,32 \pm 1,06 \text{ mmol/L}$ betekenisvol in die droëbone en sojagroep respektiewelik gedaal. Hoëdigtheidslipoproteïen-cholesterol (HDL) het betekenisvol van $0,95 \pm 0,29 \text{ mmol/L}$ na $0,85 \pm 0,26 \text{ mmol/L}$, en triglyceride van $2,5 \pm 1,11 \text{ mmol/L}$ na $2,1 \pm 0,87 \text{ mmol/L}$ in die droëbonegroep gedaal. Apolipoproteïen B het betekenisvol in beide groepe gedaal en wel van $1,4 \pm 0,33 \text{ mmol/L}$ na $1,31 \pm 0,37 \text{ mmol/L}$, en van $1,46 \pm 0,35 \text{ mmol/L}$ na $1,28 \pm 0,33 \text{ mmol/L}$, in die droëbone en sojagroep respektiewelik.

Plasminogenaktieverderinhibeerder-1 (PAI-1) het van $22,11 \pm 14,6 \text{ E/mL}$ na $19,93 \pm 9,59 \text{ E/mL}$ en van $19,02 \pm 13,18 \text{ E/mL}$ na $10,19 \pm 5,79 \text{ E/mL}$ in die droëbone- en sojagroep respektiewelik verbeter.

Die gevolgtrekking wat uit hierdie studie gemaak kan word, is dat sowel droëbone as soja die glukemiese beheer en die serumlipiedvlakke in tipe II diabetiese pasiënte verbeter. PAI-1 word betekenisvol deur droëbone en soja verlaag. Dit mag beteken dat fibrinolitiese aktiwiteit verhoog en die risiko wat hierdie pasiënte vir koronêre hartvaatsiektes het, mag verlaag.

Die effek van tipe II diabetes mellitus op die funksie en eienskappe van plasmafibrinogeen

F.J. Veldman, A. Verster, J.C. Jerling, J. Kellerman, C.S. Venter en H.H. Vorster
Departement Voeding, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Potchefstroom 2520

W.J.H. Vermaak

Departement Chemiese Patologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Tydens die tydperk 1980-1989 het resultate van prospektiewe epidemiologiese studies aangetoon dat fibrinogeen 'n moontlike risikofaktor vir koronêre hartvaatsiektes (KHS) is. Hierdie studies sluit die Gothenbergstudie, die Framinghamstudie, die "Northwick Park Heart"-studie asook die Leighstudie, in. In al vier hierdie studies is sterk assosiasies tussen plasmafibrinogeen en die voorkoms van KHS aangetoon. Daar was ook sterk assosiasies tussen plasmafibrinogeen en ander kardiovaskulêre risikofaktore soos verhoogde bloeddruk en bloedcholesterol, asook glukose-onverdraagsaamheid. Gebaseer op bogenoemde resultate is aangetoon dat 'n hoë fibrinogeenkonsentrasie 'n onafhanklike risikofaktor vir kardiovaskulêre siektes is. Fibrien speel 'n belangrike rol in die trombotiese proses, sowel as in die ontstaan van aterosklerose. Epidemiologiese data het aangetoon dat diabetes mellitus 'n risikofaktor vir kardiovaskulêre siektes, spesifiek KHS, is. Alhoewel KHS 'n hoë voorkoms by diabete het, oefen glukosetoleransie steeds 'n effek onafhanklik van ander risikofaktore uit. Hierdie effek kan verwant wees aan 'n verhoogde trombogeniese faktor, soos fibrinogeen. Abnormaliteit van die fibrinogenestolsel word ook geassosieer met die voorkoms van KHS.

Die doel van hierdie studie was om die verwantskap tussen glukose-onverdraagsaamheid, soos gemitte aan glikosileerde bloedproteïene, en die funksie en eienskappe van plasmafibrinogeen, te ondersoek.

Veertig ml bloed, in 3,2% natriumsitraat, is van drie groepe van die 20 pasiënte elk (kontrole, tipe II diabetes mellitus en hiperlipidemies) van die Lipiedkliniek van die Departement Voeding aan die PU vir CHO getrek. Fibrinogeen is geïsoleer volgens die metode van Mosesson en Sherry. Stolbaarheid en lengte-massa-verhouding is turbidimetries bepaal, terwyl die glikosilering van fibrinogeen met die metode van Fluckiger en Winterhalter bepaal is. Suiwerheid van fibrinogeen is met behulp van natriumdodesielsulfaat poli-akrielamied gelelektroforese asook kernmagnetiese resonans bepaal. Fibrinogeen is met die metode van Clauss, en weefselplasminogenaktiveerder-antigeen en plasminogenaktiveerder-inhibeerder met immunologiese kolorimetriese metodes bepaal.

Die resultate was soos volg:

VERANDERLIKE	KONTOROLE (n=20)	DIABETE (n=20)	HIPERLIPS (n=20)
FIB (g/L)	2,87 ± 0,6 #*	3,76 ± 0,82 #	3,5 ± 0,92 *
KOMPAKSIE (%)	73,16 ± 6,89 #*	51,78 ± 17,8 #	40,17 ± 15,92 *
LMV(DALTONS/CM)			
X 10E + 12	20,02 ± 10,97 #*	22,89 ± 1,1 #	13,66 ± 1,45 *
FGK(µmol/100mgFib)	0,82 ± 0,07 #*	1,17 ± 0,18 #\$/	0,9 ± 0,06 \$
STOL (%)	54,4 ± 6,3 #*	69,1 ± 8,9 #	66,5 ± 9,1 *
t-PA(Ag) (ng/ml)	5,92 ± 2,83 #*	17,09 ± 7,1 #\$/	8,82 ± 4,91 \$
PAI (E/ml)	9,84 ± 9,17 #	21,1 ± 12,8 #	13,65 ± 9,71

Gemiddeldes met dieselfde simbole verskil betekenisvol
(P < 0,05: Student-T-Toets)

- FIB: Plasmafibrinogeen
 LMV: Die verhouding van die lengte van die fibrienvesels tot hulle massa in 'n stolsel
 FGK: Die konserverasie glukose (in µmol) wat per 100 mg fibrinogeen gebind is
 Stol: Stolbaarheid van die proteïen in % uitgedruk
 t-PA(Ag): Weefselplasminogenaktiveerder-antigeen
 PAI: Plasminogenaktiveerderinhibeerder (eenhede/ml)

In vergelyking met kontroles het die tipe II diabetiese pasiënte die volgende getoon:

- * verhoogde vlakte plasmafibrinogeen;
- * fibrinogenestolsel is meer kompak en rigied by diabete;
- * fibrinogeen is meer stolbaar, wat dus verhoogde reaktiwiteit van die molekuul aandui;
- * die fibrinogenvesels in die stolsel is langer en dunner, wat oorsprong gee aan 'n stolsel met kleiner porieë; en
- * fibrinogeen is meer glikosileerd.

Die hiperlipidemiese pasiënte het ook verhoogde vlakte plasmafibrinogeen, verlaagde kompaksie, verlaagde lengte-massa-verhouding, verhoogde stolbaarheid en verhoogde t-PA(Ag) gehad.

Die volgende gevolgtrekkings kan gemaak word:

Diabetes mellitus veroorsaak abnormale struktuur van die fibrinogenestolsel. Dit is reeds aangetoon dat hierdie abnormaliteit met die voorkoms van KHS korreleer. Die assosiasie van glukose-onverdraagsaamheid met die trombotiese proses word dus bevorder deur die effek wat DM op die struktuur en funksie van plasmafibrinogeen uitoefen.

Die invloed van drie kondoomsoorte op menslike spermparameters

F. le R. Fourie, C. Huyser, H. de Lange en C. Bezuidenhout
Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Die doel van hierdie studie was om die invloed van drie soorte kondome op sekere spermparameters te evalueer vir moontlike gebruik tydens geassisteerde bevrugtings-tegnieke (ABT).

Nietoksiese kondome word tydens ABT gebruik wanneer mans nie semenmonsters deur masturbering wil lewer nie. Drie soorte kondome is van verskillende maatskappye verkry (10 per behandeling), waarvan twee soorte (MFP & PC) van 'n mediesegraad plastiek vervaardig is en vir vrugbaarheidstoetse bemark word. Die derde tipe kondoom (LSP) is van lateks vervaardig, bevat 'n smeermiddel en word as voorbehoedmiddel bemark.

Semenmonsters wat weekliks verkry is, is gemeng en vir 30 minute geïnkubeer. Die spermkonsentrasie, -motiliteit en -vitaliteit, (SV) is dan bepaal en die hiposmotiese swellingstoets (HOS) is uitgevoer. Twee milliliter van die semen is vir 30 minute in elkeen van die kondome geïnkubeer. 'n Kontrolemonster is in 'n Falcon-proefbuisie geïnkubeer. Een milliliter van die semen is hierna uit die kondome gepipetteer en bg. toetse is herhaal. Nadat 'n was-en-opswem-prosedure uitgevoer is, is die sperme wat opgeswem het en die neerslag getoets. Die monsters is na 24 uur inkubering weereens geëvalueer.

Die persentasie sperme met gereageerde akrosome is na 24 uur d.m.v. FITC (*Pisum sativum*) lektienkleuring bepaal.

Die LSP-kondoom inhibeer spermomotiliteit vanaf blootstelling tot en met die 24 uurwaarneming. Geen opgeswemde sperme is na blootstelling aan die LSP-kondoom verkry nie. Die konsentrasie, motiliteit en vitaliteit van sperme wat aan die MFP- en PC-kondome blootgestel was, het na die opswemproses en na 24-uur nie van die kontrole verskil nie ($p > 0,05$). Vitaliteitstoetse (HOS & SV) wat na sentrifugering op die neerslag uitgevoer is, asook na 24 uur, duï nie op betekenisvolle verskille ($p > 0,05$) tussen die LSP-, MFP- en PC-kondome en die kontrole nie. Dit duï daarop dat blootstelling aan LSP-kondome sperme immobiliseer, maar nie noodwendig dood nie.

Die MFP- en PC-kondome wat vir fertilitetstoetings bemark word, het met die uitsondering van die akrosoomreaksie, geen nadelige invloed op die spermparameters nie. Die PC mediese graad plastiekcondoom het tot 'n laer 24-uurakrosoomgereageerde populasie ($p < 0,003$) gelei (PC = 9,1% vs. kontrole = 18,3% vs. MFP = 20,6%). Die profilaktiese LSP-kondoom immobiliseer sperme, maar beïnvloed nie hulle lewensvatbaarheid oor 'n 24-uurperiode nie.

Kumulatiewe embriogradering (KEG) as voorspellingskriterium vir swangerskapsuitkoms in 'n *in vitro*-bevrugtingsprogram

D.S. Visser, F. le R. Fourie en C.J. Meintjes
Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Kumulatiewe embriogradering (KEG) omvat drie aspekte wat betrekking het op die lewensvatbaarheid van embrio's en swangerskapsuitkoms, naamlik die getal embrio's teruggeplaas, kliewingstempo en morfologie. Die verwantskap van KEG met die totstandkomming van swangerskap, swangerskapsuitkoms en die voorkoms van veelvoudige swangerskappe is ondersoek. Die moontlikheid om KEG as kwaliteitskontrole vir endotoksiënbesmetting te gebruik, is ook ondersoek.

Die embryo's is volgens morfologiese voorkoms op 'n skaal van 1 (swak morfologie) tot 4 (goeie morfologie) gegradeer. Die KEG is bereken deur die morfologiese gradering en die getal blastomere van elke teruggeplaaste embryo te vermenigvuldig en die som van die produkte te bepaal (602 pasiënte).

Die swangerskapskoers het toegeneem vanaf 4% in die KEG-klasinterval 1-10, tot 35% in die 41-50 klasinterval. Die KEG-waarde van 20 vorm 'n skeiding in die prognose wat die totstandkomming van swangerskappe betref ($p < 0,0001$). Die voorkoms van biochemiese

aborsies was hoog indien die KEG-waardes 20 of laer was ($p=0,00978$). 'n Soortgelyke tendens is nie by kliniese aborsies waargeneem nie ($p = 0,62206$). Die geboortekoers onder en bo die KEG-waarde van 20 (2,8% en 19,2% respektiewelik) het statisties betekenisvol verskil ($p=0,0005$). Die KEG-waardes van tweelinge oorvleuel met die van eenlinge, maar die van drielinge was konstant hoër as 40. Die sisteem het nie die teenwoordigheid van endotoksiëne in kweekmedium aangedui nie.

Daar bestaan 'n duidelike verwantskap tussen KEG en embriokwaliteit. KEG is bruikbaar vir die voorspelling van die totstandkomming van swangerskappe en die uitkoms daarvan. Die KEG-waardes van een- en meerlinge is nie duidelik afgebaken nie en daarom word die bruikbaarheid van die sisteem vir die bekamping van veelvoudige swangerskappe in twyfel getrek. Die teenwoordigheid van endotoksiëne in kweekmedium is nie deur die sisteem aangedui nie, maar KEG behoort bruikbaar te wees as kwaliteitskontrole in gevalle waar embriokwaliteit sigbaar aangetas word.

Doeltreffendheid van 'n spermwasmetode

P.F. Levay en F. le R. Fourie

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Die doel van die studie was om die getal wassiklusse te bepaal wat nodig is tydens spermprosessering om van seminale plasmaproteïene in die bovloeistof ontslae te raak.

Semenmonsters is gewas volgens die protokol wat deur die Sentrum vir Fertiliteitstudies, H.F. Verwoerd Hospitaal, gebruik word. Donormonsters ($n = 15$) is versamel en toegelaat om vir 30 minute by kamertemperatuur te vervloei. Die monsters is daarna vir 'n bykomende 10 minute gemeng. Semen (1 ml) is geprosesseer d.m.v. 'n wasmetode met 2 ml Earle se gebalanseerde soutoplossing (EBSO) wat met Penisillien-Streptomisien (70 IE/ml EBSO) aangevul is. Gedurende elk van die 10 opeenvolgende wassiklusse is 2 ml EBSO by die gesentrifugeerde spermneerslag (370 g, 10 minute) gevoeg. Die bovloeistowwe is vir retrospektiewe analises by -70°C geberg. Proteïenkonsentrasies van seminale plasma en bovloeistowwe is vervolgens spektrotometries d.m.v. 'n Bio Rad-stel geanalyseer en is verder elektroforeties ondersoek. Spermmonsters ($n=11$), soos deur laboratorium personeel vir IVB-procedures geprosesseer (was 1, was 2 en die onderste ml van die opswemmedium) is as die kontrolegroep gebruik.

Resultate dui daarop dat:

1. daar geen betekenisvolle verskille tussen proteïenvlake in seminale plasma, was 1- en was 2-bovloeistof van die kontrolegroep en eksperimentele groep ($p > 0,05$) voorkom nie;
2. die meerderheid seminale proteïene (98%) tydens die eerste twee wassiklusse verwijder word;
3. daar ongeveer 2% van die seminale plasmaproteïene in die spermneerslag oorblê wat gebruik is vir spermopswem vir *in vitro*-bevrugting;
4. seminale plasmaproteïenbande steeds waarneembaar is in die bovloeistof van die sewende wassiklus (silwer kleuring);
5. seminale plasmaproteïene doeltreffend verwijder is van die was-bovloeistof tydens die sesde wassiklus.

Daar is tot die gevolgtrekking gekom dat die twee wassiklusse tydens spermprosessering voldoende is vir die verwijdering van die meerderheid seminale plasmaproteïene (98%). Twee wassiklusse is egter onvoldoende vir die volledige verwijdering van seminale plasmaproteïene van spermsuspensies. Hierdie bevinding het verdere toepassingsmoontlikhede bv. op die ontleding van spermembriaan-proteïensamestelling.

Proteïenaanvulling van kultuurmediums: invloed op muisembrioontwikkeling

C. Huyser, F. le R. Fourie en C. Bezuidenhout

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit Pretoria, Pretoria 0002

Tydens hierdie studie is probeer om die invloed van proteïenaanvulling van Earle se gebalanseerde soutoplossing (EBSO) deur middel van geïnakteerde en niegeïnakteerde menslike follikulêre vog (FV), geïnakteerde mens- en fetale kalfserum (FKS) op tweeselmuisembrio(ME)-ontwikkeling te ondersoek.

EBSO is aangevul met: (a) 10% FV met lige bloedkontaminasie (spektrotometries geskandeer); (b) FV met geen bloedkontaminasie nie. Die FV is geïnakteer (56°C vir 30 min.) of nie geïnakteer nie; (c) serum vekry van (i) infertiele *in vitro*-bevrugtingspasiënte en (ii) ongestimuleerde vroue op dag 12 van hulle menstruele siklus. EBSO wat met 10% en 15% geïnakteerde FKS aangevul is, is as kontrole gebruik. EBSO sonder enige proteïenaanvulling is ook in die studie ingesluit. Deling (D), blastulering (B) en uitbreking van die blastosiste (UB) van tweeselmuisembrio's ($n \leq 100$ ME per behandeling) in bogenoemde medium, is na 72 uur in kultuur waargeneem. Die biochemiese profiele van die onderskeie kultuurmediums is ook geanalyseer.

Resultate dui daarop dat: (1) die delingstempo van ME in alle medium ooreenstemmend was (97% ±

2,2%), met die uitsondering waar niegeïnakteerde bloedgekontamineerde FV as proteïenbyvoeging gebruik is (80%; $p = 0,0001$). Waar aanvulling met niegeïnakteerde FV uitgevoer is, was die ME gedegenereerd en gefragmenteerd; (2) aanvulling met geïnakteerde FV (nie met bloed gekontamineerd nie) in vergelyking met FKS, hoër B-vorming (95% vs 73%; $p = 0,0021$) en UB (73% vs 37%; $p = 0,0001$) getoon het. Byvoeging met niegeïnakteerde FV het geen UB getoon nie; (3) medium met serumtoevoeging van ongestimuleerde vroue, het betekenisvol hoër B-vorming ($p = 0,0001$) en UB ($p = 0,013$) getoon as medium wat met serum van IVB-pasiënte of FKS aangevul is; (4) ME-ontwikkeling in EBSO met geen proteïenaanvulling nie, lae B-vorming (15%) en geen UB getoon het nie; (5) sterioëde die enigste veranderlike was wat in hoër vlakte in die FV voorgekom het, in vergelyking met ander proteïentoevoegings.

Daar is tot die gevolgtrekking gekom dat ME beter ontwikkel het in 'n medium wat met skoon geïnakteerde FV of serum van ongestimuleerde vroue aangevul is, as met ander proteïenbyvoegings ($p < 0,0131$).

Spermembraan-isolering: 'n Transmissie-elektronmikroskopiese (TEM) studie

P.F. Levay en F. le R. Fourie

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

N. Lourens en G.P. Loots

Departement Anatomie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

Die doel van die studie was om suiwer, homogene menspermembraan sonder sellulêre kontaminante te isolere.

Semenmonsters is versamel en by -70 °C geberg. Gedurende elke spermembraanisoleringspoging is 800×10^6 sperme gesonifiseer (40% afvoer, "Vibra Cell"). Die invloed van sonifiseringstyd (3 x 5, 3 x 15 en 180 sekondes) op membraanisolering is vervolgens ondersoek. Gesonifiseerde monsters is gesentrifugeer (500 g; 5 minute) en die bovloeistof afgepipetteer. Die bovloeistowwe is a) op 'n sukkrosekussing (bovloeistof op 1,6 mol l) en b) op 'n diskontinue sukkrosegradiënt geplaas en gesentrifugeer (100 000 g, 1 uur). Die bovloeistof van die gesonifiseerde monsters en sukkrose-interfasefraksies is vervolgens d.m.v. 1,0% tanniensuur en 2,5% glutaraaldehyd gefiksieer en d.m.v. transmissie-elektronmikroskopie ondersoek. Verskeie diskontinue gradiënte (0,56, 0,75, 0,85, 1,05, 1,28 en

1,60 mol sukkrose¹⁾) is verder vir optimale isolering ondersoek. Resultate dui daarop dat:

1. optimale sonifiseringstyd 3 x 15 sekondes was, wat tot die minste sellulêre kontaminasie aanleiding gegee het en die meeste membrane van intakte spermkoppe verwyder het;
2. membraanisolering d.m.v. 'n sukkrosekussing onvoldoende was, aangesien opvallende sellulêre kontaminasie voorgekom het;
3. spermembraan isolering d.m.v. 'n sukkrose-interfase tussen 0,75 en 1,05 mol l optimaal blyk te wees. Ses opeenvolgende waarnemings het dieselfde resultate getoon.

Die voordeel van hierdie metode (sukrose-interfase tussen 0,75 en 1,05 mol l) is te vinde in die eenvoudigheid daarvan. Die nadeel is egter dat groot hoeveelhede sperme vir membraansuiwering nodig is.

Die invloed van herhaalde vries- en ontvriesingsiklusse op die biochemiese profiel van follikulêre vog

C. Huyser, F. le R. Fourie en P.F. Levay

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Tydens eksperimente word biologiese monsters gereeld gevries en ontdooi as gevolg van : a) klein volumes beskikbaar, b) 'n monster word vir verskillende projekte benodig en c) koste-effektiwiteit. Die doel van die studie was om die invloed van herhaalde vries-ontvriesingsiklusse op die biochemiese profiel van follikulêre vog te bepaal. Tydens sewe vries-ontvriesingsiklusse van follikulêre vog (FV)-monsters, is die volgende veranderlikes ($n = 25$) ondersoek, nl. minerale profiel, elektroforetiese patroon, totale proteïen-, fibrinogen-, sukkrose-, bilirubien- en cholesterolinhoud, sowel as osmolariteit en geselekteerde ensiem- en hormoonvlakke (testosteroon, FSH, β -choriongonadotropien).

Resultate dui op die volgende:

- * Tot en met die vierde vries-ontvriesingspoging van FV-monsters het die meerderheid van die biochemiese parameters konstante waardes getoon ($p > 0,05$).

Kalsium-, sukkrose-, bilirubien- asook geselekteerde ensiemvlakke (ALP & GGT) het betekenisvol verlaag ($p < 0,01$) gedurende daaropvolgende vries-ontvriesingspogings, maar is moontlik nie klinies betekenisvol nie.

- * Densitometriese skandering van proteïenelektroforetiese fraksies dui daarop dat fibrinogen die enigste fraksie is wat 'n afname van 20% ($p \leq 0,0003$) na vries-ontvriesingsiklus vier getoon het. Aktiewe fibrinogenvlakke het ooreenstemmend met elektroforetiese waarnemings verlaag ($p = 0,031$).
- * Hormonale konsentrasies het konstant gebly tot en met die sesde opeenvolgende vries-ontvriesingsiklus ($p > 0,05$).

Die gebrek aan betekenisvolle veranderings waargeneem tot die vierde vries-ontvriesingsiklus is van waarde vir toekomstige navorsing waar kriobewaring en ontvriesing van monsters genoodsaak word.

Intra-uteriene inseminering: alternatiewe terapie vir manlike infertiliteit

W. Ombelet, H. Vandeput, M. Jansen, A. Cox en E. Bosmans
Sentrum vir Reproduktiewe Medisyne, St. Jansziekenhuis, Genk, België

F. le R. Fourie
Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Hierdie retrospektiewe studie bied 'n samevattende oorsig van resultate na intra-uteriene inseminering (IUI) van pasiënte by die Sentrum van Reproduktiewe Medisyne in Genk, België.

Homoloë kunsmatige inseminering is op 112 subfertiele vroulike pasiënte in 257 behandelingsiklusse toegepas. 'n Totaal van 504 inseminerings is uitgevoer. Hormoonstimulasie is op twee wyses uitgevoer, nl. a) 'n lae dosis klomifeensitraat en b) 'n kombinasie van klomifeensitraat, menslike menopousale gonadotropien en chorioniese gonadotropien. Nadat sperme volgens 'n was-en-opswem-prosedure verkry is, is twee inseminerings op opeenvolgende dae uitgevoer. Analise van spermparameters is uitgevoer volgens riglyne soos deur die Wêreld Gesondheidsorganisasie neergelê, met die uitsondering

van spermmorfologie wat volgens Kruger en Menkveld se streng kriteria ge-evalueer is.

Resultate dui daarop dat 41 swangerskappe na 'n gemiddeld van 1,9 sikkles behaal is. Die totale swangerskapskoers per sikkus was 15,9%. Van al die aspekte wat tydens hierdie studie in ag geneem is, was teratosoöspermie ($\leq 4\%$) en oligosoöspermie (< 5 miljoen/ml) die beste voorspellers van swangerskap. Klomifeensitraat teen 'n lae dosis toegedien, het tot 'n laer swangerskapskoers aanleiding gegee as die gekombineerde stimulasieprotokol (9% vs. 23%). Alle meervoudige swangerskappe het na behandeling met laasgenoemde protokol voorgekom.

Hierdie studie benadruk die waarde van IUI as infertiliteitsbehandeling in geselekteerde gevalle waar matige manlike infertiliteit voorkom.

Die pre-orale stekel en proboscis van *Argulus japonicus* (Crustacea: Branchiura)

E. Lutsch en A. Avenant-Oldewage
Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Aucklandpark 2006

Kort beskrywings van die larwale ontwikkeling van *Argulus japonicus* is deur Nakazawa (1913, in Japannees), Tokioka (1936) en Stammer (1959) aangeteken. Hierdie beskrywings is gebaseer op ligmikroskopiese ondersoeke en hoewel geldig, ontbreek gedetailleerde inligting soos wat deur elektronmikroskopie verkry kan word.

Die doel van hierdie studie was om die oorsprong van die verlengde proboscis gesteun deur chitienstawe wat by *Argulus*, maar nie by verwante genera of hul larwes voorkom nie, te bepaal.

Pasuitgebroeide *A. japonicus*-larwes, asook volwassenes is dus volgens standaardmetodes gefikseer en gepreserveer. Vir skandeerelektronmikrograwe is gefikseerde organismes gehidreer, gevriesdroog, met goud bestuif en toe met 'n ISI SS60 SEM bestudeer. Onderliggende strukture van die proboscis is deur mikrodisseksie ontbloot. Transversale en sagitale serie-sneë van 6 μm dik is met Mallory-Heidenhain's Azan gekleur en m.b.v. 'n Zeiss ligmikroskoop bestudeer en gefotografeer.

Skandeerelektronmikrografie het aan die lig gebring dat 'n pre-orale stekel, soortgelyk aan dié by volwasse

organismes, d.w.s. terugtrekbaar, by pasuitgebroeide larwes voorkom. Hierdie struktuur het verder ook twee apikale openinge, ooreenstemmend met dié van die klierselle by volwassenes. Die mandibels bestaan uit 'n mandibulêre palp en 'n mandibulêre lem wat albei aan die basaalpodomeer vasgeheg is. Tydens hierdie studie is waargeneem dat die basaalpodomeer van larwale mandibels versmelt is met die labrum en metasoom om die kort proboscis te vorm, waarbinne die mandibulêre lemme voorkom.

In volwasse organismes is 'n verlengde proboscis, ondersteun deur chitienagtige stawe, aanwesig. Mandibulêre palpe is afwesig en mandibulêre lemme kom voor in die voorpunt van die proboscis.

Hierdie resultate suggereer dat die verlengde proboscis wat by die volwasse *A. japonicus* voorkom, waarskynlik ontstaan a.g.v. die versmelting van die metasoom en labrum met die mandibelbasis tydens larwale ontwikkeling, en dat die chitienstawe oorblýfsels by die vlak van versmelting van dié strukture is. Die hipoteese word bevestig deur die vorm en posisie van die chitienstawe, die posisie van die orale strukture en die organisasie van die spiere in die volwasse proboscis.

Die weidingskwaliteit van die vernaamste voorkeurspesies van kameelperde op wildplase in die Ellisrasdistrik

R. Vermaak en W. van Hoven

Sentrum vir Natuurlewebestuur, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Die doel van die studie was om die weidingskwaliteit van die vernaamste voedselvoorkeurplantsoorte van kameelperde in twee areas te bepaal en te vergelyk, om sodoende lig te werp op voedingstof- en tannieninhoud as moontlike oorsaak van kameelperdvrektes in die gebied.

Die interpretasie van plant-dier-interaksie soos dit beïnvloed word deur tannien is baie meer kompleks en belangrik as wat besef word. Die meeste eenvoudige korrelasies tussen herbivoorvoedselvoorkeur en plant-chemie vereis 'n groter en intensiever kennis van spesifieke metaboliese effekte van allelochemiese stowwe op diere en spesiespesifieke aanpassings.

Voedselvoorkeur is 'n dinamiese, multifaktoriële proses wat diere se behoeftes en metaboliese moontlikhede integreer, en ontwikkel absolute en relatiewe waardes vir alle voedselitems.

Die twee voorkeurspesies wat met waarneming bepaal en daarna ontleed is, was *Boscia albitrunca* en *Acacia tortilis*.

In die studiegebied het die voorkeurplantsoorte se gekondenseerde tannieninhoud vir nie een van die twee spesies bo 6% gestyg nie. 6% is die gemiddelde minimum waarde waarby blaarvreters blare nog vrywillig sal benut (Van Hoven & Furstenburg, 1992).

Die tannieninhoud het wel oor die paar maande gewissel, maar dit bleik nie 'n invloed te hê op die gesondheidstoestand van die kameelperde nie.

In vergelyking met ander studies is die ruproteïenwaarde in albei areas hoog, veral vir dié spesifieke tyd van die jaar, t.w. April tot Augustus.

Die ruveselinhou bly gedurende die studietyperk relatief konstant, terwyl daar sekere voorkeurspesies is waarvan die persentasie droëmateriaalverteerbaarheid daal. Hierdie daling is nie so betekenisvol dat daar verwag kan word dat dit die diere se gesondheid nadelig sal beïnvloed nie.

Die probleem van kameelperdvrektes in die Ellisrasdistrik is veral op die D'Nyala-natuurreservaat van toepassing, omdat die vrektes daar voorgekom het. Na verskeie ontledings is vasgestel dat die voedingswaarde relatief hoog is, en die tannieninhoud laag. Op die wildplaas is die voedingswaarde ook hoog en die kameelperde se kondisie lyk uitstekend. Daar kan dus aangelei word dat voedingswaarde nie die oorsaak van die probleem is nie.

Die feit dat D'Nyala se kameelperde uit die Oos-Transvalse laeveld kom, terwyl al die ander kameelperde van Otjiwarongo (Namibië) af kom, is insiggewend, aangesien daar alleen op D'Nyala onverklaarbare vrektes voorgekom het. Daar kan dus bespiegel word dat die kameelperde op D'Nyala veel groter aanpassingsprobleme gehad het, wat hulle in die proses 'n weerstandsagerstand teen bosluse en ander parasiete gegee het.

Die voedingsekologie van hervestigde kameelperde in die Kalahari Gemsbok Nasionale Park

J. Kruger en W. van Hoven

Sentrum vir Natuurlewebestuur, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Die hervestiging van kameelperde in die Kalahari Gemsbok Nasionale Park (KGNP) het 'n unieke geleentheid geskep om dié diere se voedingsekologie en aanpassing in 'n vreemde habitat te bestudeer. Die doel van die studie was om die dieëtsamestelling en faktore wat voedselseleksie mag beïnvloed, te ondersoek.

Agt individue, drie manlike en vyf vroulike diere, is in 'n omheinde area van 1 480 hektaar hervestig. Die gebied is sowat 18 km suid-oos van Mata-mata langs die Aoubrivier geleë. Die plantegroei kan oorwegend as 'n *Acacia erioloba*-boomsavanne beskryf word.

Sedert die loslating van die diere is visuele waarnemings oor 'n periode van veertien maande gemaak. Alle tydperke van die dag en seisoene is in die waarnemings ingesluit. Tydens elke waarneming is 'n aantal faktore wat 'n invloed op voedselseleksie kon hê, genoteer. Hierdie

faktore sluit byvoorbeeld die volgende in: plantspesie benut, benuttingstyd, habitat, omgewingsfaktore, plantegroeistruktuur en fenologie. Plantmonsters van die vernaamste vier houtagtige spesies is op 'n agtweeklikse basis versamel, gedroog en later in 'n laboratorium geanalyseer om die voedingswaarde te bepaal in terme van ruproteïeninhoud, ruveselinhou, verteerbaarheid en voginhoud.

Voedselseleksie kan deur verskeie faktore beïnvloed word, byvoorbeeld deur beskikbaarheid van voedselplante, fisiese verdedigingsmeganismes (dorings), voedingswaarde, tannienkonsentrasies en plantegroeistruktuur.

Die kameelperde in die KGNP het twaalf verskillende plantspesies deur die jaar benut. Hiervan was agt houtagtiges en vier in die kruidstratum. Die vier

voorseleplante in volgorde van belangrikheid was *Acacia erioloba*, *Acacia mellifera*, *Acacia haematoxylon* en *Boscia albitrunca*. Hierdie vier spesies het gesamentlik 95% van die totale dieet uitgemaak. Daar was geen seisoenale verandering in die spesiesamestelling van die dieet nie. Daar was wel 'n betekenisvolle verwantskap tussen die fenologie van die plantspesies en die frekwensie van benutting. Die kameelperde het hoofsaaklik blare gevreet, maar ook blomme en vrugte wanneer dit beskikbaar was. Daar was voorts 'n betekenisvolle verwantskap tussen die voorkomsfrekwensie van voedsel-

plante en die benutting daarvan. Geen betekenisvolle korrelasie kon gevind word tussen die voedingswaarde en die benutting van voedselplante nie.

Die beskikbaarheid van voedselplante was die belangrikste faktor wat voedselseleksie beïnvloed het. Hierdie neiging is te verstane in 'n semi-ariede gebied soos die Kalahari met sy lae plantspesiediversiteit. Kameelperde vreet wat beskikbaar is en benut sodoende die beskikbare plantmateriaal optimaal. Die diere se kondisie was deurgaans uitstekend en die aanpassing blyk suksesvol te wees.

Die effek van koper by verskillende temperature op die hematologie van die bloukurper *Oreochromis mossambicus*

G. Nussey en J.H.J. van Vuren

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Aucklandpark 2006

Water is 'n baie belangrike natuurlike hulpbron en tog is die besoedeling daarvan 'n algemene verskynsel. In baie wêrelddele is riviere besoedel met metale soos koper, sink en yster as gevolg van mynbou- en ander geassosieerde aktiwiteite. Koper, 'n noodsaaklike spoorelement, is gewoonlik in lae konsentrasies in natuurlike water teenwoordig, maar is toksies by hoë konsentrasies. Dit is alombekend dat koper 'n vernietigende effek op die kieulamellae van vis het. Metale se vernietigende invloed op akwatiese omgewings is in die vorm van subletale besoedeling. Hierdie tipe besoedeling skep dan ook toestande van chroniese spanning wat 'n negatiewe invloed op akwatiese lewe kan hê. Die doel van hierdie studie was om te bepaal hoe koper as 'n toksiese spoorelement (swaar metaal) die algemene hematologie van die bloukurper beïnvloed.

Die bloukurper, *Oreochromis mossambicus*, is na 'n aanpassingsperiode van drie maande aan laboratoriumtoestande in 'n deurvloeisisteem aan 'n subletale koperkonsentrasie van $0,16 \text{ mg.l}^{-1}$ vir 96 uur blootgestel by somer- ($29 \pm 0,5^\circ\text{C}$) en winter- ($19 \pm 0,5^\circ\text{C}$) temperature. Hierdie temperature is gemiddelde somer- en winterwatertemperature van die Olifantsrivier in die Nasionale Kruger Wildtuin. Kontroles is gelyktydig uitgevoer om sodoende die "normale" te bepaal. Nadat 'n bloedmonster geneem is, is die waardes van 'n aantal hematologiese veranderlikes bepaal deur gebruik te maak van algemeen aanvaarde tegnieke. Tydens statistiese analise is Student se t-toets gebruik om die beduidendheidspel (P) is as $P < 0,05$ geneem.

Gedurende die "somer"-blootstelling ($29 \pm 0,5^\circ\text{C}$) toon die geringe toename van witbloedselle (Wbs) dat die immuunsisteem van die organisme gestimuleer is, hierdie reaksie is om die organisme teen infeksie te beskerm wat voorkom as gevolg van koperbesoedeling. Die geringe toename van rooibloedselle (Rbs) word veroorsaak deur hipoksiese toestande wat waarskynlik die gevolg is van beskadiging van kieulamellae. Volwasse rooibloedselle het

'n groter volume as onvolwasse rooibloedselle, dus toon die afname in gemiddelde korpuskulêre volume (GKV) dat groot hoeveelhede onvolwasse rooibloedselle geproduseer word. Volwasse rooibloedselle gaan verlore as gevolg van hemolise en interne bloeding, hierdie selle word dan vervang deur onvolwasse rooibloedselle wat vanuit die hemopoëtiese weefsel vrygestel word. Die afname in GKV word weerspieël in die afname van gemiddelde selhemoglobienkonsentrasie (GSHK). Die toename in die aantal onvolwasse rooibloedselle in die bloed veroorsaak die afnames in GSHK en GSH (gemiddelde selhemoglobien) omdat onvolwasse rooibloedselle 'n laer hemoglobien(Hb)-konsentrasie as volwasse rooibloedselle het.

Die beduidende toename in witbloedselle ($P < 0,0001$) na die "winter"-blootstelling ($19 \pm 0,5^\circ\text{C}$) duif op verhoogde immunologiese reaksies. Die stimulering van die immuunsisteem is waarskynlik om die organisme teen sekondêre infeksies te beskerm (beskadiging van kieuweefsel). Hierdie infeksie veroorsaak dat hipoksiese toestande ondervind word en die hemopoëtiese weefsel (niere en milt) word dan gestimuleer om meer rooibloedselle vry te stel om vir die suurstoftekort te kompenseer. Kopergeïnduseerde toenames in rooibloedselle, hemoglobien- ($P < 0,0001$) en hematokrit- ($P < 0,0001$) waardes toon dat die organisme probeer oorleef in 'n omgewing waar daar 'n tekort aan suurstof is. 'n Toename in gemiddelde korpuskulêre volume (GKV) is 'n respons teen stres. Die beduidende styging van die gemiddelde selhemoglobien ($P < 0,001$) en geringe toename in die gemiddelde selhemoglobienkonsentrasie toon dat die hemoglobien van blootgestelde vis heelwat hoër is as die hemoglobien van die kontrolevis.

Die interne milieu van 'n akwatiese organisme verander na die blootstelling aan koperkatione. Dus kan hematologiese ontleding dien as 'n vinnige en ekonomiese metode om die toksisiteit van koper en moontlik ook ander metale wat nadeling vir vis kan wees, te bepaal.