

DIE MOONTLIKE VERBAND TUSSEN DIE α -SELLE IN DIE PANKREAS-EILANDWEEFSEL EN DIE CHOLESTEROL-METABOLISME*

A. C. ESTERHUIZEN, *Departement van Fisiologie, Universiteit van Stellenbosch*

Sedert die ontdekkings van Lane¹⁶ en Bensley³ word die aanwesigheid van ten minste twee selsoorte, nl. die α - en die β -selle, in die pankreas-eilandweefsel algemeen aanvaar. Oor die funksie van die β -selle as sodanig, nl. die sekresie van insulien, bestaan daar geen twyfel nie. Die rol van die α -selle in die liggaamshuishouding, asook die funksionele verband tussen die α - en die β -selle is egter nog geen uitgemaakte saak nie.

Die mening dat die α -selle slegs voorlopers van die β -selle is,¹⁰ word deur verskeie navorsers verwerp,^{6,14} sodat hulle gevolglik as onafhanklike morfologiese entiteite aanvaar moet word. Dat hulle ook 'n spesifieke fisiologiese

rol vervul, blyk veral uit die bevindings van Thorogood en Zimmermann.²³ Hierdie navorsers het aangetoon dat daar 'n opmerklieke verskil tussen alloksaan-diabetiese en gepankreatektomeerde proefdiere bestaan. Alloksaan-diabetiese proefdiere het nl. meer insulien nodig om 'n normale bloedsuikerspieël te onderhou as gepankreatektomeerde proefdiere. Word die eksogene insulien egter weerhou, leef die alloksaan-diabetiese proefdier langer as die gepankreatektomeerde proefdier. Deur pankreatektomie op alloksaan-diabetiese proefdiere uit te voer, word hierdie verskil opgehef. Dat 'n verlies van die pankreas-ensieme geen rol in hierdie verband speel nie, blyk uit die werk van Marks en Young,¹⁸ Rodriques-Candela,²⁰ e.a. Die hipotese skyn dus geregverdig dat die α -selle 'n hormoon sekreter

*Lesing gelewer tydens die Jaardag van die Mediese Skool van die Universiteit van Stellenbosch en Karl Bremer-hospitaal, Bellville, 8 - 9 Augustus 1961.

wat in sekere opsigte antagonisties teenoor insulien sou werk.

Baie fisioloë aanvaar die α -selle as bron van 'n hiper-glusemiese-glikogenolitiese faktor (H.G.F.), wat 'n belangrike rol in die koolhidraat-,⁹ sowel as die proteien- en die vet-metabolisme^{5,19} speel. Hierteenoor word die vermeende verband tussen H.G.F. en die α -selle deur Lazarus en sy medewerkers¹⁷ in twyfel getrek — en wel op grond van hul waarnemings dat 'n hiper-glusemiese faktor uit die pankreas geëkstraheer kan word ná vernietiging van die selle met CoCl_2 .

In 1956 vind Caren en Carbo⁴ dat die cholesterol-konsentrasie in die plasma van konyne binne een dag na inspuiting van CoCl_2 aansienlik styg. Volgens hulle moet vernietiging van die α -selle verantwoordelik gehou word vir hierdie verandering in bloedsamestelling. Op grond hiervan postuleer hulle dat die α -selle 'n hormoon (anders as H.G.F.) sekreteer, wat 'n belangrike rol in die cholesterol-metabolisme speel en o.a. die cholesterol-konsentrasie in die sirkulerende bloed reguleer.

Aangesien hierdie moontlike funksie van die α -selle nog nie volledig ontrafel is nie, is proewe ontwerp om vas te stel tot hoe 'n mate die aktiwiteit van die α -selle met die bloedcholesterol-konsentrasie gekorreleer kan word.

MATERIAAL EN TEGNIEK

Vir hierdie ondersoek is gebruik gemaak van albino-rotte van die ras *Rattus norvegicus* — Wistar Instituut, wat in die teelthokke van die Fisiologie-departement van die Universiteit van Stellenbosch geteel is. Die proefdiere is onder gestandaardiseerde lewensomstandighede gehou en hulle diët het bestaan uit 'n rantsoen van gebalanseerde voedingstowwe saamgestel deur die firma 'Nasionale Voedingstowwe'.

Die proefdiere is in 4 groepe verdeel. Groep A het as 'n normale kontrolegroep gedien. Aan die lede van groep B is 25 mg. CoCl_2 per kg. liggaamsgewig intraperitoneaal toegedien. Minstens 6 van die rotte uit hierdie groep is op 20 min., 1 uur, 4½ uur, 1 dag en 3 dae, onderskeidelik, na die CoCl_2 -inspuiting doodgemaak en bloed is onttrek vir cholesterolbepalings. Die rotte in groep C het elk een intraperitoneale inspuiting van alloksaan (dosis: 60 mg. per kg. liggaamsgewig) gekry. Op die vyfde dag na die inspuiting is 8 van die proefdiere doodgemaak en bloed is onttrek. Aan die oorblywende lede is vervolgens 25 mg. CoCl_2 per kg. liggaamsgewig toegedien waarna ook hulle doodgemaak is, soos in die geval van groep B. Groep D het bestaan uit gepankreatektomeerde proefdiere. Pankreatektomie is op rotte, onder pentobarbital-narkose, uitgevoer. Die grootste gedeelte van die klierweefsel is verwyder en slegs dié deel tussen die galbuis, die pilorus en die duodenum is intak gelaat. Tussen 1 tot 3 dae na die operasie, en voordat verdere behandeling op die proefdiere toegepas is, is 7 doodgemaak en bloed is onttrek. Die oorblywende lede van hierdie groep het elk een inspuiting van CoCl_2 (25 mg. per kg. liggaamsgewig) gekry. Twintig minute daarna is 7 van die rotte, en na een uur is 'n verdere 7, doodgemaak en bloed onttrek.

Bloed, vir die cholesterolbepalings, is uit die vena cava inferior onttrek: Die buikholte en borskas van die rot, onder pentobarbital-narkose, is geopen en 'n lang naald

deur die wand van die regteratrium gedruk en in die vena cava afgestoot tot waar dit by die lewervene aansluit. Die nodige hoeveelheid bloed is toe onttrek en onmiddellik met kaliumoksaalaat gemeng.

Die cholesterol is uit die heelbloed geëkstraheer met 'n alkohol-asetonmengsel en daarna gefiltreer. Die totale cholesterol en die vry-cholesterol is vervolgens op gelyke volumes van die helder filtraat bepaal.¹⁵ Lig met golflengte van 560 $m\mu$ is gebruik.

In die statistiese ontleding van die resultate is betekenisvolle verskille bereken teenoor die gangbare waarskynlikheidsgrens van $P = 0.05$.

RESULTATE

Groep A

In hierdie groep is 30 normale nie-vastende rotte van beide geslagte ingesluit. Hulle liggaamsgewigte het gevarieer tussen 98 en 300 G. Die gemiddelde waardes vir die verskillende cholesterolkomponente in die bloed van hierdie diere was 145.6 ± 5.184 , 96.4 ± 5.246 en 49.5 ± 4.255 mg. per 100 ml. heelbloed vir die totale, die vry- en die ester-cholesterol respektiewelik. 'n Statistiese ontleding van die gegewens toon dat die waardes normaal verdeel is en dat daar geen betekenisvolle korrelasie tussen die bloedcholesterol en die liggaamsgewig van die proefdiere bestaan nie.

Groep B

Intraperitoneale inspuiting van CoCl_2 by normale rotte het tot gevolg 'n inisiële verhoging van die totale en die vrycholesterolkonsentrasie in die bloed. Dit het 'n maksimum ná een uur bereik en daarna gedaal tot 'n minimum aan die einde van die eerste dag ná die inspuiting. Die gemiddelde waardes na 3 dae was ietwat hoër as normaal, alhoewel dié verskil nie statisties beduidend is nie. Die invloed van CoCl_2 op die bloedcholesterolkonsentrasie skyn dus 'n difasiese reaksie te wees, bestaande uit 'n primêre hipercholesterolemie, opgevolg deur 'n verbygaande hypocholesterolemie, wat dan geleidelik tot die normale toestand terugkeer (Afb. 1).

Alhoewel die ester-cholesterolkomponent geringe veranderinge na CoCl_2 -inspuiting ondergaan, is sodanige veranderinge nie statisties beduidend nie.

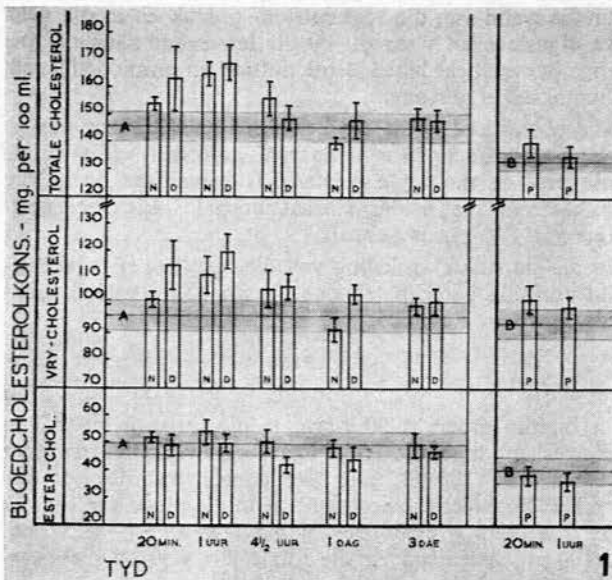
Groep C

In die 8 alloksaan-diabetiese proefdiere was die gemiddelde waardes vir die totale, die vry- en die ester-cholesterolkonsentrasie 147.9 ± 4.821 , 100.0 ± 5.545 en 47.8 ± 5.356 mg. per 100 ml. bloed. Statistiese ontleding toon dat hierdie waardes nie betekenisvol van die normale (groep A) verskil nie.

Na inspuiting van CoCl_2 is, wat die totale cholesterol betref, ook by hierdie diere 'n primêre hipercholesterolemie verkry. Reeds na 4½ uur het die gemiddelde waarde egter nie meer beduidend van die normale verskil nie. Verder is op geen stadium 'n hypocholesterolemie waargeneem nie.

'n Verhoging van die vry-cholesterolkonsentrasie het egter voortgeduur tot die 3e dag na die inspuiting. Hierdie verhoging was op 20 min. en op 1 dag na die inspuiting betekenisvol hoër as by die proefdiere van groep B.

In die proefdiere van groep C is 'n verlaging in die ester-cholesterolkonsentrasie waargeneem. Dit het 4½ uur



Afb. 1. Grafiese voorstelling van die invloed van CoCl_2 -toediening op die bloedcholesterolkonponente by: N — normale proefdiere; D — alloxaan-diabetiese proefdiere; en P — gepankreatektomeerde proefdiere. Die kolomme stel die rekenkundige gemiddeldes van die onderskeie waardes by ten minste 6 proefdiere voor; die vertikale lyne stel $2 \times$ die standaard-afwyking voor. Die skaduwee-dele stel voor die rekenkundige gemiddeldes \pm die standaard-afwyking by: A, normale proefdiere, en B, gepankreatektomeerde proefdiere.

na die CoCl_2 -toediening te voorskyn getree en is tot aan die einde van die eerste dag na die inspuiting volgehou.

Groep D

Die onderskeie cholesterolkonsentrasies in die bloed van 7 gepankreatektomeerde rotte was 133.0 ± 3.25 , 93.3 ± 5.20 en 39.7 ± 4.49 mg. per 100 ml. vir die totale, die vry- en die ester-cholesterol onderskeidelik. Statistiese ontleding toon dat die totale en die ester-cholesterolfraksies beduidend laer as die normale is ($P = .01$), terwyl die vry-cholesterolkonsentrasie nie betekenisvol van die normale verskil nie ($P = .1$).

Inspuiting van CoCl_2 by gepankreatektomeerde rotte het geringe veranderinge in die bloedcholesterolkonponente tot gevolg gehad. So bv. was die totale en die vry-cholesterolkonsentrasies 20 min. na die inspuiting beduidend verhoog, maar slegs in die geval van die vry-cholesterol het die verhoging na een uur nog voortgeduur. Die ester-cholesterolkonsentrasie het geen betekenisvolle skommeling ondergaan nie.

BESPREKING

Hipercholesterolemie is 'n algemene verskynsel in menslike diabetes mellitus. So ook vind Wong en Van Bruggen²⁶ 'n verhoogde serum-cholesterolkonsentrasie in alloxaan-diabetiese, sowel as in gepankreatektomeerde, proefdiere. Hulle waarnemings is gemaak tussen 5 en 7 weke nadat die proefdiere diabeties gemaak is. In die huidige ondersoek is geen hipercholesterolemie by akute diabetes-proefdiere verkry nie. Intendeel, by gepankreatektomeerde rotte was die totale en die ester-cholesterolkonsentrasies in die bloed beduidend laer as die normale, terwyl die vry-cholesterolkonsentrasie nie van die normale verskil het nie. By alloxaan-diabetiese proefdiere het die cholesterol-

fraksies in die bloed nie betekenisvol van die normale verskil nie. Hierdie verskil tussen gepankreatektomeerde en alloxaan-diabetiese rotte sou toegeskryf kon word aan die aanwesigheid van die α -selle, wat in die alloxaan-diabetiese proefdiere intak gelaat is.

Volgens Caren en Carbo⁴ het die α -sel-hormoon wel 'n invloed op die cholesterol-metabolisme en het dit 'n verlagende uitwerking op die cholesterolkonsentrasie in die bloedplasma. Hulle sienswyse berus op die waarneming dat beskadiging van die α -selle in die konynpankreas, met CoCl_2 , na een dag opgevolg word deur 'n verhoging in die plasma-cholesterolkonsentrasie en dat hierdie waarde tot die normale terugkeer sodra regenerasie van die selle plaasgevind het. Ook by hoenders vind Tennent *et al.*²² 'n hipercholesterolemie na intraveneuse inspuiting van CoCl_2 . Of hierdie veranderinge in die bloed-cholesterolkonsentrasie uitsluitlik aan versteurde alfa-sel-funksie toegeskryf moet word, is nie 'n uitgemaakte saak nie.

Van Campenhout en Cornelis²⁴ was die eerste om degranulasie en vakuolisasie in die α -selle van die malmokkiepankreas ná CoCl_2 -toediening te beskryf. Dit is bevestig deur Bencosme en Frei,¹ en ooreenstemmende veranderinge is ook in die α -selle van die konynpankreas deur Fodden,¹¹ Volk, Lazarus en Goldner²⁵ e.a. beskryf. Bencosme, Mariz en Frei² beweer egter dat geen sodanige veranderinge in die eilandweefsel van honde, rotte en konyne na CoCl_2 -toediening optree nie. Volgens Esterhuizen en Lochner⁹ stimuleer CoCl_2 -inspuiting die α -selle van die rotpankreas tot verhoogde vrystelling van hulle sekreet, wat reeds na 10 min. 'n aanvang neem. Volgens hulle vind geen vernietiging van die alfa-selle plaas nie, maar het CoCl_2 eerder 'n sekondêre, beskadigende uitwerking op die β -selle in soverre baie van hierdie selle reeds een dag na die inspuiting nekroties vertoon. In 'n elektron-mikroskopiese ondersoek vind Esterhuizen en Lever³ aanduidings van beta-sel-beskadiging binne $2\frac{1}{2}$ uur na intraveneuse inspuiting van CoCl_2 by malmokkies. Ook by honde het Fodden¹² histologiese afwykinge in die beta-selle, na CoCl_2 -toediening, waargeneem.

Die veranderinge in die bloed-cholesterolkonsentrasie, wat ná CoCl_2 -toediening optree, moet dus gesien word as 'n moontlike gevolg van (1) prikkeling van die α -selle tot verhoogde vrystelling van hulle sekreet en (2) beskadiging van die β -selle, wat as 'n sekondêre verskynsel optree. Die primêre hipercholesterolemie val, wat tyd betref, saam met die histologies-waarneembare fase, wat geïnterpreteer is as 'n aanduiding van die verhoogde vrystelling van die α -sel-sekreet.⁹ Dat 'n verbygaande hipercholesterolemie ook by gepankreatektomeerde rotte optree, moet daaraan toegeskryf word dat sowat 10% van die pankreasweefsel intak gelaat is. Die α -selle in hierdie deel van die pankreas word ook deur die CoCl_2 gestimuleer tot verhoogde vrystelling van hulle sekreet. Die vinnige terugkeer van die hipercholesterolemie tot die inisiële waarde kan gekorreleer word met die geringer hoeveelheid beskikbare hormoon (of voorloper daarvan) in die kleiner aantal α -selle. Die gevolgtrekking skyn dus geregtig dat die hormoon van die α -selle 'n hipercholesterolemiese uitwerking het.

Hierdie sienswyse staan nie alleen lynreg teenoor dié van Caren en Carbo nie, maar bots ook met die bevindings van Salter.²¹ Volgens hom het langdurige toediening van glukagon, wat deur baie as die α -sel-hormoon aanvaar word,

'n verlaging van die bloed-cholesterolkonsentrasie tot gevolg. Dit is egter moontlik dat glukagon nie die egte hormoon van die α -selle is nie, of dat die α -selle in die rot-pankreas, altans, nie glukagon sekreter nie. Vandaar die bevinding⁷ dat hierdie selle nie 'n positiewe reaksie met die na-koppeling-bensilideen-metode van Glenner en Lillie,¹³ wat as spesifiek vir glukagon beskou word, toon nie.

Uit die resultate wil dit verder voorkom dat die α -selhormoon geen invloed op die ester-cholesterolfraksie van die bloed het nie, maar dat insulien wel 'n rol speel in die regulering van die verhouding tussen die vry- en die ester-cholesterolkonsentrasie van die bloed. Die ester-cholesterolkonsentrasie, wat nie deur verhoogde vrystelling van α -selhormoon beïnvloed word nie, was $4\frac{1}{2}$ uur na CoCl_2 -inspuiting betekenisvol laer by alloksaan-diabetiese as by normale proefdiere. Op grond van die relatiewe insulientekort by die diabetiese rotte skyn dit asof insulien noodsaaklik is vir die sintese, of altans instandhouding, van cholesterol-esters.

Wat betref die cholesterol-metabolisme kan 'n biologiese sinergisme dus tussen die hormone van die α - en die β -selle van die pankreas-eilandweefsel gepostuleer word: Die α -selhormoon stimuleer die sintese van cholesterol, terwyl insulien die sintese van vetsure stimuleer. Hierdie vetsure word dan aan die cholesterol gekoppel om esters te vorm.

VERWYSINGS

1. Bencosme, S. A. en Frei, J. (1956): Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), **91**, 589.
2. Bencosme, S. A., Mariz, S. en Frei, J. (1957): Canad. J. Biochem., **35**, 1197.
3. Bensley, R. R. (1911): Amer. J. Anat., **12**, 297.
4. Caren, R. en Carbo, L. (1956): J. Clin. Endocr., **16**, 507.
5. Cavellaro, C. (1953): Rev. Canad. Biol., **12**, 509.
6. Esterhuizen, A. C. (1959): S. Afr. T. Geneesk., **33**, 197.
7. *Idem* (1960): Ongepubliseerd.
8. Esterhuizen, A. C. en Lever, J. D. (1961): J. Endocr. **23**, 243.
9. Esterhuizen, A. C. en Lochner, J. de V. (1961): Annale van die Universiteit van Stellenbosch, **36A**, **4**, 175.
10. Ferner, H. en Stoeckenius, W. (1950): Z. Zellforsch., **35**, 147.
11. Fodden, J. H. (1953): Amer. J. Clin. Path., **23**, 1002.
12. *Idem* (1956): Arch. Path., **61**, 65.
13. Glenner, G. G. en Lillie, R. D. (1957): J. Histochem. Cytochem., **5**, 279.
14. Gomori, G. (1939): Amer. J. Path., **17**, 395.
15. King, E. J. en Wootton, I. D. P. (1956): *Micro-analysis in Medical Biochemistry*, p. 45. Londen: J. & A. Churchill Ltd.
16. Lane, M. A. (1907): Amer. J. Anat., **7**, 409.
17. Lazarus, S. S., Volk, B. W. en Goldner, M. G. (1954): Metabolism, **3**, 449.
18. Marks, H. P. en Young, F. G. (1939): J. Endocr., **1**, 470.
19. Pincus, I. J. en Snedecor, J. G. (1956): Metabolism, **5**, 150.
20. Rodriguez-Candela, J. L. (1952): J. Clin. Endocr., **12**, 245.
21. Salter, J. M. (1959): Fed. Proc., **18**, 134.
22. Tennent, D. M., Mushett, C. W., Kuron, G. W., Ott, W. H. en Siegal, H. (1958): Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), **98**, 474.
23. Thorogood, E. en Zimmermann, B. (1945): Endocrinology, **37**, 191.
24. van Campenhout, E. en Cornelis, G. (1951): C.R. Soc. Biol. (Paris), **145**, 933.
25. Volk, B. W., Lazarus, S. S. en Goldner, M. G. (1953): Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), **82**, 406.
26. Wong, R. K. L. en van Bruggen, J. T. (1960): J. Biol. Chem., **235**, 26.