

NAUČNO DRUŠTVO N. R. BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XII

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 6



SARAJEVO
1959

ALEKSANDAR SABOVLJEV

USTANOVLJAVANJE REAKCIONIH KONSTANTI FOSFORNIH FRAKCIJA*)

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 8-VII 1958 g.)

Ovo saopštenje je neposredni nastavak publikacije, koja je pod istim naslovom štampana u ACTA Naučnog društva NR Bosne i Hercegovine, br. IX-5-1958 (5). Prvo saopštenje obuhvata samo deskripciju i osnovnu sistematizaciju sirovog činjeničnog materijala, ustanovljenog eksperimentalnim putem (merenjem radioaktivnosti markiranog fosfora i kvantitativnom hemijskom analizom običnog-prirodnog fosfora). U ovom (II-om) i u trećem delu učinjen je pokušaj da se sirovi eksperimentalni materijal iz prvog dela sredi i pripremi po takvim principima i pravilima, da dobije pogodne izraze i vrednosti, koje mogu poslužiti kao osnova za sagledavanje i rekonstrukciju reakcionog poretka (čiji je tok prekinut u trenutku uzimanja materijala za analizu). Naše su analize od početka bile tako zamišljene i postavljene, da mogu otkriti pokazatelje reakcionog poretka, u koliko u samom metabolizmu objektivno postoje.

Problemاتيke drugog i trećeg dela biće saopštene kao posebne publikacije. Ovo je učinjeno najpre iz razloga, što je prvi deo preopterećen deskripcijom i sistematizacijom sirovog činjeničnog materijala iz četiri grupe analiza metabolizma fosfora u pacovima. Drugi, važniji razlog za izdvajanje II i III dela u posebne publikacije vezan je za suštinsku stranu problema koji se u njima obrađuju. U drugom delu biće prikazani metodi kojima smo izračunali reakcione konstante, zatim konkretan rad na izračunavanju, kao i rezultati tih računa. Prvo poglavlje II dela posvećeno je metodama i tehnici izračunavanja veličine transporta za sve frakcije, dok će u drugom poglavlju biti ustanovljene specifične brzine sinteza i specifične brzine razlaganja fosfornih frakcija INTRA VITAM u jetri pacova. Međutim ni za prvi ni za drugi zadatak nismo imali teorijski ni praktično rešene osnove niti gotov metod rada.

Za specifične brzine sinteza i razlaganja predložili smo u jednom ranijem saopštenju (6) principijelni metod i formulisane jednačine za izračunavanje specifičnih brzina u živom organizmu (za njegove lančaste nizove metabolizma). Međutim tamo se izračunavanje zasniva na poda-

*) Ispitivanje metabolizma fosfora u jetri pacova pomoću radiofosfora. II — deo.

cima o veličinama transporta hemijskih radikala u lančastom sistemu metabolizma (naše analize imale su zadatak da prate transport fosforne kiseline). Kako u literaturi nismo našli nikakve informacije o principima utvrđivanja transporta u lancima metabolizma, niti jednačine za izračunavanje specifičnih brzina sinteza i razlaganja, morali smo tome pitanju sami posvetiti mnogo vremena i veliki trud. Iako smo u ranijoj publikaciji predložili jednačine za specifične brzine, tamo ih u praksi nismo bili proverili. Prema tome u ovom radu trebalo je najpre praktično proveriti te jednačine. Ujedno smo morali naći i metod za utvrđivanje veličina transporta fosfora, pošto to nismo učinili ni u I delu ove publikacije niti u ranijem saopštenju o specifičnim brzinama u lancu (6). U celosti smo se kretali u glavnom na prilično nepoznatom terenu i izlagali se da zalutamo ili da učinimo manje ili veće greške. Da bismo izbegli teže omaške konsultovali smo pre publikacije veći broj hemičara, biohemičara, fizikohemičara i fiziologa. Tek posle kritike i ohrabrenja, rešili smo da celu stvar objavimo. To isto važi i za treći deo u kome smo pokušali da izvršimo rekonstrukciju reakcionog poretka metabolizma fosfora u jetri pacova (prekinutog u raznim fazama uključivanja radiofosfora u njega). Zahvaljujemo svim dobronamernim kritičarima na trudu i pažnji koju su posvetili čitanju rukopisa, kao i na davanju saveta.

Prema tome u ovom nastavku (II delu) publikacije biće raspravljeno samo pitanje reakcionih konstanti (za sve frakcije jetrih fosforovih jedinjenja) upotrebom eksperimentalnih rezultata iz I dela. U uslovima ravnoteže, u reakcione konstante (pored specifičnih brzina za sinteze i za razlaganja) treba takođe uračunati i veličinu transporta u lančastom sistemu metabolizma, kao i vreme potrebno za obnavljanje fosfora frakcije. Najzad i sama koncentracija u lančastom sistemu biva neprekidno iznova formirana i rasturana, te i njena veličina u uslovima ravnoteže lanca (i to samo tada!) ima vrednost reakcione konstante. Od svih pomenutih reakcionih konstanti, I deo nam je izneo u gotovom obliku jedino konstantu koncentracije za sve frakcije (kako u apsolutnim, tako i u procentnim veličinama). Da i koncentracije treba ubrajati u reakcione »konstante«, vidi se iz činjenica da između koncentracija raznih frakcija bivaju uspostavljene stalne proporcije (ne samo u obema vrstama našeg fosfora, već i u Sachs-ovim analizama za obični — prirodni — neradioaktivni fosfor ustanovljene su identične proporcije među organskim frakcijama). Prema tome predstoji nam da u II delu nepoznate vrednosti za reakcione konstante izračunamo iz eksperimentalnih činjenica I dela. Kao rukovodstvo za tehniku računanja upotrebićemo delimično i jednačine koje je autor II dela razradio u pomenutom ranijem radu, primenivši klasične jednačine Guldberg-Waage-ovog zakona o delovanju aktivnih masa na sistem ireverzibilnih lančastih procesa metabolizma (6). Kako se iz jednačina u tom radu može razaznati, specifična brzina sinteze ravna je recipročnoj vrednosti transporta frakcije, dok se specifična brzina razlaganja dobija ako se količina transporta podeli koncentracijom frakcije. Međutim u pomenutom radu ne nalaze se opisi gotovih metoda za izračunavanje veličina transporta, mada se u jednačinama nalaze i elementi koji za određene slučajeve mogu poslužiti kao polazna tačka za formulisanje metoda za

utvrđivanje transporta. Kako su procentne veličine koncentracija frakcija skoro istovetne sa procentima maksimalnog zasićenja radiofosforom (pod uslovom da su obe vrste iskazane u procentima neorganske frakcije; — uporedi tablicu br. 3 sa tablicom br. 4 u I delu ovog rada), zaključili smo da je radiofosfor u periodu ravnoteže transporta ravnomerno raspoređen u frakcijama tj. proporcionalno količini običnog fosfora u njima. To znači da i radiofosfor ima svoju »stacionarnu koncentraciju«. Prema tome, u stadijumu punog zasićenja, specifična aktivnost fosfora svih frakcija bila je podjednaka. Međutim da se u metabolizmu uspostave konstantne proporcije između radiofosfora različitih frakcija, kao i između radioaktivnog i običnog fosfora (tj. da i radiofosfor »stvori« svoju »koncentraciju« u istoj frakciji) potrebno je izvesno vreme. Pre toga vremena obični fosfor frakcije nije maksimalno, tj. do konstantne proporcionalnosti zasićen radiofosforom. Stepem zasićenja radiofosfora u svim frakcijama postepeno raste tokom vremena, dok njegova proporcija prema običnom ne dostigne vrednost koja je zajednička za sve frakcije. Iz veličine kojom se zasićenje radiofosfora u običnom fosforu povećava u jedinici vremena moguće je izračunati kako količinu obnavljanja frakcije, tako i vreme trajanja obnavljanja. Procenat porasta radioaktivnog zasićenja u jedinici vremena identičan je sa procentom obnavljanja frakcije, a obe veličine identične su sa procentom transporta. Prema tome bitno je utvrditi jednu od ovih triju veličina. Time automatski postaju poznate i one druge dve. Iz njih je lako izračunati vreme obnavljanja. I obratno iz vremena obnavljanja lako je izračunati te tri veličine za pojedine frakcije.

Najpre ćemo prikazati izvorne podatke i metode, a zatim rezultate tog obračuna. Kada budemo raspolagali podacima o veličinama transporta za svaku frakciju, biće nam omogućeno da, korišćenjem naših formula br. 24 i br. 25 iz pomenutog rada (6), izračunamo specifičnu brzinu sinteze i specifičnu brzinu razlaganja za svaku frakciju fosfornih jedinjenja u jetri pacova tokom normalnog metabolizma. Koliko nam je poznato, ovo je prvi pokušaj takvog izračunavanja u normalnom metabolizmu IN VIVO.

1) Utvrđivanje količine transporta u jedinici vremena

U načelu koristili smo tri različite tehnike za izračunavanje količine transporta. Izbor tehnike bio je uslovljen vrstom izvornih podataka, koji su nam stajali na raspoloženju za proračun. Prva metoda zasnovana je na upotrebi porasta veličine procentne radioaktivnosti u frakcijama do perioda punog zasićenja frakcija radiofosforom (tj. do ravnoteže transporta radiofosfora). Druga metoda zasnovana je na izračunavanju transporta iz vremena obnavljanja frakcija (a upotrebljuje se kada su nepoznati podaci o porastu radioaktivnosti). Treća metoda zasnovana je na upotrebi modifikovanih jednačina zakona o delovanju aktivnih masa, pri čemu se iz koncentracija reagujućih masa izračunava veličina transporta (dakle u ovom slučaju ne mora biti poznata radioaktivnost supstancije koja se transportuje).

Prvu metodu primenili smo na četiri frakcije (adenilnu kiselinu, kofermente, nukleoproteide i fosfolipoidne), za koje smo u I delu ovog

rada raspolagali sopstvenim rezultatima, pogodnim za ovo obračunavanje. Druga metoda primenjena je na tri frakcije (neorganski fosfor, labilni i stabilni fosfor iz ATP-a), za koje nismo imali sopstvene nalaze o njihovoj radioaktivnosti u periodu uspona, ali u literaturi smo našli samo vremenske podatke o obnavljanju fosfora u ovim frakcijama. Najzad za grupu šećernih frakcija nismo raspolagali sopstvenim podacima (niti smo ih našli u literaturi) za primenu ni jedne od prvih dveju metoda (tj. nismo znali ni vremena obnavljanja niti veličine porasta radioaktivnosti). Primenili smo stoga treću metodu za koju je trebalo raspolagati s jedne strane podacima o veličini koncentracije za obični neorganski fosfor, a s druge za šećer u jetri pacova. Koncentracije fosfora bile su ustanovljene kako u našim, tako i Sachs-ovim, odnosno u Hevesy-evim podacima, dok smo koncentraciju glukoze procenili iz drugih izvora u literaturi.

a) Utvrđivanje količine transporta fosfora iz procentnog porasta radioaktivnosti moguće je u svim slučajevima, gde je radioaktivnost izmerena u više vremenskih razmaka vrlo brzo posle unošenja radiofosfora u organizam. Iz rezultata u I delu ovog rada vidi se da su naša najranija merenja izvršena posle 2 sata nakon unošenja radiofosfora u organizme pacova. Ako se radiofosfor u životinju unosi jednokratno, apsolutne veličine radioaktivnosti u periodu porasta aktiviteta ne omogućuju neposredno izračunavanje količine transporta. Međutim ako se veličine porasta iskažu u procentima radioaktiviteta neorganske frakcije za svaki period vremena u kome su merenja izvršena, tada je izračunavanje transporta izvodljivo. Principijelno bi bilo moguće izračunavati transport i neposredno iz apsolutnih veličina radioaktiviteta, ako bi se putem kontinuiranog unošenja malih doza radiofosfora aktivitet neorganske frakcije održavao na stalnom nivou. Kod jednokratnog unošenja, konstantni nivo neorganske frakcije postiže se samo računskim putem, time što ga u svim obračunima, za pojedina eksperimentalna vremena, tretiramo kao 100-procentnu vrednost a ostale frakcije za isto eksperimentalno vreme preračunamo u procentima prema stoprocentnoj osnovi neorganskog fosfora. Za izračunavanje transporta upotrebili smo procentne veličine radioaktivnosti iz tablice br. 4 iz I dela ove publikacije, gde su iskazane posebno za svaku frakciju i za sva eksperimentalna vremena. U poslednjoj koloni (četnaestoj) te tablice nalaze se i srednje vrednosti utvrđene iz podataka za sva vremena u stadijumu punog zasićenja radioaktivnosti. Vidi se da frakcije nukleoprteida i fosfolipoida tokom prvih pet eksperimentalnih vremena, tj. do 48 h, postepeno povećavaju radioaktivnost do maksimalnog zasićenja, tj. do procenta proseka. Radioaktivnost adenilne kiseline i kofermenata dospevaju do procenta prosečnih veličina već tokom prva dva eksperimentalna vremena (4 h). Ostale frakcije dostižu već u našem prvom eksperimentalnom periodu (tj. posle 2 h) prosečni procentni radioaktivitet. Za naše računanje naročito su pogodne one dve frakcije (tj. nukleoproteidi i fosfolipoidi) za koje u periodu porasta imamo pet skokova veličina radioaktiviteta, što omogućuje da se svih pet raznih vremena upotrebe za izračunavanje srednjeg porasta u jedinici vremena (unašim eksperimentima to je 2 h).

U tablici br. 1 — red b — procentne veličine radioaktiviteta frakcija nukleoproteida i fosfolipoida rasporedene su prema vremenima

njihovog merenja u pet uzastopnih kolona. U sedmoj koloni iskazan je zbir radioaktiviteta iz tih pet perioda, dok se u koloni 8 nalazi zbir samih vremena u kojima su merenja izvršena. U koloni 9 iznete su prosečne veličine porasta radioaktivnosti u jedinici vremena (tj. za 2 h). Najzad u koloni 10 date su i veličine transporta u jedinici vremena. Za svako vreme merenja naknadno je izračunato kolika bi morala biti radioaktivnost, kada bi porast tekao tačno onako, kako odgovara umnošku vremena merenja sa prosečnim aktivitetom za jedinicu vremena. Ove su cifre (za svaku frakciju i svako vreme) ispisane iznad stvarno nadene procentne veličine radioaktivnosti za to vreme (pogledaj red a — tabl. 1). Odmah se vidi da izračunati aktivitet za pojedino vreme većinom nije previše udaljen od eksperimentalno utvrđenog (tj. spada u veličine istog reda). Ceo ovaj račun pokazuje da je procentni porast radioaktiviteta linearno proporcionalan vremenu proteklom od trenutka unošenja do momenta u kome nastaje potpuno zasićenje frakcije radiofosforom. U celini uzev odstupanja nisu suviše velika. Tako na pr. kod nukleoproteida vrednost nadena za 2 h veća je za 14,5%, od izračunate, dok je za 4 h veća za 16,0%. Nešto je veći višak za 6 h 26%. Vrednost izračunata za 24 h premašuje izmerenu za svega 8,5%. Kod fosfolipoida nadena i izračunata vrednost za vreme od 2 h razlikuje se svega za 0,98%, tj. za toliko je veća izračunata vrednost. Za vreme od 4 h veća je izmerena vrednost, i to za 14%. I za 6 h veća je izmerena vrednost i to za 25%, dok premašaj izmerene vrednosti nad izračunatom za vreme od 12 h iznosi 28,5%. Najzad u vremenu od 24 h izračunata vrednost prevazilazi nadenu za 25% (vidi tablicu br. 1).

Iz tablice se vidi da prosečni porast procentnog aktiviteta fosfora u nukleoproteidima za 1 h iznosi 8,04, dok u jedinici vremena (prema našim eksperimentima = 2 h) iznosi 16,08. Procenat porasta radioaktiviteta u fosforu fosfolipoida u jednom satu iznosi 14,4, dok u našoj jedinici vremena (2 h) iznosi 28,8.

Kako tablica br. 4 (5) (iz I dela publikacije) sadrži i prosečnu veličinu radioaktivnosti za frakciju nukleoproteida i za frakciju fosfolipoida za vremenski period posle 48 h (što odgovara periodu potpune zasićenosti frakcije radiofosforom), moguće je ovu vrednost podeliti prosečnom veličinom procentnog porasta za 1 h. Dobivena cifra neposredno označava vreme obnavljanja fosfora frakcije (odnosno vreme potrebno za potpuno zasićenje frakcije radiofosforom). Pošto nukleoproteidi u periodu ravnoteže svoje radioaktivne zasićenosti imaju 249,5% aktivnosti (u odnosu na 100% radioaktivnosti neorganskog fosfora), vreme obnavljanja će im iznositi $= 249,5 : 8,04 = 31,05$ h. Za frakciju fosfolipoida vreme obnavljanja biće $= 305 : 14,4 = 21,2$ h.

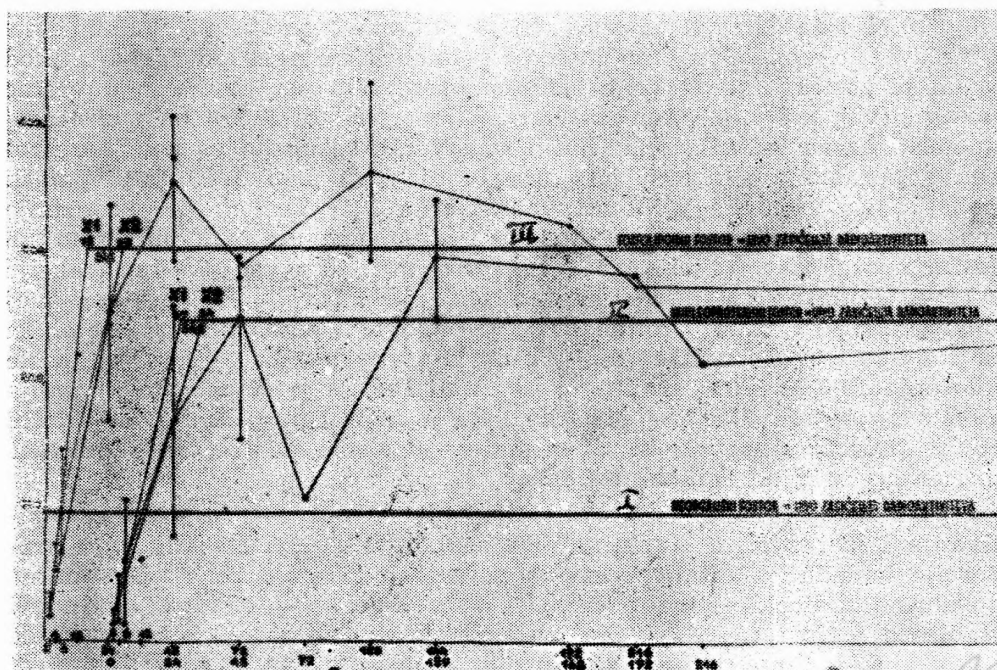
S obzirom na utvrđenu činjenicu da se radiofosfor ugrađuje u sve frakcije u istoj proporciji kao i obični fosfor, moramo zaključiti da se obični fosfor unosi u ćelije (odnosno i da ulazi u hemijske reakcije) istim procentnim brzinama kao i radiofosfor. Prema tome mora i vreme obnavljanja čitave koncentracije običnog fosfora trajati toliko koliko je potrebno radiofosforu da dostigne stepen punog zasićenja. S druge strane i obnavljanje običnog fosfora i zasićavanje radiofosfora vrši se dovodenjem novih količina tih vrsta u frakcije putem transporta. Stoga se količina transporta u svakoj frakciji identifikuje sa količinom obnav-

ljanja običnog fosfora u njoj, odnosno sa količinom zasićavanja radio-fosfora, pod uslovom da se sve tri vrednosti iskažu u procentnim veličinama u jedinici vremena.

Tablica br. 1

Vreme u kome je izmerena radio- aktivnost		2 h	4 h	6 h	12 h	24 h	Zbirni akti- vitet iz svih vremena	Zbir vremena	Prosečni pro- centat porasta za 2 h	Transport za 2 h
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10
Procentne veličine aktiviteta	Nukleoproteidi	Izračunato iz proseka	16,2	32,16	48,24	96,4	193,—			a
		Za celo vreme	18,5	39,5	61,2	170,4	289,6	36	16,08	b
		Nadeno za 2 h	18,5	18,75	20,4	14,2				c
	Fosfolipoidi	Izračunato iz proseka	28,8	57,6	86,—	172,8	346,—			a
		Za celo vreme	28,3	65,6	108,—	222,—	258,—	681,9	48	28,8
		Nadeno za 2 h	28,3	32,8	36,—	37,—	21,5			c

Iz izvornih podataka za tablicu br. 1 moguće je i neposredno ustanoviti vreme zasićavanja frakcije, bez prethodnog izračunavanja prosečnog porasta procentne aktivnosti, ako se ti podaci upotrebe za izradu grafikonu porasta radioaktivnosti. Dok su u I delu svi grafikoni sastavljeni iz apsolutnih veličina radioaktivnosti, ovaj ima kao osnovu procentne vrednosti radioaktivnosti iz perioda njihovog porasta. U grafikonu br. 1 pokazano je da, ako u koordinatni sistem za svako vreme ucrtamo sve veličine procentne radioaktivnosti toga vremena (posebno za svaku seriju eksperimenata) kao i srednju veličinu za to vreme možemo načiniti krivulju uspona na 2 načina. Ili možemo krivulju povući od srednje vrednosti za prvo eksperimentalno vreme do srednje vrednosti za sledeće vreme, itd., ili ćemo postupiti tako da iz srednje veličine procentne radioaktivnosti za prvo vreme merenja (2 h) povučemo dve ekstremno divergentne prave linije spajajući srednje vrednosti najviše udaljene od proseka (nezavisno od vremena njihova merenja) i produžimo do nivoa prosečnog aktiviteta. Tada će se na nivou prosečnog aktiviteta potpune zasićenosti (249,5% za nukleoproteide i 305% za fosfolipoidne) dobiti ukrštanje dveju divergentnih ushodnih linija porasta sa horizontalnom linijom zasićenja u dva različita vremena (X_1 i X_2). Sredina između tih dveju tačaka odgovara skoro potpuno vremenu trajanja obnavljanja, izračunatom aritmetičkim putem (tj. sabiranjem radioaktivnosti iz svih vremena uspona i deobom te sume sa zbirom samih vremena merenja). Ako se procenat maksimalnog zasićenja podeli sa tim vremenom dobija se vrednost prosečnog procentnog porasta, koji se veoma dobro slaže sa prosekom iz tablice br. 1.



Grafikon br. 1

Prema tome u slučaju da raspolažemo sa većim brojem podataka o vrednosti radioaktiviteta iz perioda njegovog porasta, postoje podjednake mogućnosti za upotrebu koje bilo od dveju opisanih tehnika. Međutim ako je iz perioda uspona vrednost radioaktivnosti poznata samo za jedno vreme, moguće je koristiti samo tu jedinu veličinu pod pretpostavkom da nije previše udaljena od srednje aritmetičke vrednosti porasta za to vreme. Ako se radioaktivnost nađena samo za jedno vreme podeli sa svojim vremenom, dobićemo približnu veličinu porasta za 1 h. Ako zatim sa tom veličinom podelimo procentu radioaktivnost iz perioda zasićenosti (ravnoteže), dobivena cifra neposredno pokazuje vreme potrebno za potpuno zasićenje frakcije radiofosforom, odnosno za potpuno obnavljanje običnog fosfora u frakciji. Svakako da je verodostojnost dužine vremena obnavljanja određenog iz podataka samo za jedno vreme (prema propisima statističkog računa) manja od vrednosti dobivene iz većeg broja merenja u više vremena tokom perioda uspona. Isto tako vrednost ima veću verovatnoću ako se utvrdi upotrebom obih opisanih tehnika.

Za frakcije adenilne kiseline i kofermenata raspolagali smo samo sa po dve vrednosti radioaktivnosti iz perioda pre zasićenja. Iz njih smo izračunali da procenat porasta radioaktivnosti za adenilnu kiselinu za period od 2 h iznosi 70,5%, dok za kofermente on iznosi 53,8% od proseka radioaktivnosti iz perioda zasićenosti. Ove cifre ujedno označavaju i veličine transporta u jedinici vremena za te frakcije. Iz ovih podataka izračunali smo da vreme obnavljanja fosfora u frakciji adenilne kiseline iznosi 170 minuta, dok je ono u kofermentima 223 minuta.

b) Utvrđivanje veličine transporta iz vremena obnavljanja. Ovu smo metodu primenili za neke od frakcija, kod kojih je zasićavanje frakcije radiofosforom bilo već završeno u vreme našeg prvog merenja radioaktivnosti njenog fosfora. Bili smo u nemoćnosti da za te frakcije iz naših sopstvenih rezultata ustanovimo procenat porasta u aktivnoj fazi zasićavanja, ali smo u literaturi našli podatke za vremena njihovih obnavljanja, ili vremena za postizanje maksimuma apsolutne radioaktivnosti. Ovu metodu primenili smo na fosfor neorganske frakcije, kao i na fosfor iz labilne i iz stabilne frakcije ATP-a. Podatak za fosfor labilne frakcije našli smo u Hevesy-ovoj monografiji o »primeni radioizotopa u biologiji i medicini«, gde se citira iz Rapoport-ovih analiza (4). Prema Rapoport-u za 30 minuta posle unošenja radiofosfora, labilni fosfor u ATP-u (u jetri pacova) obnavlja 70% svog sadržaja. Iz tog podatka lako je proračunati da se ceo labilni fosfor frakcije obnavlja za 43 minuta, s obzirom na linearnost porasta procentne veličine radioaktiviteta.

Od druge grupe podataka, koje Hevesy citira iz sopstvenih ispitivanja i iz rezultata Kaplan-a i Greenberg-a (1,2) iskoristili smo proporcije između pojedinih vremena potrebnih za postizanje maksimuma apsolutne radioaktivnosti u frakcijama neorganskog fosfora, labilnog i stabilnog fosfora u ATP-u. Prema našim rezultatima za nukleoproteide i fosfolipoide, maksimumi apsolutnih veličina njihovih radioaktivnosti postižu se u sličnim proporcijama u kojima se postižu i zasićenja frakcija, mada iznosi vremena zasićenja i maksimuma nisu sasvim identični. Stoga smo smatrali da možemo koristiti jedino proporcije tih vremenskih razmaka, da bismo iz njih izračunavali nepoznata vremena obnavljanja (prema faktičnim vremenima obnavljanja kod frakcija kod kojih je to već poznato). Kako smo za labilni P iz ATP-a već ranije utvrdili vreme potpunog obnavljanja (iz analiza Rappoporta), upotrebili smo samo proporcije vremena za postizanje maksimuma, prenevi ih na vremena zasićenja i uzevši vreme labilnog fosfora kao poznatu vrednost. Vreme obnavljanja za one druge dve frakcije izračunali smo iz vremena za labilni ATP, a prema proporciji za vremena njihovih maksimuma. — Na osnovu ovakvog računa, našli smo da bi neorganska frakcija imala vreme obnavljanja u trajanju od 25,2 minuta, a stabilni fosfor 52 minuta (vremena postizanja maksimuma u Hevesy-a jesu: za neorganski fosfor = 90 minuta, za labilni ATP = 160 minuta, a za stabilni fosfor oko 195 minuta; prema tome možemo uzeti da su proporcije za obnavljanja $90 : 160 : 195 = 1 : 1,775 : 2,17$ (1).

Iz tako izračunatih vremena obnavljanja, dalje smo (po već ranije opisanom postupku) izračunali da u jedinici vremena (tj. u 2 h) transport fosfora neorganske frakcije iznosi 470% od količine fosfora u celoj frakciji, za labilni fosfor ATP-a transport je = 279% od fosfora cele frakcije, dok u stabilnom veličina transporta iznosi 232% od fosfora cele frakcije (sve računato za period od 2 h).

c) Utvrđivanje veličine transporta iz koncentracije običnog fosfora i koncentracije šećera, kao reagujućih masa. — Za izračunavanje transporta fosfora

u frakcijama šećerne grupe koristili smo jednačine br. 4/a i 4/b iz našeg ranijeg rada (citiranog pod br. 6). U originalu pomenuta jednačina glasi:

$$1) \quad S_{AO} = K_{AO}^S \cdot C_O \cdot C_A = ApO = R_{AO} = K_{AO}^R \cdot C_{AO}$$

Simboli u gornjoj jednačini imaju sledeća značenja:

S_{AO} = ostvarena brzina sinteze u periodu ravnoteže

R_{AO} = ostvarena brzina razlaganja u periodu ravnoteže

K_{AO}^S = specifična brzina sinteze supstancije AO

K_{AO}^R = specifična brzina razlaganja supstancije AO

C_A = koncentracija reagujuće supstance A

C_O = koncentracija reagujuće supstancije O

ApO = apsolutna količina transporta supstance O u jedinici vremena.

Gornja jednačina može biti formulisana i u kraćem obliku:

$$2) \quad K_{AO}^S \cdot C_O \cdot C_A = K_{AO}^R \cdot C_{AO}$$

Kako su u pomenutom radu (6) specifične brzine (K^S i K^R) definisane pomoću količine transporta (na pr. specifična brzina sinteze), odnosno istovremenom upotrebom transporta i koncentracije frakcije (na pr. specifična brzina razlaganja), moguće je u gornjoj jednačini simbole za specifične brzine zameniti njihovim stvarnim vrednostima. Tada će jednačina br. 2 dobiti redakciju kakvu ima pod br. 3.:

$$3) \quad \frac{1}{ApO} \cdot C_O \cdot C_A = \frac{ApO}{C_{AO}} \cdot C_{AO}$$

S obzirom da se u desnoj polovini jednačine ista veličina (C_{AO}) pojavljuje i u brojitelju i u imenitelju, može se skraćivanjem eliminisati. U tom slučaju jednačina će dobiti novu formulaciju:

$$4) \quad \frac{1}{ApO} \cdot C_O \cdot C_A = ApO$$

Ako zajedničku veličinu (ApO), koja se nalazi sa obe strane jednačine, prebacimo na desnu stranu, nastaje uprošćena formula jednačine:

$$5) \quad C_O \cdot C_A = (ApO)^2$$

Iz toga možemo izvući definitivnu formulaciju jednačine, koja glasi:

$$6) \quad ApO = \sqrt{C_O \cdot C_A}$$

Dakle transportna veličina se može izračunati i bez poznavanja radioaktivnosti, ako se reagujuće supstancije nalaze na čelu metabolič-

nog lanca. Tada je transport ravan kvadratnom korenu iz proizvoda koncentracija reagujućih supstancija, pod uslovom da te supstancije postoje u slobodnom stanju i poseduju definisane koncentracije.

S obzirom na našu pretpostavku da se glukoza verovatno nalazi na čelu lanca prenošenja fosfora preko niza organskih supstancija u jetri pacova, moguće je gornju formulu (br. 6) upotrebiti za izračunavanje količine fosfora koji se prenosi preko grupe šećera. Time još ništa nije rečeno o mehanizmu, o putu i o redosledu prenošenja. Međutim Hevesy-evi eksperimenti su neosporno utvrdili da šećer diriguje količinom vezivanja fosfora za razne organske spojeve u jetri. Prema tome njegova koncentracija i koncentracija neorganskog fosfora u jetri jesu opredeljujuće supstancije za veličinu transporta fosfora. Ova je jednačina neupotrebljiva za sledeće članove lanca (kojima šećer dalje predaje svoj fosfor), jer one nemaju prilike da reaguju sa supstancijama u slobodnom stanju sa definisanim koncentracijama. Kod njih se veličina transporta može utvrđivati isključivo iz veličine porasta radioaktivnosti u periodu njegovog uspona. Naprotiv za šećernu grupu moguće je primeniti obe metode, te će biti veoma korisno da u sledećim eksperimentima ovu činjenicu i eksperimentalno proverimo i uporednim merenjem porasta radioaktivnosti.

Koncentraciju fosfora utvrdili smo u našim eksperimentima kolo-
rimetrijskim putem (vidi tablicu br. 4 I dela ove publikacije). Međutim u vremenu vršenja analize fosfora nije nam bilo poznato da će nam i koncentracija glukoze biti potrebna, te je nismo ni određivali. Stoga smo prisiljeni da na drugi način pokušamo opredeliti verovatnu koncentraciju. Stvar je otežana time što ni Hevesy, niti J. Sachs, nisu vršili analize šećera u jetri prilikom proučavanja fosfora, te ni oni nemaju takve rezultate. Međutim Hevesy je dao jedan dragocen podatak, koji nam omogućuje da orijentaciono proračunamo verovatne koncentracije šećera koje su morale postojati kod raznih koncentracija fosfora u jetri. Kao što smo već više puta ponovili, Hevesy je ustanovio da kod obilne količine šećera u hrani pacova, opada količina neorganskog, a raste količina organskog fosfora u njihovoj jetri, i obratno. Trebalo bi dakle ustanoviti maksimalne koncentracije šećera pri njegovom izobilju u hrani kao i kada ga nema u hrani.

Podatke za procenjivanje maksimuma i minimuma koncentracija šećera u jetri pacova uzeli smo iz nalaza Magnus-Levy-a (3), koje je autor izneo u Handbuch d. Biochemie, Bd. 8. — str. 349 (redaktor C. Oppenheimer). Autor je izradio skalu opadanja koncentracije glukoze u krvi pojedinih organa prema sledećem gradijentu: kod obilne ishrane šećera najveća koncentracija mu se nalazi u crevnim venama: zatim je koncentracija šećera nešto manja u krvi portalne vene, posle čega sledi krv jetrine vene, a odmah za njom krv iz donje šuplje vene. Sledeća po veličini koncentracija glukoze nalazi se u krvi počev od pluća, preko arterija do telesnih kapilara. Najmanja koncentracija šećera uvek se nalazi u krvi perifernih vena. Pri gladovanju, kao i pri ishrani bez šećera, stvar se menja u toliko što se u portalnom sistemu koncentracija izjednačuje sa veličinom u arterijama ili u perifernim venama. Najveći nivo koncentracija tada nalazimo u samoj jetri, jer ona služi kao rezervoar iz koga šećer ubacuje u krvnu cirkulaciju prema gradijentu koncen-

tracije. Maksimum u portalnoj veni prema Magnus-Levy-u pri obilnoj ishrani šećerom može znatno preći preko 0,3 mg⁰%, što znači da će u samoj jetri biti oko 0,3 mg⁰%. Kako se u perifernim venama koncentracija šećera može smanjiti (u periodu gladovanja, ili kod hrane bez šećera) do 0,08 mg⁰%, to i u jetri možemo dostići vrednost 0,1 mg⁰%.

Ako ove ekstreme koncentracija za glukozu dovedemo u vezu sa ekstremima oscilacije fosfora u jetri kod različite ishrane, možemo pretpostaviti da su kod obilne ishrane šećerom, Hevesy-evi pacovi morali imati oko 0,3 mg⁰% slobodne glukoze, dok im je koncentracija šećera kod čiste proteinske hrane morala pasti na vrednost oko 0,1 mg⁰%. Pošto je u našim eksperimentima prosečna koncentracija fosfora bila na sredini između ovih Hevesy-evih ekstrema, moraćemo uzeti da je koncentracija glukoze takođe morala imati srednje veličine (dakle oko 0,15 mg⁰%).

Na toj osnovi izvedeni su obračuni, koji su prikazani na tablici br. 2.

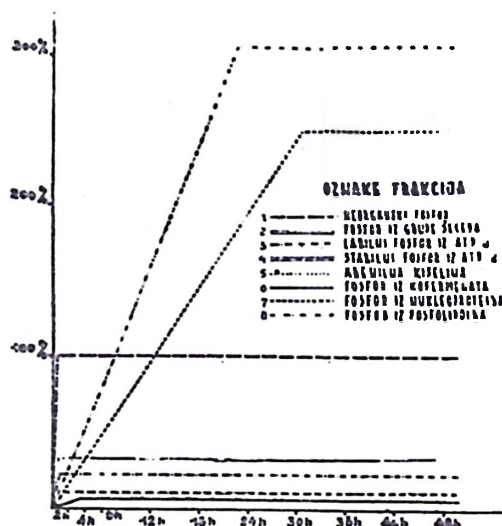
Tablica br. 2

Koncentracije				$\frac{C_P}{C_{\text{šeć}}} \times C_{\text{šeć}}$ u miliEkvivalentima	Transport		
Fosfora		Šećera			Ap ¹	AP	
u mg%	u mEkv	u mg%	u mEkv		u mEkv	u mEkv	u mg%
1	2	3	4	5	6	7	8
20	0,65	0,3	1,67	$0,65 \times 1,67$	1,085	1,04	32,7
25	0,81	0,15	0,832	$0,81 \times 0,832$	0,675	0,81	25,4
31	1,—	0,1	0,556	$1,— \times 0,556$	0,556	0,746	23,2

Tablica pokazuje da koncentracija šećera svojim porastom proporcionalno povećava količinu transporta fosfora (koju sam šećer ostvaruje) na račun koncentracije neorganskog fosfora u jetri pacova. Kod maksimalne koncentracije šećera našli smo i maksimum transporta neorganskog fosfora (32,7 mg) uz minimum fosforove koncentracije. Naprotiv, kod minimuma koncentracije šećera našli smo i minimum transporta neorganskog fosfora (23,2 mg) uz maksimum njegove koncentracije u jetri. Kod srednjih koncentracija šećera, kakve su verovatno bile u toku naših analiza, nalazi se i srednja veličina transporta, uz srednje koncentracije fosfora u jetri pacova.

Za potrebe naših daljih izlaganja koristićemo samo onu vrednost transporta preko šećera, koja odgovara našoj analizi (naš prosek fosfora iznosi 25,56 mg u 100 g sveže jetre). Mislimo da izračunata količina transporta fosfora (25,4 mg) za naše eksperimente mora biti tretirana samo kao orijentaciona veličina, jer osnove iz kojih je izračunata nisu neposredno utvrđene u našim eksperimentima, već iz opštih podataka pretpostavljene. Svakako da koncentracije šećera zaslužuju da u novim

analizama budu proverene uporedo sa analizom koncentracije i radioaktivnosti fosfora u jetri pacova (kod različitih režima ishrane u smislu Hevesy-evih nalaza).



Pošto smo primenom opisanih metoda najzad ustanovili veličine transporta fosfora za sve frakcije u jetri pacova, možemo iz njih izračunati ne samo trajanje vremena obnavljanja za svaku frakciju, već i sve specifične brzine sinteza i razlaganja. Za tu svrhu korisno je uporediti krivulje procentnog porasta radioaktivnosti za pojedine frakcije u jetri. Prosečne veličine procentne radioaktivnosti u stadijumu posle punog zasićenja frakcija radiofosforom (koje su inače identične sa procentnim vrednostima za koncentracije običnog fosfora u odnosu na neorgansku frakciju), predstavljene su u grafikonu horizontalnim linijskama, do kojih se penju odgovarajuće kose prave linije. Ove kose linije imaju određen nagib i definisanu visinu. Visina od nule do horizontalne linije pokazuje ukupnu količinu transporta do punog zasićenja a ugao kosine pokazuje za koje se vreme ta količina prenese preko odgovarajućih frakcija (vidi vreme na apscisi).

Sudeći prema nagibu najbrži transport se vrši preko neorganske frakcije, a zatim preko šećerne grupe frakcija. Najsporije se transportuje fosfor u frakciji kofermenata i adenilne kiseline, a zatim nešto brže preko frakcije nukleoproteida.

Smatramo da veličine transporta za četiri frakcije za koje smo imali sopstvene podatke mogu biti usvojene bez rezerve. Za tri frakcije kojima smo transportne veličine izračunali iz podataka u literaturi o vremenu obnavljanja frakcija nisu 100% pouzdane, mada se skladno uklapaju u skalu vrednosti uporedo sa one četiri prve frakcije. Najveća rezerva može biti stavljena na transport šećerne grupe, jer su koncentracije za glukozu u jetri uzete sasvim aproksimativno iz sasvim drugih analiza. Druga rezerva ovde dolazi u obzir i iz razloga što metoda nije eksperimentalno proverena uporedo sa metodom merenja uspona radioaktivnosti.

2) Utvrđivanje specifičnih brzina sinteza i specifičnih brzina razlaganja za pojedine frakcije fosfornih jedinjenja u jetri pacova

U prvom delu ove publikacije već su bile saopštene veličine za koncentracije običnog fosfora za pojedine frakcije u jetri pacova. Međutim tamo veličine transporta njihovog fosfora nisu još bile ustanovljene. Kako su u prvom poglavlju ovog (II) dela pokazane metoda i konkretni rezultati izračunatih veličina transporta fosfora, posebno za svaku frakciju, sada smo stekli dokumentacionu bazu za pristupanje pokušaju izračunavanja specifičnih i faktičnih brzina sinteza, kao i specifičnih i faktičnih brzina razlaganja za svaku frakciju fosfornih jedinjenja. Kako je prema našim izlaganjima u jednom ranijem radu (6) faktična brzina sinteze ravna apsolutnoj veličini transporta (vidi jednačine br. 4/a i 4/b), moguće je ustanoviti faktične brzine, ako naše procentne veličine transporta za pojedinu frakciju preračunamo u apsolutne. U lančastom sistemu prenošenja nekog radikala faktična brzina sinteze ravna je ne samo apsolutnoj veličini transporta tog radikala (na pr. fosfora), već i faktičnoj brzini razlaganja frakcije. Apsolutni transport fosfora moguće je izračunati za neku frakciju na dva načina: ako se koncentracija frakcije podeli sa vremenom obnavljanja iskazanom u jedinicama vremena; ako se najpre izračuna koliko procenata poraste radioaktivnost frakcije u jedinici vremena (u periodu uspona njene radioaktivnosti) od definitivnog iznosa radioaktivnosti frakcije, tada procenat porasta radioaktivnosti označava i procenat obnavljanja običnog fosfora. Ako se sa tim procentom pomnoži koncentracija i podeli sa 100, dobija se apsolutna količina transporta fosfora date frakcije. Cifre dobivene jednim i drugim putem međusobno su identične.

Pre nego što predemo na samo izračunavanje apsolutnih transporta frakcija moraćemo izvršiti korekturu kako u procentnim veličinama radioaktivnosti tako i u koncentracijama frakcija iz naših analiza iz I dela, jer nisu međusobno sasvim identične, što je pokazano već u I delu ove publikacije (vidi kolone 5 i 6 u tablici br. 6 I dela). U grupi acidsolubilnih frakcija razlike između procentne raspodele radiofosfora i procentne raspodele običnog fosfora u jetrinim frakcijama nisu velike, ali su u nukleoproteidima i fosfolipoidima znatno veće. Ove razlike su svakako u granicama tehničkih grešaka i fizioloških oscilacija, te se ipak mogu smatrati skoro kao identične. Međutim za naš pretstojeći rad moglo bi biti nejasnoća u pogledu procene stvarnih vrednosti reakcionih konstanti pošto bi nužno nastale razlike zavisno od toga da li se izračunavaju iz podataka radioaktivnosti, ili iz podataka koncentracija. Da bi se izbegle nepotrebne komplikacije, ove ćemo razlike računskim putem ukloniti, uzimajući u obzir da bi one same po sebi bile znatno manje, da je naša analitička tehnika bila preciznija, odnosno da su analize izvršene na mnogo većem broju životinja za svako eksperimentalno vreme. U tom bi slučaju razlike između procenta radioaktivnosti i procenta običnog fosfora (obe vrednosti iskazane u odnosu na 100-procentnu veličinu neorganske frakcije) postale skoro sasvim identične. Kako su predstojeći proračuni prvenstveno od teorijskog značaja, jer se na konkretnim rezultatima proveravaju naše teorijske postavke iz pomenutog ranijeg rada (mada se ujedno donose i novi zaključci o reak-

cionom poretku metabolizma fosfora u jetri pacova), smatramo da nećemo učiniti principijelnu (a verovatno ni stvarnu) grešku, ako za obe vrste fosfora (za radioaktivni i obični) pretpostavimo da su na idealan način analizovani, te da su im procentne vrednosti raspodele već pri analizi bile identične. Ništa ne pokazuje da li su odstupanja u običnom ili radioaktivnom fosforu, te imamo pravo pretpostaviti da bi poklapanje obih vrednosti nastupilo konkretno na sredini između vrednosti koje smo mi u našim analizama za obe vrste fosfora faktično i uverili. U koloni 7 tablice br. 6 I dela ove publikacije, već smo izračunali srednje vrednosti procentne raspodele za svaku frakciju. U buduću ćemo koristiti samo ove, korekturom identifikovane, procentne vrednosti za obe vrste fosfora. Prema tome ako u proračunavanju reakcionih konstanti iz veličine radioaktivnosti i koncentracija (ili u primeni tih konstanti na konkretne procese metabolizma) nastanu neslaganja, ona sigurno neće proizlaziti iz tehničkih grešaka analiza (jer smo ih maksimalno eliminisali ovim identifikovanjem), već iz prirode samog metabolizma ili iz neadekvatnosti naših formula, odnosno iz netačnih polaznih podataka za proučavanje tih procesa. S druge strane moglo bi se desiti i obratno, da će konkretne veličine (izračunate iz koncentracija i one iz radioaktivnosti) pokazivati velike podudarnosti, (ako formule za njihovo izračunavanje budu konkretne) što je za ova razlaganja i neophodno. Stoga smo u tablici br. 3 sve apsolutne veličine za koncentracije fosfora u pojedinim frakcijama iskorigovali, tako da su iz stvarno utvrđenih vrednosti putem analize izračunate nove, kakve bi morale biti u slučaju da se raspodela običnog fosfora među frakcijama potpuno podudara sa raspodelom radioaktivnosti (u periodu ravnoteže). U koloni 2 tablice br. 3 date su veličine za koncentracije običnog fosfora frakcija u originalu kako su utvrđene putem hemijske analize, dok se u koloni 3 iste tablice nalaze korigovane vrednosti na bazi identifikovane raspodele. Sada u svim frakcijama specifična aktivnost fosfora (tj. veličina radioaktivnosti na jedinicu mase) ima apsolutno istu veličinu. Ovaj postupak nam olakšava dalji obračun, te je vrlo udoban, ne menjajući ništa u odnosima, a odgovara činjenicama kakve bi bile da su analize izvršene na 10 do 20 puta većom broju životinja.

Kako su apsolutne cifre za obični — neaktivni — fosfor sada nešto izmenjene (u četiri frakcije smanjene), a tako isto i procentne veličine radioaktivnosti (u četiri frakcije povećane), to ni ranije veličine transporta iz prvog poglavlja nisu više sasvim odgovarajuće za nove cifre. Stoga smo i cifre transporta iskorigovali na veličine novih procenata. Tu je bila izvesna teškoća, jer veličine radioaktivnosti frakcija u periodu uspona njihove radioaktivne krivulje nije moguće tako jednostavno korigovati. Kako su za sve frakcije korigovane vrednosti aktiviteta nešto veće od stvarno izmerenih (izuzev za labilnu frakciju iz ATP-a), to smo za adaptiranje veličina transporta na te veće procentu aktiviteta koristili stvarne veličine porasta radioaktivnosti za prvi period (jer je i on nešto veći od srednje vrednosti porasta aktiviteta (vidi tablicu br. 1 kolona 2). Time smo donekle kompenzovali izmene u veličini koncentracija i definitivnih veličina radioaktivnosti i na planu porasta radioaktivnosti, što se odražava na veličine transporta. Pokazalo se da su na taj način nastale samo sasvim neznatne razlike.

Tablica br. 3

Naziv frakcije	Apsolutne količine neaktivnog P ³² u frakcijama (= koncentracije)		Korigo- vana prosečna raspodela fosfora u % među frakcija- rju rav- na u sta- noteže: Srednje vrednosti između raspodele P ³² i P ³¹	Obnavljanje fosfora u frakcijama posle 2 h		
	Nadeno putem analiza u = mg	Izraču- nate iz korigo- vane pro- centne raspodele fosfora u frakci- jama u = mg		% uno- šenja P ³² u frakci- je tokom prva 2 h u pore- denju sa neor- ganskom frakci- je=100	Apsolutna količina obno- vljenog P ³² izra- čunate iz % obna- vljanja P ³² mg	Procenat obna- vljanja P ³² u odnosu na ravno- težno stanje
1	2	3	4	5	6	7
Nerorganski P	25,69	25,69	100,—	100,—	120,0	478,—
P iz šećernih frak.	8,43	8,36	32,55	30,6	25,4	304,—
Labilni P iz ATP-a	5,55	5,53	21,6	23,6	15,3	278,—
Stabilni P iz APTa	4,34	3,43	13,15	15,1	7,79	232,—
P iz adenilne kis.	2,43	2,32	8,65	6,1	1,63	70,5
P iz kofermenata	2,64	2,33	8,75	4,7	1,25	53,8
P iz nukleoproteida	83,5	73,3	288,25	18,8	4,82	6,56
P iz fosfolipoida	95,81	85,—	330,5	28,9	7,44	8,75

U koloni 4 tablice br. 3 nalaze se procentne veličine radioaktivnosti posle korekture (identične su sa podacima kolone 7, tablice br. 6 I dela ove publikacije). Uporedo sa njima nalaze u koloni 5 i procenti radioaktivnosti posle 2 h (podaci preneseni iz tablice br. 4 I dela — kolona 2). U koloni 6 tablice br. 3 iznete su i apsolutne veličine (u mg.) obnavljanja za pojedine frakcije (izračunate za frakcije 5, 6, 7 i 8 iz odnosa kolone 4 i 5 ove tablice, a za frakcije 1, 2, 3 i 4 izračunate prema podacima iz literature). Dakle za frakcije iz grupe šećera, kao i za labilnu i stabilnu frakciju fosfora iz ATP-a obnavljanje u jedinici vremena prema našim analizama je ravno koncentraciji, što ne odgovara stvarnim odnosima (jer je naše merenje radioaktivnosti izvršeno prekasno za te frakcije), te smo u tablici br. 3 ove vrednosti zamenili veličinama koje smo izračunali na osnovu podataka u literaturi (a prikazane su u prvoj glavi ovog II dela publikacije). To isto važi i za procenat veličine obnavljanja za te frakcije u koloni 7 iste tablice (br. 3).

Prema proceni iz korigovanih vrednosti za radioaktivnosti i koncentracije, vremena obnavljanja za pojedine frakcije iznose: 1) za neorganski fosfor 25,2 minuta (ili 0,21 jedinice vremena = naša jedinica je ravna 2 h); 2) za grupu šećera 39 minuta (0,325 jedinice vremena);

3) za labilni fosfor ATP-a 43 minuta (0,359 jedinica vremena); 4) za stabilni fosfor iz ATP-a 52 minute (0,433 jedinice vremena); 5) za fosfor adenilne kiseline iznosi 170 minuta (1,416 jedinica vremena); 6) za kofermente 223 minuta (1,86 jedinica vremena); 7) za nukleoproteide 30,7 h (1845 minuta = 15,38 jedinica vremena); 8) za fosfolipoide vreme obnavljanja fosfora iznosi 22,8 h (1,369 minuta = 11,4 jedinica vremena).

Apsolutni transporti za pojedine frakcije iznose u jedinici vremena (tj. za period od 2 h): 1) za neorganski fosfor 120 mg; 2) apsolutni transport preko šećerne grupe 25,4 mg; 3) apsolutni transport labilnog fosfora u ATP-u iznosi 15,3 mg; 4) u stabilnom P i ATP-a je 7,77 mg; 5) u adenilnoj kiselini iznosi 1,63 mg; 6) za kofermente apsolutni transport fosfora je 1,25 mg; 7) u nukleoproteidima apsolutni transport iznosi 4,82 mg; 8) i najzad u fosfolipoidima apsolutni transport iznosi 7,44 mg.

Prema jednačini br. 24 iz naše ranije publikacije (6) u lančastim nizovima metabolizma tokom perioda ravnoteže transporta, specifična

brzina sinteze (K^S) ravna je recipročnoj vrednosti transporta iz jedinice vremena. U tablici br. 4 složene su specifične brzine sinteza za sve frakcije u koloni 2. Specifična brzina razlaganja dobija se kada se veličina apsolutnog transporta za jedinicu vremena podeli sa koncentracijom fosfora frakcije (vidi jednačinu br. 25 naše ranije publikacije, citirane

pod br. 6). Konkretno vrednosti specifičnih brzina razlaganja (K^R) pokazane su u koloni 3 tablice br. 4. Kako je koncentracija sintetizovanog fosfora u lancu metabolizma, prema našoj jednačini br. 21, ravna umnošku kvadrata transporta sa konstantom sinteze i podeljene sa konstantom

razlaganja ($C = Ap^2 \cdot \frac{K^S}{K^R}$), smatrali smo za korisno da količnik $\frac{K^S}{K^R} = K$

iskažemo u posebnoj koloni tablice br. 4 (vidi kolonu 4). Najzad u koloni 5 tablice br. 4 izložen je računski postupak koji pokazuje da se veličina koncentracije u lančastom sistemu neprekidno formira iz transporta pod dejstvom konstante za sintezu i rasture pod dejstvom konstante za razlaganje. U tablici se može uočiti da se vrednosti koncentracija izračunatih iz veličine transporta i konstanti sinteze i razlaganja skoro potpuno poklapaju sa analizom utvrđenim veličinama. S obzirom da se transport utvrđuje isključivo iz podataka radioaktivnosti (izuzev za grupu šećera, koji se verovatno nalaze na čelu lanca, te je bilo moguće transport izračunati i iz koncentracija reagujućih supstancija), kao i specifična brzina sinteze, a specifična brzina razlaganja stoji u pravoj proporciji sa veličinom transporta i u obrnutoj proporciji sa punim zasićenjem radioaktivnosti, ovaj račun je veoma instruktivan, jer ukazuje da hemijskom analizom ustanovljena veličina običnog forfora stvarno najuže zavisi kako od dinamike transporta, tako i od brzine sinteze i brzine razlaganja frakcija. Prema tome koncentracija postoji kao bilansna, dinamična i promenljiva veličina koja se neprekidno formira transportom i sintezom, a rastura razlaganjem sintetskog spoja i odnosjenjem produkata, što je u osnovi eksperimentalno dokazano već u Hevesy-evim eksperimentima.

Iz kolone 2 vidi se da najmanju specifičnu brzinu »sinteze« ima neorganska frakcija, mada se tu u stvari i ne radi o nekoj »sintezi«, već samo o koncentrovanju neorganskog fosfora u ćelijama jetre. Naša vrednost kako za koncentrovanje, tako i za transport fosfora neorganske frakcije nije sasvim pouzdana, jer kvantitativno obuhvata ne samo količine sadržane u ćelijama, već i one iz limfe (a to važi i za brzinu obnavljanja). Prema tome analizom utvrđena faktična brzina obnavljanja mogla bi ispasti veća, jer se fosfor u limfi obnavlja brže nego u ćelijama. U limfi se fosfor principijelno ne koncentriše, dok ulazak novog fosfora iz limfe u intracelularni prostor teče protiv gradijenta koncentracije. Mada nemamo nikakvih dokaza da se formiranje koncentracije u neorganskoj frakciji vrši po istim zakonima po kojima se stvaraju hemijska jedinjenja, čini nam se da u pogledu obrazovanja koncentracije iz transporta, mora postojati izvesna analogija sa procesima u kojima koncentracija nastaje hemijskim reakcijama. Razlika bi morala biti u tome što termin »specifična brzina« mora da se odnosi na proces »obnavljanja« a ne na »sintezu«, odnosno na »izlazak« fosfora, a ne na »razlaganje« njegovog spoja. Na stvaranje koncentracije neorganskog fosfora primenili smo istu formulu koja izgleda da važi za organska jedinjenja stvorena sintezom sa fosforom. Vidimo da je »specifična brzina obnavljanja« neorganske frakcije manja od specifičnih brzina sinteza organskih frakcija (0,00833). Specifična brzina izlaženja neorganskog fosfora iznosila bi 4,68, dok bi K^S/K^R iznosila = 0,00176.

Tablica br. 4

	Naziv frakcije	$K^S = \frac{1}{\Delta p}$	$K^R = \frac{\Delta p}{C}$	$\frac{K^S}{K^R} = K$	$C = \frac{K^S}{K^R} \Delta p^2$
	1	2	3	4	5
1.	Neorganski P ^{oo}	$0,833 \times 10^{-1}$	468×10^{-2}	$0,176 \times 10^{-2}$	$C = 0,00176 \times 120^2$ $= 0,00176 \times 14.400$ $= 25,38$
2.	P iz šećernih frakc.	$3,94 \times 10^{-2}$	302×10^{-2}	$1,31 \times 10^{-2}$	$C = 0,0131 \times 25,4^2$ $= 0,0131 \times 636 = 8,33$
3.	Labilni P iz ATP [*]	$6,46 \times 10^{-2}$	279×10^{-2}	$2,13 \times 10^{-2}$	$C = 0,0213 \times 15,3^2$ $= 0,213 \times 234,0 = 5,53$
4.	Stabilni P iz ATP ^{oo}	$12,86 \times 10^{-2}$	232×10^{-2}	$5,54 \times 10^{-2}$	$C = 0,0554 \times 7,79^2$ $= 0,0554 \times 61,55 = 3,42$
5.	P iz adenilne kis.	$61,4 \times 10^{-2}$	$70,3 \times 10^{-2}$	$87,5 \times 10^{-2}$	$C = 0,875 \times 1,63^2$ $= 0,875 \times 2,66 = 2,32$
6.	P iz kofermenata	80×10^{-2}	$53,6 \times 10^{-2}$	$149,3 \times 10^{-2}$	$C = 1,493 \times 1,25^2$ $= 1,493 \times 1,56 = 2,33$
7.	P iz nukleoproteida	$20,8 \times 10^{-2}$	$6,58 \times 10^{-2}$	316×10^{-2}	$C = 3,16 \times 4,02^2$ $= 3,16 \times 23,3 = 73,4$
8.	P iz fosfolipoida	$13,45 \times 10^{-2}$	$8,75 \times 10^{-2}$	153×10^{-2}	$C = 1,53 \times 7,42^2$ $= 1,53 \times 55,5 = 85,2$

Od organskih jedinjenja fosfora najmanju specifičnu brzinu sinteze ima šećerna grupa frakcija, dok je najveća specifična brzina sinteze, kojom se ugrađuje fosfor u frakciju kofermenata. Za oko 23% je manja

* Izračnato iz Rapoport-ovih analitičkih podataka.

** Izračnato iz Hevesy-evih nalaza uporedo sa Rapoport-ovim.

u adenilnoj kiselini, dok je u frakciji nukleoproteida oko 4 puta manja od specifične brzine sinteze kofermenata (vidi tablicu br. 4). Specifične brzine sinteze fosfolipoida i stabilnog fosfora u ATP-u veoma su bliske po veličini, jer su im i transporti u jedinici vremena veoma bliski, što se osobito lepo manifestuje u grafikonu br. 2. Upadljivo je da je nagib strmine linije porasta radioaktiviteta za ove dve frakcije skoro identičan. Razlika je u tome što linije uspona kod stabilne frakcije vrlo rano, tj. kod niske koncentracije, dostiže nivo ravnoteže svoje radioaktivne zasićenosti, dok se to u frakciji fosfolipoida postiže vrlo kasno, odnosno na visokom nivou koncentracije. Uzrok za postojanje vrlo velike razlike između koncentracija fosfora u frakciji stabilnog fosfora i u fosfolipoidima sasvim očigledno proizlaze iz razlike njihovih specifičnih brzina razlaganja. U frakciji stabilnog fosfora ATP-a specifična brzina razlaganja veća je za 26,5 puta nego u fosfolipoidima. Zato se faktična brzina razlaganja fosfolipoida u jedinici vremena izjednačuje sa faktičnom brzinom razlaganja stabilnog fosfora tek na 25,3 puta višem nivou koncentracije fosfolipoida od nivoa koncentracije u frakciji stabilnog fosfora. Zato je i vreme potrebno za dostizanje nivoa svoje koncentracije putem transporta podjednake veličine u frakciji fosfolipoida 26,3 puta duže nego u frakciji stabilnog fosfora iz ATP-a.

Dakle na nivo koncentracije upliviše ne samo veličina apsolutnog transporta, i specifična brzina sinteze, već takode i specifična brzina razlaganja. Najveća specifična brzina rasturanja koncentracije nađena je u neorganskoj frakciji, zatim u grupi šećera. Najmanja specifična brzina razlaganja nađena je u frakciji nukleoproteida, od koje nije mnogo veća ni specifična brzina razlaganja u frakciji fosfolipoida.

Važan je bilans između specifične brzine i sinteze i specifične brzine razlaganja, jer taj bilans bitno utiče na formiranje koncentracije neke frakcije u transportnom sistemu metaboličnog lanca. Već smo pokazali na primerima stabilne frakcije fosfora iz ATP-a i frakcije fosfolipoida da razlike između koncentracije tih frakcija međusobno stoje u sličnoj proporciji koja postoji između njihovih specifičnih brzina razlaganja (jer su im veličine transporta i specifične brzine sinteze vrlo bliske). Negativni bilans između procesa sinteze i razlaganja nalazimo u frakcijama neorganskog fosfora, fosfora u grupi šećernih frakcija, u labilnom i stabilnom fosforu iz ATP-a, jer im je specifični proces razlaganja brži od specifičnog procesa sinteze. U frakciji adenilne kiseline ove dve brzine međusobno su skoro izravnate, dok su u kofermentima, nukleoproteidima i fosfolipoidima specifične brzine procesa sinteza u prevazi nad procesima razlaganja, tako da im je količnik K^R / K^S veći od jedinice (vidi kolonu 4 tablice br. 4).

Najzad kolona 5 u tablici br. 4 na konkretnim računima pokazuje da su veličine koncentracija uslovljene kako procesom transporta i sinteze, tako i procesom razlaganja. Dok se transport, brzina sinteze i brzina razlaganja utvrđuju merenjem porasta radioaktivnosti u periodu njegovog uspona, dotle se koncentracija može meriti tek docnije pošto se najpre formira u toku toga vremena. Ovo osobito lepo utvrđuje činjenica da se period uravnotežene veličine aktiviteta (vidi grafikon

br. 2), kada proporcije tih »vrhunskih« radioaktivnosti za razne frakcije postanu identične sa proporcijama koncentracija njihovog običnog (neradioaktivnog) fosfora iz hrane (vidi tablice br. 4/B i br. 5 iz I dela ove publikacije). Prema tome procentnu vrednost koncentracija možemo ustanoviti sa podjednakom tačnošću, kako merenjem radioaktivnosti fosfora frakcija, tako i hemijskom analizom, na pr. njegovim kolorimetrijskim merenjem. Kolorimetrija ima tu odliku da neposredno daje apsolutne vrednosti koncentracija, a procentne se moraju naknadno izračunati, dok merenje radioaktivnosti (u periodu pune zasićenosti) može pokazati samo proporcije među koncentracijama (na pr. u procentima), ali ne i njihove apsolutne veličine.

Pošto su konstante za specifične brzine sinteza i razlaganja frakcija u tablici br. 4 izračunate iz miligramskih vrednosti (za apsolutni transport i koncentraciju fosfora u frakcijama), to primenom jednačine za koncentraciju rezultat izlazi neposredno u miligramskim veličinama za koncentracije fosfora u frakcijama. Vidimo da vrednosti izračunate iz reakcionih konstanti (koje su, kao što je napred pokazano utvrđene iz veličina porasta radioaktivnosti u periodu uspona) veoma malo odstupaju od analitički ustanovljenih. Ovaj račun u celini dalje pokazuje da su naše formule za izračunavanje specifične brzine sinteze i specifične brzine razlaganja, kao i za izračunavanje koncentracije iz tih konstanti ispravne, odnosno da su veličine transporta iz kojih su izračunate same specifične brzine (pomoću pomenutih formula), pouzdane i tačne.

Zaključak

U drugom delu ovog rada izračunate su sve reakcione konstante za frakcije fosfornih jedinjenja u jetri pacova. Koncentracije fosfora u tim frakcijama ustanovljene su hemijskom analizom već u I delu. Tamo su ujedno ustanovljene i veličine radioaktivnosti fosfora tih frakcija za različite periode vremena posle peroralnog davanja radiofosfora pacovima.

Najpre su izračunate veličine procentnog porasta radioaktivnosti za četiri frakcije (adenilna kiselina, kofermenti, nukleoproteidi i fosfolipoidi) iz postepenog povećavanja njihove radioaktivnosti u sukcesivnim vremenima tokom stadiuma uspona sadržine radiosfosfora u frakcijama. Ti su podaci dragoceni iz više razloga. Najpre zato što su procenti porasta radioaktivnosti principijelno identični sa procentima obnavljanja običnog fosfora u frakcijama, a obe veličine sa svoje strane identične su sa procentnom veličinom transporta fosfora za pojedine frakcije. Najzad važnost ovih veličina vidi se i iz toga, što su apsolutni transporti fosfora u jedinici vremena identični sa faktičnim brzinama sinteza kao i sa faktičnim brzinama razlaganja frakcija u periodu postignute ravnoteže njihove radioaktivnosti.

Iz poznate procentne veličine maksimalne radioaktivnosti frakcija (u periodu njihove zasićenosti) i poznate veličine porasta radioaktivnosti može se računskim putem utvrditi vreme obnavljanja fosfora frakcije. Vreme obnavljanja fosfora u frakciji može biti ustanovljeno i neposredno iz konkretnih veličina porasta radioaktivnosti, primenom grafičke tehnike (za trajanje vremena obnavljanja) a blisko je nalazu i izračunatom aritmetičkim putem. Grafička metoda primenjivanja je samo kada postoji

više podataka iz sukcesivnih vremena za porast radioaktivnosti. Za slučaj da postoji podatak za svega jedno vreme iz perioda porasta radioaktivnosti, moguća je samo primena aritmetičke metode za izračunavanje procenta porasta i vremena obnavljanja. Konkretno veličine transporta za ove četiri frakcije date su u tekstu.

Za izračunavanje količina transporta i vremena obnavljanja fosfora u tri frakcije (neorganski fosfor, labilni, odnosno stabilni fosfor iz ATP-a) upotrebljeni su podaci iz saopštenja u literaturi (jer su naše analize radioaktivnosti za te frakcije izvršene prekasno, tako da je period uspona aktiviteta već bio prošao). Za labilni fosfor neposredno je uzeta vrednost obnavljanja iz Rappoport-ovih nalaza, dok su za neorganski fosfor i stabilni fosfor ATP-a izračunati iz proporcija postizanja maksimuma apsolutne veličine radioaktivnosti. Ove se veličine lepo uklapaju u jedinstven sistem sa podacima za četiri frakcije kojima smo aktivitet uspeli izmeriti već u fazi porasta.

Za grupu šećernih frakcija (koje se u našim analizama tretiraju uvek kao jedinstveni sistem reagovanja) količina transporta i vreme obnavljanja frakcije izračunati su indirektnim putem, primenom jednačine br. 4/I-a i br. 4/I-b iz jednog našeg ranijeg saopštenja. Ovde je iskorišćena osobenost (prema nalazima Hevesy-a) da šećer svojom količinom u hrani diriguje celom sintezom organskih spojeva u jetri pacova. Na osnovu toga smo pošli od pretpostavke da se spajanje fosfora vrši po sistemu lančanog niza, na čijem čelu verovatno stoji reakcija fosfora sa šećerom. U tom slučaju prema našoj jednačini, transport fosfora ravan je kvadratnom korenu iz umnoška koncentracija dveju supstancija koje se sintetišu (neorganskog fosfora i šećera). Obzirom da smo koncentracije eksperimentalno merili samo za fosfor (a ne i za šećer) u jetri naših pacova, morali smo koncentracije šećera približno proceniti iz podataka u literaturi, pošto ih ni drugi autori koji su analizovali fosfor u jetri pacova (napr. Hevesy i J. Sachs) sami nisu merili. Tu nam je olakšicu pružio baš pomenuti nalaz Hevesy-a da velika količina šećera u hrani, smanjuje količinu neorganskog fosfora u jetri pacova, a proporcionalno povećava koncentraciju organski vezanog fosfora frakcija u jetri pacova. Iz saopštenja Magnus-Levy-a (o gradijentu opadanja koncentracije glukoze u krvi raznih organa) došli smo do zaključka da je kod obilne količine šećera kod Hevesy-evih pacova mogla biti maksimalna koncentracija šećera u jetri (0,3 mg^{0/0}) uz minimalnu koncentraciju fosfora (20 mg^{0/0}), i obratno minimalna koncentracija šećera u jetri (0,1 mg^{0/0}) mogla je biti kod ishrane čistom proteinskom hranom, gdje je koncentracija fosfora bila najveća (31 mg^{0/0}). U tablici br. 2 vide se rezultati tog računa za obe ekstremne koncentracije u Hevesy-evim pacovima, kao i za naše sopstvene analize. Veličina transporta iz ovog proračuna za grupu šećera lepo se uklapa u skalu transporta tako da po gradijentu

opadanja zauzima mesto između neorganske frakcije i labilnog fosfora ATP-a.

Iz veličina transporta i veličina koncentracija, utvrđenih u prethodnim izlaganjima, izračunate su specifične brzine sinteza i specifične brzine razlaganja, upotrebom naših formula br. 24 i 25, (iz publikacije citirane pod br. 6). Formule i konkretne veličine za pojedine frakcije prikazane su u tablici br. 4, i to za specifičnu brzinu sinteza u koloni br. 2, za specifičnu brzinu razlaganja u koloni br. 3.

Tablica pokazuje da najmanju specifičnu brzinu sinteze (ili obnavljanja) ima neorganska frakcija, a odmah za njom grupa šećernih frakcija, zatim labilna frakcija ATP-a. Dalje slede dve frakcije sa skoro podjednakim specifičnim brzinama sinteza (stabilni fosfor ATP-a i fosfolipoidi). Odmah potom dolaze nukleoproteidi. Najveću specifičnu brzinu sinteze imaju kofermenti, a nešto manju adenilna kiselina. Specifične brzine razlaganja imaju drugačiji gradijent porasta. Najmanja specifična brzina razlaganja se nalazi u frakciji nukleoproteida i fosfolipoida, dok su najveće u frakciji neorganskog fosfora i u grupi šećera.

Kolona 5 u tablici br. 4 pokazuje da se iz veličina radioaktivnosti frakcija u periodu njihovog uspona može izračunati koncentracija običnog fosfora iskazana u mg%. Ova kolona potvrđuje ispravnost kako naših formula (koje su ispisane na vrhu svake kolone te tablice) tako i izračunate vrednosti za transporte pojedinih frakcija u jetri pacova.

A. SABOVLJEV, DETERMINATION OF REACTION CONSTANTS OF PHOSPHORUS FRACTIONS IN LIVER OF RATS

S u m m a r y

All reaction constants for fractions of phosphorus combinations in the liver of rats have been computed in Part II of this study. Phosphorus concentrations in this fractions, determined by chemical analysis, have been dealt with, along with quantities of phosphorus radioactivity at different periods after oral administration, already in Part I.

In the first place, the quantities of percentual increase of radioactivity concerning four fractions (adenylic acid, coenzims, nucleoproteids and phospholipoids) were computed from the gradual increase of their radioactivity in successive periods during the stage of the rise of radio-phosphorus content. The data obtained are most valuable for several reasons. First of all because the percentages of increased radioactivity are indentical, in priciples, with those of the renewal of stable phosphorus in the fractions, and both quantities for their part are identical with the percentual quantity of phosphorus transport for individual

fractions. Indeed, the importance of all these quantities is to be seen from the fact that the absolute phosphorus transport rates are identical in the unit of time with the actual velocity rates of the syntheses as well as those on the splitting of fractions in the period when the balance of their radioactivity has been reached.

The time of phosphorus renewal in a fraction can be determined by computation from a known percentual quantity of maximum radioactivity of the fractions (during their saturation period) and a known quantity of the rise of radioactivity. The time of phosphorus renewal in a fraction can also be determined directly from the actual quantities of radioactivity increase by means of a graphical technique. The results of this technique (concerning the duration of the period of renewal) are approximately those obtained by arithmetical computation. The graphic method is only applicable provided several data, from successive periods, relative to the increase of radioactivity are available. If the data available are only those concerning one interval of the period of increase in radioactivity, then the only possible way of computing the percentage of the increase and the period of renewal is the application of the arithmetical method. The actual transport quantities relative to the four fractions have been given in the text.

For three fractions (inorganic phosphorus, the labile and the stable phosphorus from ATP) the periods of phosphorus renewal taken from reports in the literature (for our own analyses of radioactivity of the fractions were made too late, i. e. when the period of the rise in radioactivity had been over) have been used for the purpose of computing the quantity of transport. As regards the labile phosphorus, its reconstruction value has been taken from the data of Rappoport, and the computation concerning the inorganic and the stable phosphorus from ATP has been made from the proportions relative to the attainment of the maximum of the absolute quantity of radioactivity. These quantities fit well into a uniform system with the data concerning the four fractions, the radioactivity of which we were able to measure already at the phase of increase.

For the group of sugar fractions (which, in our analyses, are always treated as a uniform system of radioactivity) the transport quantity and the time of renewal of fractions have been computed indirectly by the application of the equations No. 4/I-a and No. 4/I-b taken from one of our earlier papers. We have made use here of one of the distinctive characteristics of sugar (according to the findings of Havesy) whose quantities in food direct the whole synthesis of phosphorus organic combination in the liver of rats. It was for this reason that we started from the hypothesis that the combination of phosphorus proceeds on the

lines of a chain of reaction, probably headed by the phosphorus plus sugar reaction. In this case, according to our equation, the transport of phosphorus equals the square root of the product of multiplication of the concentrations of two substances that are being synthesized (i. e. the inorganic phosphorus and sugar). Because of our not having measured experimentally the concentrations of sugar in the liver of rats but only those of phosphorus, we have had to estimate the former approximately from the relevant data in the literature, since the authors themselves who analysed phosphorus in the liver of rats (e. g. Hevesy and J. Sachs) have omitted to do so. This was made easier for us by the above-mentioned finding of Hevesy's to the effect that a large amount of sugar in food tends to diminish the quantity of phosphorus in the liver of rats, at the same time proportionately increasing the concentration of organically combined phosphorus in the liver fractions of rats. From a piece of information provided by Magnus Levy (bearing on the downward gradient of glucose concentration in the blood of different organs) we have come to the conclusion that, allowing for the abundant quantity of sugar in the rats used by Hevesy, there may have been a maximum concentration of sugar in the liver (0,3 mg%) along with a minimum concentration of phosphorus, and vice-versa, a minimum concentration of sugar (0,1 mg%) after feeding pure protein stuffs to rats where the phosphorus concentration is the highest (31 mg%). Table 2 shows the results of the computation, concerning the two extreme concentrations in the rats used by Hevesy as well as our own analyses. The transport quantity, as computed, of the sugar group fits well into the scale of transports so that, as regards the gradient of the decrease, it takes the place between the inorganic fraction and the labile phosphorus from ATP.

From the quantities of transport and those of concentrations of fractions determined in the foregoing exposition, computation has been made of specific velocities of the syntheses and those of the splitting by means of our formulae No. 24 and No. 25 (from the publication quoted under No. 6). The formulas and the actual quantities for each fraction are shown in Table 4, i. e. for the specific velocity of the syntheses and that of the splitting process in the columns No. 2 and No. 3 respectively.

The Table shows the inorganic fraction as having the lowest specific velocity of synthesis, closely followed by the group of sugar fractions and the labile fraction from ATP; next come the two fractions with approximately equal specific velocities of synthesis (the stable phosphorus from ATP and the phospholipoids) followed closely by nucleoproteids. It is the coferments that show the highest specific velocity of synthesis, the adenyl acid coming next with its velocity slightly less. The specific velocities of the splitting-up reveal a different gradient of the increase.

The lowest specific velocity rate of the splitting-up is shown by the fractions of nucleoproteids and phospholipoids, the highest velocity rates being those of the inorganic phosphorus fraction and of the sugar group.

The column in 5 Table 4 shows that the stable phosphorus concentration expressed in mg⁰% can be computed from the quantities of radioactivity of the fraction during the period of rise. This column confirms the correctness both of our formulas (entered at the top of each column in the Table) and the computed values concerning the transports of individual fractions in the liver of rats.

L I T E R A T U R A

1. Hevesy, G. — Radioactive indicators — New-Yrk-London (1948).
2. Kaplan, N. O., and Greenberg, D. M. — J. Biol. Chem., 150, — 479 (1943) i 156, — 511 (1944).
3. Magnus-Levy, A. — Handbuch d. Biochemie, 8—399 (1925). (Redaktor: C. Appenheimer).
4. Rappoport, S., Nelson, N. Guest, G. M. and Mirsky, I. A. — Science 93—93 (1941).
5. Sabovljević, A., Bećarević, A., Micković L. i Fajgelj, A. Acta naučnog društva NR BiH, br. IX/5 (1958).
6. Sabovljević, A. — Acta naučnog društva NR BiH, br. VIII/4 (1957).

