



Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

## **RADOVI XII, knj. 6.**

**Kovačević, Blagoje**

**1959**

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/items/7d75afc9-1a9f-4e73-9085-97acf45a15d5>

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/>

NAUČNO DRUŠTVO N. R. BOSNE I HERCEGOVINE

**RADOVI**  
**KNJIGA XII**

**ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA**

**Knjiga 6**

**SARAJEVO**  
**1959**

NAUČNO DRUŠTVO N. R. BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI  
KNJIGA XII

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 6



SARAJEVO  
1959

Urednik  
**BLAGOJE KOVAČEVIĆ,**  
redovni član Naučnog društva NR BiH



## SADRŽAJ

	Strana
<b>1. Ernest I. Grin:</b>	
Upliv zemlje i njezine mikropopulacije na patogene dermatofite u inficiranoj dlaci — Influence of Soil and its Micropopulation on Pathogenic Dermatophytes in Parasitized Hair . . .	5— 22
<b>2. Blagoje Kovačević:</b>	
Septična oboljenja šake — First Injuries and Septic Involvement	23— 31
<b>3. Pavao Stern:</b>	
Farmakološka analiza permeabiliteta kože — Pharmakologische Analyse der Hautpermeabilität . . . . .	33— 44
<b>4. Jakov Gaon, Andrija Darvaš, Evgenije Serstner i Gojko Agramović:</b>	
Rezultati ispitivanja osjetljivosti tjelesnih ušiju na DDT i druge insekticide u NR BiH — Results of Tests Designed to Determine Resistance of Body Lice to D. D. T. and other Insecticides in the people's Republic of Bosnia & Herzegovina . . . . .	45— 54
<b>5. Hajrudin Hadžiselimović:</b>	
Morfološke odlike dugih kostiju donjih ekstremiteta kod naših naroda — Morphological Features of Long Bones of the Extremities of our People . . . . .	55— 76
<b>6. Aleksandar Sabovljev:</b>	
Ustanovljavanje reakcionih konstanti fosfornih frakcija — Determination of Reaction Constants of phosphorus fractions in liver of Rats . . . . .	77—100
<b>7. Aleksandar Sabovljev:</b>	
Pokušaj rekonstrukcije reakcionog poretka metabolizma fosfora u jetri pacova iz eksperimentalnih činjenica I dela i iz reakcionih konstanti II dela — An Attempt at Reconstruction with Utilization of Results and Data of Part I and Reaction constants determined in Part II . . . . .	101—150





ERNEST I. GRIN

## UPLIV ZEMLJE I NJEZINE MIKROPOPULACIJE NA PATOGENE DERMATOFITE U INFICIRANOJ DLACI

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

Zemlja predstavlja substrat u kojem žive mnogobrojni vrlo heterogeni organizmi koji se ne pojavljuju jednako u svakoj zemlji. Mikrobiološka populacija zemlje mijenja se prema svome sastavu. Zemlja koja sadrži bogate materije proteinom podržava intenzivni razvoj bakterija i aktinomiceta, dok materije bogate celulozom stimuliraju rast gljivica i bakterija koje su adaptirane na određene specifične procese, koji izgrađuju tu materiju (Waksman<sup>1</sup>).

Razumljivo je da u takvom bogatom miljeu živih bića moraju da postoje izvjesni određeni međusobni odnosi koji se odražavaju u antagonizmu ili simbiozi postojeće mikropopulacije. Također se mora pretpostaviti da se analogni procesi uspostavljaju i u odnosu prema patogenim dermatofitima čovjeka ili životinje kada dospiju pod prirodnim uslovima, u patološkom materijalu koji parazitiraju (ročana substancija kože, dlake, nokti), u neposredni kontakt sa životnim sistemom zemljine sadržine.

Pojava antagonizma između dermatofita i izvjesnih drugih mikroorganizama poznata je duže vremena (Weidman, Chambers i Weidman<sup>2</sup>) i antibiotične tvari koje nastaju kao produkt njihovog metabolizma mogu djelovati na dermatofite modificirajući njihov rast, njihovu morfološku strukturu, fiziološke i druge osobine ili ih konačno potpuno razoriti (streptothricin, gliothoxin, hemipiocyanin i dr.).

S jedne strane postoje, dakle, u zemlji mikroorganizmi koji inhibiraju u većoj ili manjoj mjeri (pod laboratorijskim uslovima) rast patogenih dermatofita i drugih gljivica, o čemu govori i nedavno objavljeni rad Ettiga<sup>3</sup>, a s druge je strane opet utvrđeno da zemlja može da služi i kao obitavalište za izvjesne patogene gljivice (Emmons<sup>4</sup>, <sup>5</sup>, Ajello<sup>6</sup>, <sup>7</sup>, <sup>8</sup>, Gordon<sup>9</sup>, Grin i Ožegović<sup>10</sup>, Frey i Durie<sup>11</sup> i dr.), koje u njoj vegetiraju kao saprofiti. Šta više Vanbreuseghem<sup>12</sup> je utvrdio da zemlja ima i stimulirajuće djelovanje na vitalnost patogenih dermatofita kada se doda podlogama da se spriječi pleomorfni rast kulture.

Sve to ukazuje da se ne mogu dermatofiti kao patogeni mikroorganizmi za čovjeka i životinju posmatrati izolirano, bez veze sa ekološkim faktorima koji na njih utiču, ako se želi da shvati njihova patogenetska i epidemiološka dinamika u cjelini.

Iz toga aspekta usmjerena su i istraživanja koja su ovdje iznesena. Na prvom mjestu tražen je odgovor na pitanje: što se događa sa patogenim dermatofitima koji su adaptirani na parazitarni život u keratinskoj substanci čovjeka kada dođu u dodir sa zemljom, kako se to događa pod prirodnim uslovima sa otpatcima patološkog materijala u predjelima seoskih uslova života, gdje se dermatomikoze pojavljuju u endemskom obliku.

Kao test upotrebljavali smo za ova ispitivanja parazitirane dlačice sa obojelog vlasišta trihofitije i favusa. Najčešće smo se služili dlačicama *T. violaceuma*.

U tim opitima vidjeli smo da parazitirane dlačice, stavljene u nesterilnu zemlju,\*) zadržavaju svoju konturu dosta dugo vremena, ali da gljivični elementi u njoj postepeno gube svoju oštrinu, lome slabije svjetlo i čine više utisak »sjene« oblika gljivičnih elemenata (bez vitalnog sadržaja citoplazme) dok se konačno potpuno ne raspadnu (sl. br. 1). Prostor u dlaci, koji je bio prije ispunjen gljivičnim elementima, ispuni se zrakom (sl. br. 2), ali se brzo cijeli sadržaj pretvori u homogenu sitnu granuliranu masu.

Keratinska substanca dlake ostaje pošteđena na početku raspadanja gljivičnih elemenata u njoj i ona zadržava svoj primarni oblik i vanjsku strukturu. Moglo se često zapaziti kod parazitiranih dlačica *T. violaceuma*, u kojima su gljivični elementi u kontaktu sa zemljom već potpuno bili raspadnuti, da je cuticula dlake sa svojim karakterističnim smještajem ćelija u obliku crijepa ostala posve intaktna (sl. br. 3). Ako bi se za opis ovog stanja poslužili toliko puta citiranom i vrlo uspješnom uporedbom *Sabourauda* da dlaka trihofitije liči na vreću ispunjenu orasima, mogli bi reći da su pod uplivom zemlje i njene mikropopulacije orasi nestali i da je ostala samo prazna vreća.

Taj proces raspadanja gljivičnih elemenata nije uvijek jednoličan i jednako intenzivan i ne odvija se uvijek u istom vremenskom razdoblju. Ponekad se i događalo da su parazitirane gljivice *T. violaceuma* prvih dana u zemlji u patološkom materijalu nastavile život u saprofitičnom obliku i da je dolazilo do rudimentarne germinacije spora, ali taj život je brzo prestao zbog nepovoljnih uslova antagonističke mikropopulacije koja se pojavljuje u zemlji.

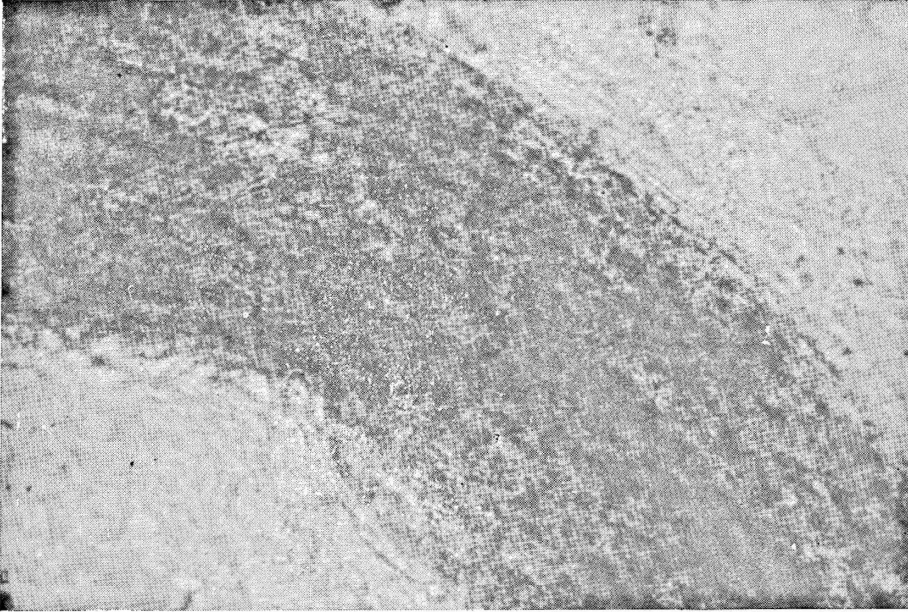
Opisane promjene u parazitiranoj dlaci nastaju obično već za nekoliko dana i po pravilu pod odgovarajućim uslovima gubi se morfološka

---

\*) Metodika: zemlja koju smo obrađivali prethodno je izmrvljena u tarioniku i stavljena u sterilnu petrijevu ploču. Količina zemlje je otprilike toliko koliko sadrži petrijeva ploča. Inficirane dlačice stavljali smo na površinu zemlje ili ih malo pokrili zemljom da budu s njom u što neposrednijem dodiru. Dlačice su prethodno mikroskopirane u sterilnoj destiliranoj vodi, da se utvrdi da li se radi o bolesnoj dlaci. Mjesto gdje su stavljene dlačice bilo je označeno tankim staklenim štapićima, da se lakše pronađu. Prije početka opita nakvašena je zemlja sterilnom destiliranom vodom, što je ponovljeno ako se zemlja u toku trajanja opita osušila.

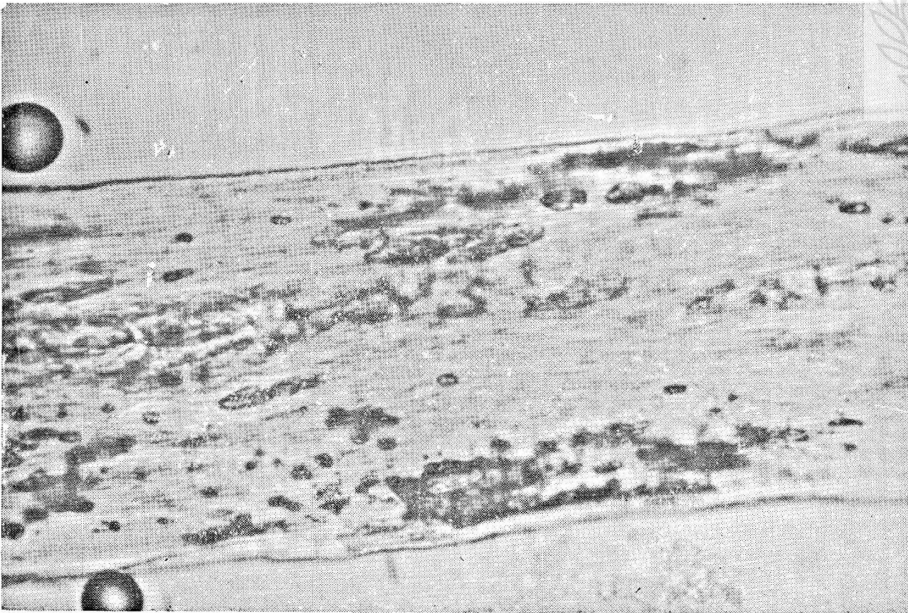
Kasnije smo radili sa manjom količinom zemlje u udubljenom predmetnom staklu, koje smo držali u vlažnoj komori.

Pri tehničkom radu ovih istraživanja neobično mnogo su pomogli savjesnim i preciznim radom zdravstveni tehničari mikološkog laboratorija Centralnog kožno-veneričnog dispanzera drugarica Zdenka Kolovrat i Rukija Juričić, na čemu im i na ovom mjestu izražavam priznanje i zahvalnost.



Slika 1

Dlaka trihofitije (*T. violaceum*) iz zemlje (z. br. 166) poslije 7 dana (320 ×). Nativni preparat u KOH.



Sl. 2

Dlaka trihofitije iz zemlje (z. br. 148) poslije 6 dana, ispunjena zrakom na mjestu raspadnutih spora (320 ×). Nativni preparat u KOH.



struktura gljivica u dlaci za 6—8 dana, a katkada i ranije. Rijetko je taj proces trajao duže vremena (kao na pr. kod niske temperature i do 20 dana). Međutim vitalnost gljivičnih elemenata gubi se prije nego što nastupe njihove morfološke promjene i kultura na Sabouraud-ovom maltoze gojilištu (uz dodatak antibiotika po L. Georg i saradnicima<sup>13, 14</sup>) ostaje po pravilu negativna već poslije četiri dana kontakta sa zemljom.

Zapazili smo da proces razgrađivanja gljivičnih elemenata ne zavisi samo o vrsti zemlje i njenih fizikalno-kemijskih osebina i mikrobiološke populacije, nego da pod istim uslovima i u istoj zemlji proces raspadanja ne teče uvijek istim intenzitetom u svim parazitiranim dlačicama. Vjerovatno nisu svi faktori potpuno jednaki na svakom mjestu zemljišta, kao što postoje izvjesne razlike i u otpornosti gljivičnih elemenata, ali se te razlike očituju samo u pogledu potrebnog vremena za konačni ishod procesa, koji, prije ili kasnije, svagda nastupa. Ipak sasvim izuzetno, iz nama još nepoznatih razloga, upliv neke zemlje na parazitirane gljivične elemente u dlaci izostaje dulje vremena nego obično. Takav je slučaj bio sa zemljom (z. br. 27) iz jednog krtičnjaka. Dlačica T. tonsuransa, koja je stajala u toj zemlji, dala je pozitivnu kulturu još poslije treće nedjelje.

Važan faktor u tome zbivanju igra vlaga zemljišta. U parazitiranim dlakama trihofitije i favusa po pravilu već poslije nekoliko dana stajanja u nesterilnoj vlažnoj zemlji nastale su promjene gljivičnih elemenata i kultura na Sabouraud-ovoj podlozi je brzo postala negativna, dok u suhoj, nenakvašenoj zemlji (z. br. 22) to nije bio slučaj.

U ovim ispitivanjima vršeni su opiti sa 18 uzoraka zemlje raznog porijekla (vidi Tab. I), a sa jednom ili drugom zemljom vršeni su opiti i po nekoliko puta.

Tab. I

Laboratorijski broj zemlje	Porijeklo zemlje
24, 94, 142, 166, 179,	seosko dvorište
23, 153, 178, 210, 239,	vrt
160,	uz kokošinjac
102,	pored kuće
177,	obala rijeke
25, 27,	krtičnjak
148, 180,	pod pojate
22,	zemljani pod seoske sobe

Pored laboratorijskih ispitivanja izvršeni su također i eksperimenti pod prirodnim uslovima.\*) Opiti su vršeni u slobodnom zemljištu rastresite ilovače i u šumskoj zemlji. U tu svrhu iskopana je sa određenog mjesta svježa zemlja kojom je napunjena do vrha posebno izradena staklena posudica veličine  $2 \times 4$  cm, koja je perforirana na mnogim mjestima sa promjerom perforacije 2—3 mm da bi bio što neposredniji kontakt sa ostalom zemljom. Na gornji sloj zemlje u toj posudici stavljene su inficirane dlačice i posudica sa inficiranim materijalom vraćena u zemlju.

U jednoj skupini opita gornji rub staklene posudice ostao je na nivou okolnog zemljišta, a u drugoj ukopan do 2 cm ispod zemlje, gdje još postoji neposredan kontakt sa zrakom.

Mikroskopski nalaz parazitiranih dlačica *T. violaceuma* koje su služile kao najpodesniji test za ova ispitivanja nije se mnogo razlikovao od nalaza koji su utvrđeni pod laboratorijskim uslovima. Razgrađivanje gljivičnih elemenata u dlaci nastupa postepeno, često nejednolično, dok ne nastupi konačna totalna liza uz inače relativno dobro sačuvanu konturu i građu dlake. Nije postojala signifikantna razlika između stanja inficiranih dlačica, da li su stajale na površini ili su bile zakopane u zemlji. Mogle su se zapaziti jedino manje razlike u toliko što je proces razgrađivanja gljivičnih elemenata kod dlačica koje su bile ispod nivoa zemlje bio nešto intenzivniji u šumskom zemljištu, gdje je i saprofitična gljivična flora oko dlake bila bogatija. Obratno je zapaženo u zemljištu rastresite ilovače. Međutim izrazita je razlika postojala što se tiče potrebnog vremena za raspadanje spora u inficiranoj dlaci kada je vanjska temperatura, a time i temperatura zemljišta, bila niža. Tako je hladno jesenje vrijeme, kada su bili zadnji opiti izvršeni, znatno i očito usporavalo razgrađivanje parazitiranih gljivica, koje je u hladnim oktobarskim danima iziskivalo i do 20 dana. To je uostalom u skladu sa općom i fundamentalnom pojavom smanjene biološke funkcije kod niske temperature, kojoj podliježe i mikropopulacija zemlje.

Kod ocjene mikroskopskih promjena gljivičnih elemenata u inficiranim dlačicama bilo je mnogo teže dati određene nalaze kod *T. schoenleini* nego kod *T. violaceuma*, jer je često bilo gotovo nemoguće razlikovati kod *T. schoenleini* da li se radi o morfološkim promjenama onih gljivičnih elemenata koji su još bili vitalni prije kontakta sa zemljom ili samo o residualnim promjenama micelskih vlakana koje su postojale i ranije. Imali smo utisak da se kod inficiranih dlačica sa *T. schoenleini* prvo artrospore i micelska vlakanca deformišu sužavanjem ili mjestimičnim proširenjem, a zatim da se raspadaju u zrnastu masu. U nekim slučajevima bilo je teško diferencirati da li međusobno isprepletana micelska vlakanca, koja poslije izvjesnog vremena opkoljavaju parazitirane dlačice u zemlji, pripadaju saprofitičnoj gljivičnoj flori okoline ili potječu od primarnih parazita favusa. Negativna kultura na Sabouraud-ovom gojilištu (sa antibioticima) redovno je potvrđivala pretpostavku da se radilo o saprofitičnim gljivicama.

\*) U ovim ispitivanjima pružio je znatnu tehničku pomoć svojim preciznim radom abs. med. drug Nusret Velić, te mu se i na ovom mjestu posebno zahvaljujem.

Mnogo podesniji materijal za testiranje bile su dlačice *T. violaceuma*, jer su se promjene na sporama koje ispunjavaju inficiranu dlačicu mnogo lakše i pouzdanije mogle da uoče i ocjene, zato smo se i u našim kasnijim opitima pretežno služili tim materijalom.

Poznato je (Winogradsky<sup>15</sup>, Imšenecki<sup>16</sup> i dr.) da mikropopulacija zemlje pored mnogih drugih mikroorganizama sadrži bakterije i gljivice koje biokemijskom oksidacijom rastvaraju celulozu i njoj slične organske materije. Radi se na prvom mjestu o tako zvanim celuloznim bakterijama aerobne skupine i o saprofitičnim gljivicama, koje razgrađuju celulozu prvenstveno u šumskom zemljištu (aktinomicete to čine po Waksmanu<sup>1</sup> pretežno u suhom tlu, gdje prve dvije skupine ne mogu potpuno ispoljiti svoju aktivnost). Proces razgrađivanja celuloze spada u osnovne biološke pojave u zemlji koje omogućavaju kontinuitet životnog ciklusa u prirodi. Pod pretpostavkom da se takvi ili slični biokemijski procesi moguće odigravaju i prilikom raspadanja gljivičnih elemenata patogenih dermatofita u parazitiranoj dlaci kada dođu u kontakt sa zemljom i njenom mikropopulacijom (budući da celuloza i njoj slični kemijski spojevi čine važni sastavni dio grade gljivica<sup>17</sup>), izvršeno je u tom smislu niz eksperimenata.

Na prvom mjestu željeli smo da sa parazitiranim dlačicama, koje su stajale izvjesno vrijeme u nesterilnoj zemlji i u kojima je već nastupio proces raspadanja gljivičnih elemenata, izoliramo mikroorganizme koji moguće spadaju u skupinu razgrađivača celuloznih materija. To smo učinili sa dlačicama *T. violaceuma*, koje su stajale u nesterilnoj vlažnoj zemlji (z. br. 239) nekoliko dana (9, 12 i 24 dana). Dlačice izvađene iz zemlje saprali smo u sterilnoj destiliranoj vodi, zatim smrvili u sitnu kašu i presadili na podlogu čistog agara sa filter-papirom. Ovu podlogu preporuča Imšenecki<sup>16</sup> kao podesnu za rast celuloznih mikroorganizama i ona se i u našem radu (na mjesto siliko-žela) pokazala kao jednostavna i dobra\*).

Iz materijala dlake *T. violaceuma* (koja na Sabouraud-ovoj podlozi sa antibioticima po L. Georg<sup>14</sup> nije više dala pozitivnu kulturu primarnih patogenih dermatofita) izolirano je na agaru sa filter-papirom više različitih kolonija mikroorganizama, koje su dosta intenzivno rastvarale celulozu filter-papira na podlozi agara (sl. br. 4).

Poznata je činjenica da postoje znatne poteškoće da se izdvoje i diferenciraju bakterijske mješavine koje se razmnožavaju u sredini koja sadrži celulozu, ali to i nije bio cilj u ovim opitima nego samo da se utvrdi da li mikroorganizmi koji su izolirani uopće razgrađuju gljivične elemente. Zato i nismo išli za tim da ih sa sigurnošću determiniramo. Mikroorganizmi koje smo izolirali odgovaraju, po svom izgledu kulture

\*) Metodika: pripremi se podloga od 2% agara (koji se prethodno pod tekućom vodom dobro izapire 24 sata), i razlije u petrijeve šalice. Filter-papir izrezan u obliku kruga veličine petrijeve šalice sterilise se i stavi na pripremljeni sterilni agar i prelije hranljivim rastvorom (5—8 ccm), koji se prije toga prokuha. Kada je filter-papir potpuno upio ovaj rastvor, podloga se može upotrebiti.

Rastvor se priprema od standardne solucije (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,0; MgSO<sub>4</sub> — 0,5; FeSO<sub>4</sub> — 0,01; MNSO<sub>4</sub> — 0,01; destil. voda — 200,0) na taj način što se 20 gr standardne solucije doda rastvoru slijedećeg sastava: CaCO<sub>3</sub> : 0,2; KNO<sub>3</sub> : 0,3; destil. vode : 100,0; k tome se doda još 2% potaše (ca 60 kapi) do PH 7,2.

i mikroskopskoj morfologiji, celuloznim bakterijama koje Winogradsky<sup>15</sup> svrstava u rod *cellfasciula* odnosno *celvibria*. Iz dlake trihofitije koja je stajala u zemlji (br. 239) dobili smo dvije kulture (br. 239/1 i br. 239/2). Jedna je rasla prljavo-žuto-krem boje (štapici vretenastog oblika sa kromatičnim zrnom u sredini), koje Winogradsky<sup>15</sup> svrstava u *cellfasciule*, a druga žute boje (dugački tanki stapici, malo deblji u sredini) koja bi odgovarala celuloznim mikroorganizmima skupine *cellvibria*. Kod ponovnog zasađivanja skoro uvijek su se pojavljivali isti biotipi.

Što se tiče fiziološke klasifikacije (Waksman<sup>1</sup>) mikroorganizama koji razgrađuju dermatofite u zemlji, oni spadaju vrlo vjerovatno u skupinu heterotrofičnih, čiji je razvoj vezan za organsku materiju kao izvor energije (primarno za dekompoziciju celuloze, zatim ugljičnih hidrata, proteina i drugih nitrogenih materija).

Kada smo stavili parazitiranu dlaku *T. violaceuma* na kulturu izoliranih celuloznih bakterija, vidjeli smo nakon nekoliko dana da one stvaraju oko dlačice plašt mikroorganizama koji prodiru i u unutrašnjost same dlake, a spore u dlaci gube postepeno jasnoću konture i raspadaju se (sl. br. 5), iako znatno sporije i manje potpuno nego li u samoj zemlji; a u tome substratu vjerovatno djeluje istovremeno ili sukcesivno više raznih faktora nego li u navedenom laboratorijskom eksperimentu.

Analogne opite izvršili smo i sa kulturama koje smo izolirali iz zemlje (br. 160). One su manje ili više razgrađivale vlakanca filter-papira i gljivične elemente u inficiranoj dlaci *T. violaceuma*. Najintenzivnije su djelovale kolonije, koje po izgledu kulture i mikroskopskoj slici odgovaraju *cytophagima* Hutchinson (sluzavo žute mrlje, koje se sastoje od dugih, tankih i zašiljenih filamenata združenih sa okruglim tjelešcima u obliku koka). Međutim i u ovom opitu kulture nisu djelovale na gljivične parazite u inficiranoj dlaci tako intenzivno, kao kada su stavljene u nesterilnu zemlju. To se je manifestovalo i u tome što smo dobili pozitivnu kulturu primarnih patogenih dermatofita još poslije sedam dana neposrednog kontakta sa tim bakterijama.

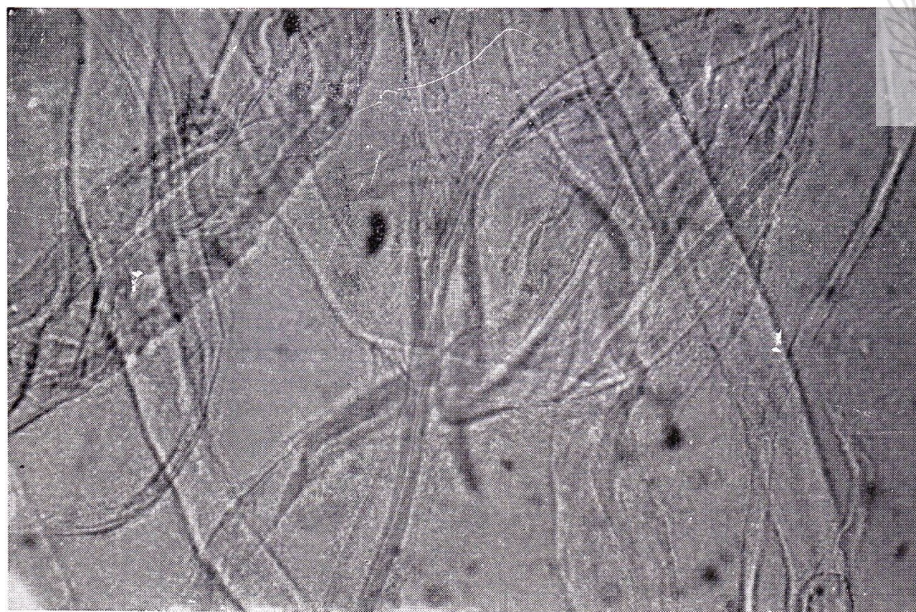
Pored ispitivanja mikroorganizama na specifičnim podlogama koje rastvaraju celulozu, ispitivali smo u jednoj skupini eksperimenata izolirane mikroorganizme (z. br. 160) na običnom agaru. Izolirano je 8 raznih sojeva bakterija koji su dobiveni neposredno iz zemlje. U ovoj fazi ispitivanja nije se išlo ni ovdje za tim da se i determiniraju svi mikroorganizmi, koji su izolirani iz zemlje, nego da se primarno utvrdi njihovo djelovanje na patogene dermatofite u parazitarnom životu kao fundamentalnoj biološkoj pojavi u prirodi. Zato smo izolirane mikroorganizme kojima smo eksperimentisali označavali laboratorijskim oznakama i utvrdili smo njihovu morfologiju i diferencijaciju po Gramu.

Od izraslih kultura napravljena je suspenzija sa sterilnom fiziološkom otopinom NaCl i nekoliko kapljica takve suspenzije stavljeno u udubljeno predmetno staklo u kojem su položene parazitirane dlačice trihofitije (*T. violaceum*). Preparati su zatim stavljeni u vlažnu komoru i ostavljeni pri sobnoj temperaturi. Od šest ispitanih sojeva, s obzirom na njihovo lizirajuće djelovanje na gljivične elemente u dlaci, pet sojeva (z. br. 160 — s. br. I, II, III, VII i VIII) je pokazivalo takvo svojstvo (sl. br. 6). Nakon 6—8 dana gljivični elementi u inficiranoj dlaci bili su ili kompletno lizirani ili su se samo još djelomično nazirale



Sl. 3

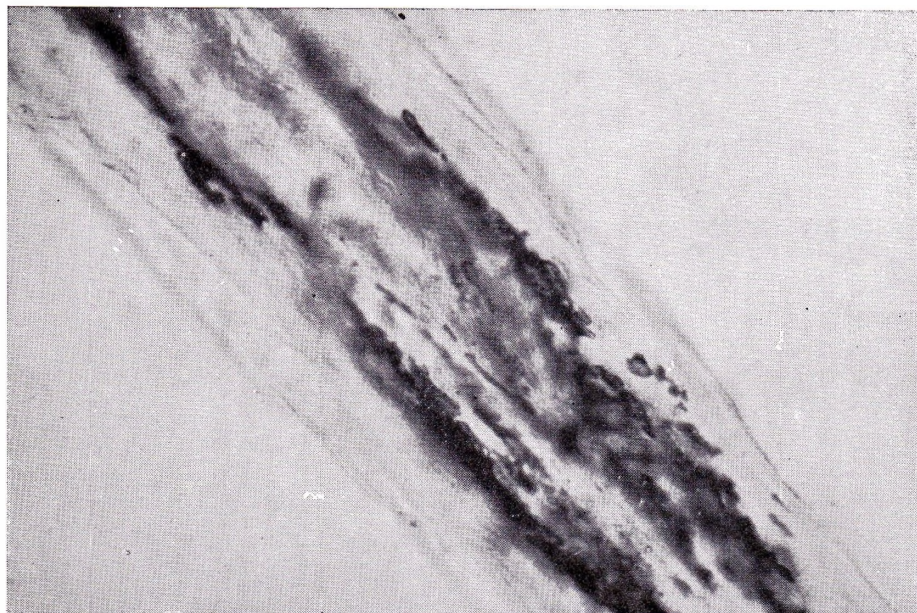
Cuticula dlake trihotifije ( $320\times$ ) sačuvana nakon 10 dana stajanja u zemlji (z. br. 180). Nativni preparat u KOH.



Sl. 4

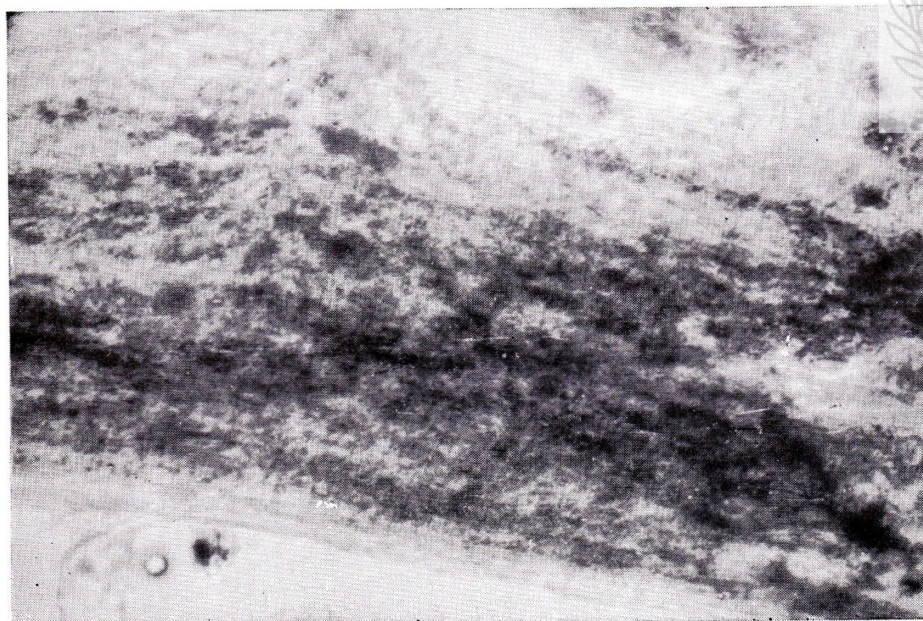
Rastvaranje vlakanca filter papira djelovanjem celuloznih bakterija ( $320\times$ ). Nativni preparat u KOH.





Sl. 5

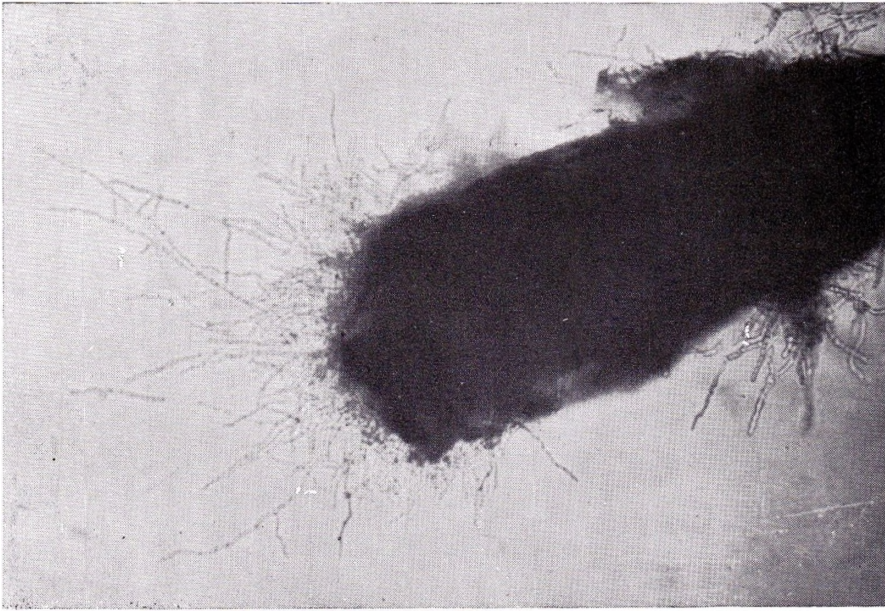
Dlaka trihofitije u kontaktu sa celuloznim bakterijama (z. br. 160/1) poslije sedam dana (320 ×). Nativni preparat u KOH.



Sl. 6

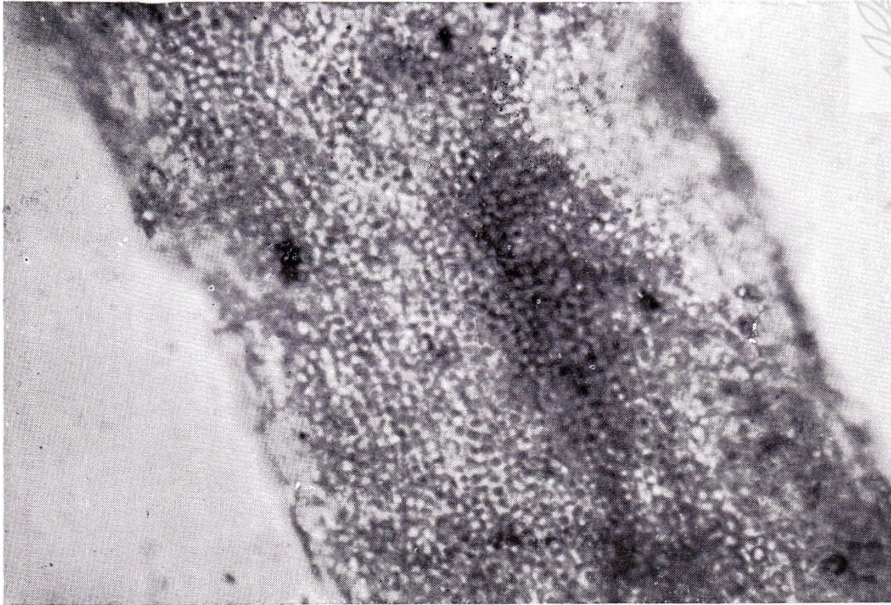
Dlaka trihofitije u suspenziji bakterija (Z. br. 160/II). Nakon pet dana nastupila je liza gljivičnih elemenata (320 ×). Nativni preprat u KOH.





Sl. 7

Dlake trihofitije u suspenziji bakterija (Z. br. 160/IV) sa germinacijom gljivičnih elemenata. Postoji simboza (320 ×). Nativni preparat u KOH.  
gljivičnih elemenata. Postoji simbioza (320 ×). Nativni preparat u KOH.



Sl. 8

Izgled dlake *T. violaceum* sterilizirane u autoklavu (320 ×).  
Nativni preparat u KOH.



nejasne konture spora. Samo jedan soj (z. br. 160 — s. br. IV) nije imao takvo djelovanje, šta više postojali su očiti znaci simbioze i parazitirani gljivični elementi pokazivali su vrlo bogatu germinaciju spora (sl. br. 7).

Dosta je očito da je opisani proces raspadanja gljivičnih elemenata u parazitiranoj dlaci vezan za neposrednu biološku funkciju živih mikroorganizama, i u steriliziranoj emulziji istih mikroorganizama izostalo je takvo djelovanje. Šta više sterilizirana emulzija pokazala se redovno kao podesna podloga za razvoj i proliferaciju dermatofita iz parazitirane dlake.

Zanimljiva su nadalje zapažanja sa tim sojevima kako djeluju u čistoj kulturi na parazite u inficiranoj dlaci *T. violaceuma*, vraćeni u svoj primarni substrat. U tu svrhu stavili smo parazitirane dlačice na nesterilnu zemlju (z. br. 210) u šest petrijevih šalica i prelili svaku sa jednom od suspenzija izolovanih kultura (z. br. 160 — s. br. I, II, III, IV, VII, VIII). Analogno smo učinili i sa steriliziranom zemljom (na 120 stepeni 2 sata). Kao kontrolni test stavili smo parazitirane dlačice u steriliziranu zemlju i prelili je sterilnom destiliranom vodom. U ovom eksperimentu promjene su observirane u toku osam dana.

Na prvom mjestu moglo se utvrditi da postoji dosta očita razlika između promjena u steriliziranoj i nesterilnoj zemlji. Gljivični elementi u dlačicama koje su stavljene na steriliziranu zemlju i prelivene jednom od suspenzija kulture pokazivali su u glavnom znatno sporiji proces raspadanja nego li u nesterilnoj zemlji, a kod nekih dlačica nastupila je u prva 2—3 dana i dosta živa germinacija spora, (naročito u zemlji prelivenom sa suspenzijom s. br. I) i tek kasnije nastupila je potpuna ili djelomična liza gljivičnih elemenata (s. br. II i IV). Oko parazitirane dlake razvio se obično omotač mikroorganizama i proces raspadanja išao je po pravilu od medularnog djela dlake prema perifernom. Imao se utisak kao da se mikroorganizmi prilagođuju strukturi dlake.

Razgrađivanje gljivičnih elemenata u prirodi vjerovatno se i ne događa djelovanjem samo jedne vrste mikroorganizama nego se taj proces odvija po svoj prilici simbiotičnim djelovanjem više vrsta mikroorganizama, te se može pretpostaviti da je to i razlog zbog čega su zapažene razlike u steriliziranoj i nesterilnoj zemlji.

U nesterilnoj zemlji proces raspadanja gljivičnih elemenata u parazitiranim dlakama koje su bile prelivene jednom od suspenzije kulture (s. br. I, II, III, IV i VIII) bio je potpun u toku osam dana, a u zemlji samo sa suspenzijom s. br. VII taj proces u istom vremenskom razdoblju razvio se samo djelomično.

Upoređujući rezultate koje smo dobili sa suspenzijom mikroorganizama u fiziološkoj otopini soli u njihovom primarnom substratu (zemlji, odakle su izolirani) uz djelovanje ostale mikropopulacije u njoj i bez nje (to jest u steriliziranoj zemlji), vidimo da postoje u tom pogledu izvjesne razlike. U nesterilnoj zemlji uz autohtonu mikropopulaciju proces raspadanja spora, odvijao se manje više kao u običnoj nesterilnoj zemlji, osim u zemlji sa suspenzijom kulture s. br. VII gdje je bio očito usporen (vjerovatno da je tu bila u pitanju poremećena ravnoteža međusobnih bioloških odnosa mikropopulacije zbog nastale hipertrofije jedne vrste mikroorganizama). S druge strane kod mikroorganizama koji u čistoj suspenziji nisu pokazivali uopće lizirajuće

djelovanje na gljivične elemente (s. br. IV), nego su čak stimulirali njihovu germinaciju, postojalo je takvo djelovanje u njihovom primarnom substratu — zemlji i to, ne samo u nesterilnoj, gdje postoji kompleksno djelovanje raznolikih mikroorganizama, nego i u steriliziranoj zemlji, iako u manjem intenzitetu.

U kontrolnoj nesterilnoj zemlji odvijao se proces raspadanja gljivičnih elemenata kako je to obično zapaženo pod laboratorijskim uslovima i kako je već opisano. Međutim mnogo zanimljiviji i značajniji rezultati pokazali su se u kontrolnom testu u steriliziranoj zemlji (120 stepeni Cel. — 2 sata). U prvim danima ostale su spore u dlaci koja je stavljena u steriliziranu zemlju dobro sačuvane, ali već nekoliko dana kasnije nastupilo je i ovdje njihovo raspadanje. To se naročito očitovalo kada su se oko dlake pojavile veće skupine mikroorganizama koje su konačno opkolile cijelu dlaku. Tada se po pravilu i spore nisu više primjećivale u parazitiranoj dlaci. Logično je da pretpostavimo, s obzirom da se radilo o parazitiranim dlakama u sterilnom substratu (sterilizirana zemlja prelivena sterilnom destiliranom vodom), da su u pitanju mikroorganizmi koji potječu od autohtone saprofitične flore koja je postojala na patološkom materijalu još prije nego je stavljen u sterilnu zemlju, i mikroorganizmi, koji su se u tim uslovima mogli da razmnože, djelovali su razorno na gljivične parazite u dlaci. O toj pojavi, koja izgleda da bi mogla biti od važnosti i za samu patogenezu gljivične infekcije, biće još kasnije izneseno više podataka.

U daljim istraživanjima o agensima koji dolaze u obzir za razgrađivanje patogenih dermatofita u parazitiranoj dlaci u zemlji izvršeni su i opiti koji bi moguće mogli da odgovore i na pitanje da li se ti agensi nalaze u zemlji kao produkti metabolizma zemljine mikropopulacije, da li se radi o kemijsko-fizičkim osebina samoga substrata, ili se radi, kako do sada navedeni rezultati upućuju, o neposrednoj biokemijskoj funkciji izvjesnih mikroorganizama, koji (vjerovatno putem djelovanja enzima) razgrađuju organsku materiju dermatofita.

U tome pogledu ispitano je osam raznih primjeraka zemlje (z. br. 153, 160, 166, 177, 178, 179, 180 i 210), od kojih su pripremljeni ekstrakti u alkoholu, eteru, destiliranoj vodi i fiziološkoj otopini NaCl da se vidi kako djeluju na gljivične elemente u parazitiranoj dlaci.\*)

U ekstraktima alkohola i etera gljivični elementi su ostali nepromjenjeni i poslije 13 dana. Oni su zadržali potpuno nepromjenjenu morfološku strukturu, ali kulture na Sabouraud-ovom maltoze gojilištu kako testiranih tako i kontrolnih dlačica ostale su negativne.

Drugačije je bilo u ekstraktima destilirane vode i fiziološke otopine soli. Tu su gljivični elementi u parazitiranim dlačicama pokazivali analogne promjene kao i u nesterilnoj zemlji, tek što je proces raspadanja bio usporen u nekim opitima i do 18 dana do potpune lize. U tom opitu moglo se po pravilu vidjeti oko testiranih dlačica već nakon nekoliko dana vrlo obilna saprofitična mikroflora (sa pretežno saprofitičnim

\*) Metodika: 5 gr zemlje stavljeno je u 15 ccm tečnosti a) 75% alkohola; b) etera; c) sterilne destilirane vode i d) sterilne fiziološke otopine kuhinjske soli). Mješavina se dobro promućka i ostavi 24 sata da stoji. Nakon taloženja zemlje ispipetira se gornji sloj tečnosti i u nju stave parazitirane dlačice. Kontrolne dlačice stavljene su u čiste tečnosti.

gljivicama), a sama, inače dobro sačuvana, dlačica zadržavala je manje ili više homogenu granuliranu masu u kojoj se nisu više razabirali morfološki elementi parazitiranih primarnih gljivica. I ovdje, kao i u nesterilnoj zemlji, proces raspadanja dermatofita u dlaci nije bio uvijek jednoličan. U takvim slučajevima oni dijelovi parazitirane dlačice, koji su još bili opkoljeni preostalim skvamama sa vlasišta, zadržali su duže vremena morfološke elemente parazita, kao da su skvame u izvjesnom stepenu štatile neposredno djelovanje saprofitičnih mikroorganizama.

Da se radi o neposrednom biokemijskom djelovanju živih mikroorganizama koji rastvaraju gljivične elemente u inficiranoj dlaci, govore i rezultati opita koji smo izvršili sa ekstraktom zemlje u destiliranoj vodi (z. br. 153) kada je filtriran kroz Seitzov filter. Parazitirane dlačice trihofitije (*T. violaceum*) u takvoj sredini zadržale su dobro sačuvane morfološke elemente gljivica i do 20 dana i tek kasnije, kada je došlo do onečišćenja miljea banalnim saprofitičnim mikroorganizmima, nastupile su postepeno promjene analogno gore opisanim.

Rezultati eksperimenata koji su izneseni dovoljno su karakteristični i stalni, da se može pretpostaviti da mikroorganizmi (koji izgleda da su specifične prirode) koji razgrađuju gljivične parazite u dlaci djeluju na njih samo u neposrednom kontaktu metabolizmom upućenim na degradaciju materije patogenih dermatofita, vjerovatno pomoću izvjesnih (fungilitičnih) fermenta, čija aktivnost zavisi od substrata, temperature i drugih faktora okoline.

Sasvim je drugačiji mehanizam djelovanja na parazitiranu dlaku keratinofilske saprofitične mikropopulacije zemlje, koja putem preteolitičnih enzima rastvara keratinsku substancu (Stahl<sup>18</sup>) sa svojim pretstavnikom *M. gypseum*, što će biti izneseno na drugome mjestu (Grin i Ožegović<sup>20</sup>).

Kada su već bila završena ova ispitivanja, upoznali smo se sa vrlo zanimljivim i značajnim radom kand. bioloških nauka Z. G. Stepaniščeva<sup>19</sup> iz Centralnog kožno-vener. instituta u Moskvi, koji također obrađuje sudbinu patogenih dermatofita stavljenih u zemlju sa patološkim materijalom u kojem parazitiraju. Stepaniščeva je ispitivala veći broj patogenih dermatofita od oboljelih ljudi i životinja (među kojima nije i *T. violaceum* koji smo mi najčešće testirali) i zaključak, do kojega je došla na osnovu rezultata inokuliranih zamoraca sa patološkim materijalom koji je stajao izvjesno vrijeme u zemlji, da zemlja ima »sterilizirajuće« svojstvo s obzirom na dermatofite, podudara se u osnovi sa našim rezultatima. Stepaniščeva se zadržala samo na inokulacijama na zamorcima i nije ulazila u mikroskopsku analizu promjena patološkog materijala niti u mikrobiološku analizu substrata i njihovog međusobnog odnosa — što je bio glavni predmet ovih ispitivanja — i služila se drugom metodikom, ali fakat, da su osnovna zapažanja u pogledu upliva zemlje (sterilne i nesterilne) na virulentnost izvjesnih patogenih dermatofita u biti jednaka, potvrđuje da se nesumnjivo radi o općoj i fundamentalnoj pojavi u prirodi.

Drugo je pitanje da li ova pojava isključuje postojanje patogenih dermatofita u slobodnoj prirodi, primarno u zemlji. Sigurno je da niz gljivica koje su patogene za čovjeka ili životinju mogu vegetirati kao saprofiti u zemlji (Emmons<sup>4</sup>, <sup>5</sup>, Ajello<sup>6</sup>, <sup>7</sup>, <sup>8</sup>, i dr.), ali od patogenih dermatofita do sada je to sa sigurnošću utvrđeno samo za *M. gypseum* (Ajello<sup>6</sup>, <sup>7</sup>, <sup>8</sup>, Gordon<sup>9</sup>, Grin i Ožegović<sup>10</sup> i dr.) i *T. mentagrophytes* (Vanbreuseghem<sup>20</sup>). Svi pokušaji da se izoliraju iz zemlje one vrste dermatofita koji su već potpuno adaptirani na parazitarni život čovjeka, kao naprimjer *T. violaceum* i *T. schoenleini*, ostali su bezuspješni, iako je uspjelo da se sa raznih neživih substrata izoliraju neki dermatofiti (*Epiderm. floccosum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. verrucosum*).

Međutim u ocjeni upliva zemlje na patogene dermatofite mora se imati u vidu, u vezi sa iznesenim rezultatima, da se tu radi o gljivicama koje se nalaze u parazitarnom životu u patološkom materijalu i da ne moraju biti njihovi odnosi prema mikropopulaciji zemlje jednaki kao kad vegetiraju kao saprofiti u njoj. To je utvrđeno za *M. gypseum* (Grin i Ožegović<sup>10</sup>) i ne bi bila isključena mogućnost da postoje analogni odnosi i kod nekih drugih patogenih dermatofita. Na osnovu naših dosadašnjih epidemioloških zapažanja i eksperimenata sa čistim kulturama u nesterilnoj zemlji vrlo je malo vjerovatno da potpuno prilagođene vrste dermatofita na parazitizam u humanom keratinskom substratu imaju sposobnost da se pojavljuju i održe kao saprofiti u zemlji kao svom prirodnom obitavalištu, kao što je slučaj za neke druge patogene gljivice (*Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, *Allesheria boydii*). Kada govorimo o prirodnom obitavalištu patogenih dermatofita u zemlji kao rezervoaru parazita, treba razlikovati da li oni mogu samo da prežive u određenim povoljnim uslovima izvjesno vrijeme u patološkom materijalu (kao na primjer laboratorijski čuvani materijal ili odbačeni patološki materijal sa oboljelog čovjeka ili životinje koji se zadržava na raznim substratima okoline) ili imaju sposobnost vegetacije u zemlji kao saprofiti. U tome pogledu značajna su opća zapažanja Garretta<sup>21</sup> da sposobnost saprofitičnog razvoja jedne određene vrste gljivica stoji često u obrnutom donosu prema njezinoj parazitarnoj specifičnosti kao genetski determinirane karakteristike. Zato su na primjer *T. violaceum* i slični patogeni dermatofiti, koji su već stekli, može se reći, punu parazitarnu i genetski determiniranu specifičnost za humani organizam, lako mogli izgubiti sposobnost samostalnog saprofitičnog života u zemlji. To potvrđuju i rezultati dosadašnjih ispitivanja.

Posebna skupina opita odnosila se na stanje parazitirane dlake u steriliziranoj zemlji, jer smo zapazili da se i u sterilnom vlažnom miljeu pojavljuje pod izvjesnim uslovima raspadanje gljivičnih elemenata u parazitarnoj dlaci.

Na zemlju koja je u petrijevoj šalici sterilizirana vrućim zrakom na 120 stepeni Cel. dva sata (dva puta) i nakvašena sterilnom destiliranom vodom stavili smo dlačice *T. violaceuma* i ostavili pri sobnoj temperaturi. Ispitali smo u tome pogledu šest uzoraka zemljišta (z. br. 94, 102, 160, 166, 210, 239).

Općenito se može reći da je raspadanje spora u parazitiranoj dlaci nastupalo i u steriliziranoj zemlji po pravilu sporije, nego li u nesterilnoj zemlji, iako je bilo slučajeva (z. br. 94 i 102) gdje nije bilo takve razlike. Prvih dana mogla se zapaziti kod nekih dlačica i germinacija spora, ali nismo vidjeli da je došlo do punog razvoja saprofitične kulture. Raspadanje gljivičnih elemenata u dlaci razvijalo se vrlo nejednolično i pozitivne kulture, koje su nesumnjivo dokazivale njihovu vitalnost, smo dobili u nekim primjercima (usitnjavanjem dlačice u obliku kaše<sup>25</sup> i presađivanjem na Sabouraud maltoze agar sa actidionom) i poslije 12 dana stajanja dlake u steriliziranoj zemlji, a ponekad i kasnije. U prosjeku se to dešavalo poslije 6—8 dana.

Međutim karakteristično je bilo da se proces raspadanja gljivičnih elemenata u dlaci najprije mogao zapaziti na onim mjestima na kojima je postojala obilnija mikrobna flora, koja je u kasnijem razvoju prekrila dlačicu cijelim omotačem i tada je obično i proces raspadanja gljivičnih elemenata u parazitiranoj dlaci bio potpun.

Pošto se radilo o steriliziranom substratu a jedino dlačica koja je stavljena na zemlju nije bila sterilna, moramo pretpostaviti da saprofitična flora koja se pojavljivala oko parazitirane dlačice potječe od autohtonih saprofitičnih banalnih mikroorganizama, koji su sa parazitiranom dlakom dospjeli u steriliziranu zemlju, ondje našli povoljne uslove za svoj razvoj i prouzrokovale raspadanje gljivičnih elemenata kao što se događa u nesterilnoj zemlji pod uplivom njezine mikropopulacije. Moglo bi se također pretpostaviti da je u pitanju onečišćenje banalnim mikroorganizmima iz zraka prilikom pripremanja samog opita, ali se čini da je takva pretpostavka od sekundarne važnosti.

Mogućnost upliva autohtone mikroflore sa kože, odnosno dlake, na gljivične parazite ima oslonca i u rezultatima istraživanja Balabanova<sup>22, 23</sup>, koji opisuje antagonističko djelovanje (antibiotikotropisam) saprofitičnih mikroorganizama izoliranih sa kože prema dermatofitima u vezi sa mehanizmom mikrobiološke odbrane kože.

U tome smislu nedavno je i Heymer<sup>24</sup> objavio svoja ispitivanja o izolaciji streptomyces coelicolor sa kože čovjeka, koji intenzivno inhibira niz patogenih hyphomyceta i kvasnica. Ovaj streptomyces, koji ima antibiotično djelovanje i vegetira saprofitično na koži, vjerovatno predstavlja značajan faktor u održavanju mikrobiološke ravnoteže na koži čovjeka. Tako se može shvatiti i uloga bact. subtilis i alcaligenes koji je izoliran sa kože i koji ispoljava izrazito inhibitorno djelovanje prema nekim dermatofitima pod laboratorijskim uslovima (Chambers i Weidman<sup>2, 23</sup>).

U daljnoj analizi toga problema smatrali smo potrebnim da ispitamo kako će se ponašati parazitirana dlačica (u steriliziranoj zemlji) ako prethodno uništimo saprofitične mikrobe koji na njoj i okolnim skvamama eventualno vegetiraju. To smo pokušali učiniti na taj način, što smo parazitirane dlačice T. violaceuma prethodno stavili na 24—48 sati u 75% alkohol ili u otopinu antibiotika (penicilin, streptomycin\*) ili proveli sterilizaciju u autoklavu na 120 stepeni Cel. za vrijeme od jednog sata.

\* 20 jed. penicil. i 40 jed. streptom. na 1 ccm.

Ovi su opiti nedvojbeno pokazali da su u dlaci trihofitije na kojoj je saprofitična flora eliminisana i kada se ona stavi u steriliziranu vlažnu zemlju, gljivični elementi ostaju morfološki intaktni (sl. br. 8, 9, 10), tako dugo dok substrat sadrži svoju sterilnost. U nesterilnoj zemlji odvija se proces lize gljivičnih elemenata kao kada se stavi u zemlju parazitirana nativna dlačica (sl. br. 11, 12).

Prema tome je jasno da razgrađivanje, odnosno liza gljivičnih elemenata u parazitiranim dlakama, zavisi o biokemijskom djelovanju saprofitičnih mikroorganizama koji obitavaju u zemlji ili saprofitiraju kao autohtona mikroflora na samoj dlaci ili okolini. Posljednja mogućnost se pokazala kao tačna i u ovim opitima, jer u parazitiranim dlačicama trihofitije, koje nisu bile potpuno sterilne ili gdje je substrat bio kontaminiran, došlo je u steriliziranoj zemlji do degradacije gljivičnih elemenata prema intenzitetu i razvoju saprofitične flore na samoj dlaci. U takvom slučaju proces lize bio je na početku sasvim nejednoličan i usko vezan za postojanje saprofitične mikroflore oko dlake odnosno u samoj dlaci. Na nekim mjestima u takvom slučaju mikrobi su bili poredani u obliku lanca, kao da se prilagođuju u svom nadiranjju strukturi rasporeda gljivičnih elemenata (sl. br. 13) u dlaci, dok poslije izvjesnog vremena ne nastupi potpuno njihovo raspadanje u homogenu granuliranu masu.

## DISKUSIJA

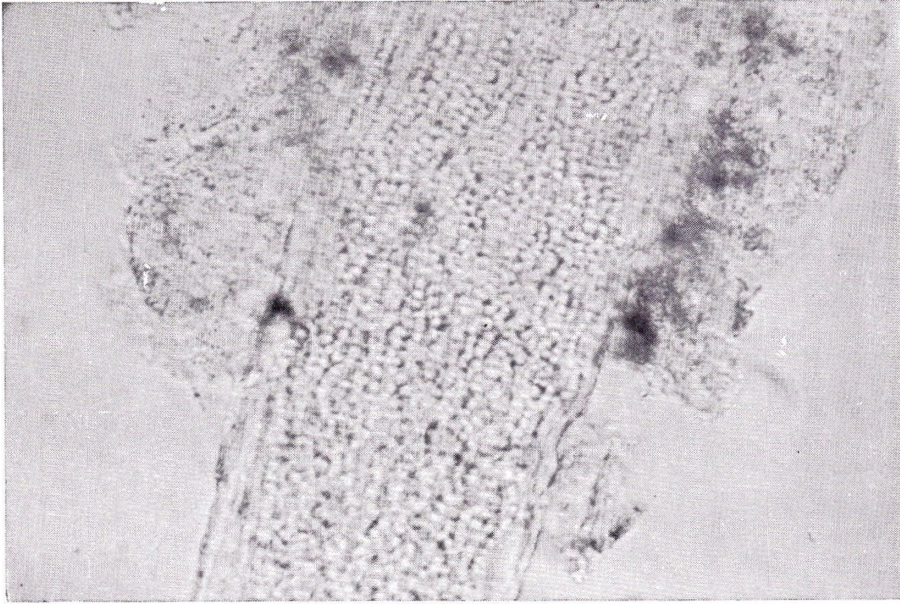
Izvršena su ispitivanja o uplivu zemlje i njene mikropopulacije na patogene dermatofite u patološkom materijalu. Kao test služile su dlačice trihofitije, najčešće *T. violaceum*.

Ta su istraživanja pokazala da parazitirane dlačice stavljene u vlažnu zemlju pod laboratorijskim i prirodnim uslovima zadržavaju svoj oblik dosta dugo, ali da gljivični elementi u njoj postepeno gube svoju konturu, lome slabije svjetlo dok se konačno potpuno ne raspadnu u homogenu granuliranu masu. Keratinska supstanca dlake ostaje kod toga pošteđena i cuticula zadržava dugo vremena svoju primarnu strukturu.

Proces degradacije gljivičnih elemenata ne odvija se uvijek u istom vremenskom razdoblju i događa se ponekad da parazitirane gljivice u dlaci prvih dana boravka u zemlji pokazuju i rudimentarnu germinaciju spora, ali nije dolazilo do punog saprofitičnog razvoja zbog antagonističkog djelovanja mikropopulacije zemlje.

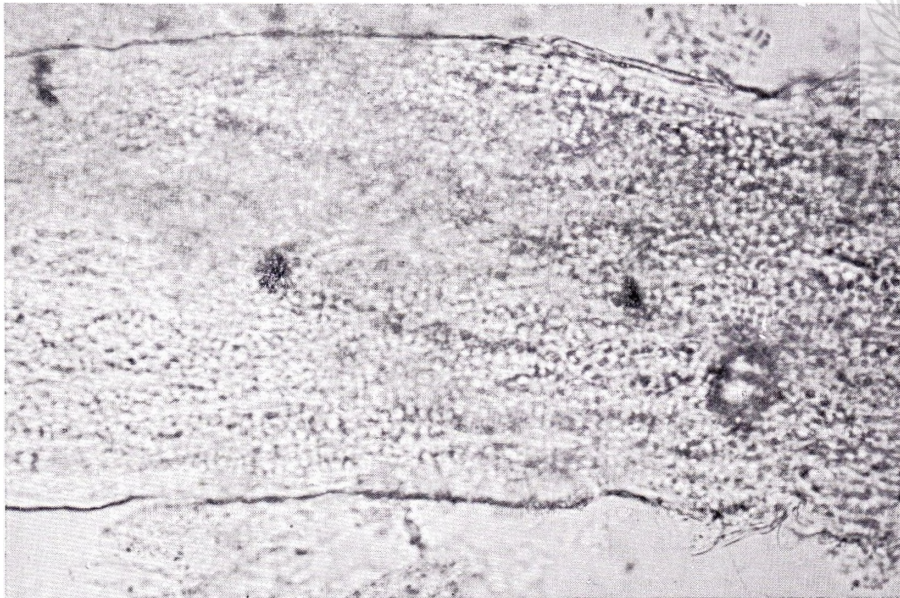
Raspadanje odnosno liza parazitiranih gljivica *T. violaceum* u dlaci nastupa u nesterilnoj vlažnoj zemlji u prosjeku za 6—8 dana, a katkada i ranije, dok je rijetko taj proces trajao duže vremena, kao na primjer kod niske temperature. Međutim, vitalnost gljivica u parazitiranoj dlaci gubi se po pravilu prije nego što nastupe njihove morfološke promjene, što se moglo utvrditi negativnim nalazom kulture na Sabouraud-ovom maltoze agaru sa dodatkom antibiotika.

Ova ispitivanja vršena su sa 18 uzoraka zemlje raznog porijekla i rezultati su bili manje više indentični.



Sl. 9

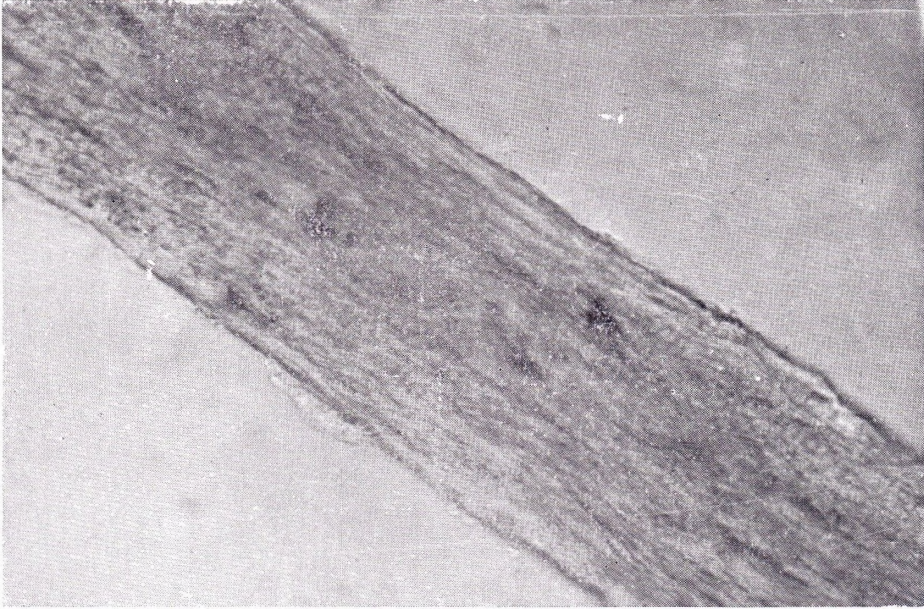
Sterilizirana dlaka *T. violaceum* iz sterilizirane vlažne zemlje poslije sedam dana. Gljivični elementi ostali su intaktni. Nativni preparat u KOH.



Sl. 10

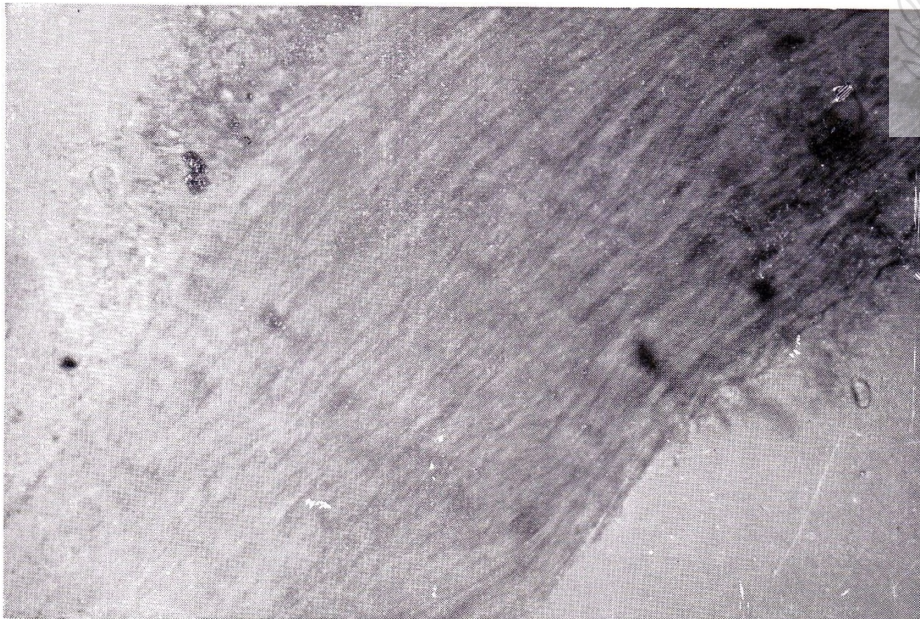
Sterilizirana dlaka *T. violaceum* iz sterilizirane vlažne zemlje poslije osamnaest dana. Spore sačuvane. Nativni preparat u KOH.





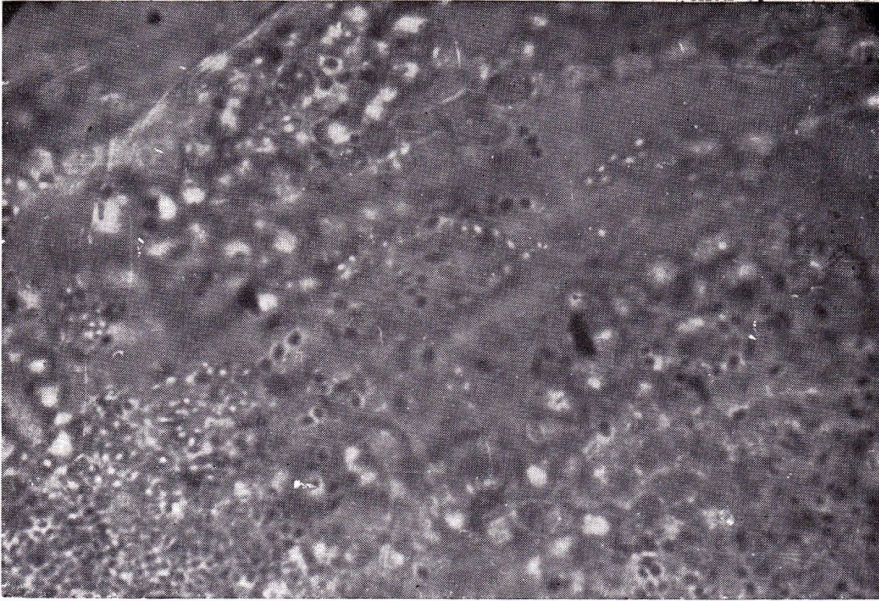
Sl. 11

Sterilizirana dlaka *T. violaceuma* iz nesterilne vlažne zemlje poslije dva dana. Spore dobrim dijelom lizirane. Nativni preparat u KOH.



Sl. 12

Sterilizirana dlaka *T. violaceum* iz nesterilne vlažne zemlje poslije devet dana. Potpuna liza gljivičnih elemenata. Nativni preparat u KOH.



Sl. 13

Sterilizirana dlaka *T. violaceum* iz sterilizirane vlažne zemlje koja je kasnije kontaminirana saprofitičnom florom. Uz sačuvane spore u lancima postoje skupine i lanci saprofitičnih mikroorganizama i gljivice se raspadaju (inerzija 800 ×). Nativni preparat u KOH.



Daljnja ispitivanja išla su za tim da se utvrdi koji su faktori u pitanju što nastupa liza gljivica u patološkom materijalu kada dolazi u kontakt sa zemljom.

U tu svrhu pokušano je da se izoliraju mikroorganizmi iz parazitiranih dlačica koje su izvjesno vrijeme stajale u zemlji i u kojima je već nastupilo raspadanje gljivica. Niz eksperimenata odnosilo se na izolaciju mikroorganizama koji razgrađuju celulozu kao osnovnu biološku pojavu u zemlji. Na podlozi sa filter-papirom (po Imšenecki-u) izolirano je više različitih kolonija mikroorganizama koji su dosta intenzivno rastvarali celulozu filter-papira. Oni odgovaraju, po svom izgledu i mikroskopskoj morfologiji, celuloznim bakterijama koje Winogradsky svrstava u rod *cellfascicula* odnosno *cellvibria*.

Druga ispitivanja odnosila se na mikroorganizme koji su izolirani na običnim podlogama. Izolirano je osam raznih sojeva (koji za sada još nisu determinirani), od kojih je pet pokazalo lizirajuće djelovanje na gljivice u inficiranoj dlaci, a jedan soj pokazivao je očite znake simbioze sa bogatom saprofitičnom germinacijom. Djelovanje ovih izoliranih mikroorganizama bilo je intenzivnije u njihovom primarnom substratu, to jest zemlji.

Čiste kulture izoliranih mikroorganizama djelovale su intenzivnije u nesterilnoj nego u steriliziranoj zemlji, vjerovatno zbog simbiotičnog djelovanja više vrsta mikroorganizama na razgrađivanje gljivičnih elemenata u prirodi.

Od velikog su interesa zapažnja koja se odnose na kontrolne testove u steriliziranoj zemlji. Na početku ostaju u parazitiranim dlakama *T. violaceuma*, koje su stavljene u steriliziranu zemlju prelivenu sterilnom destiliranom vodom, spore dobro sačuvane, ali nekoliko dana kasnije nastupa i ovdje njihovo raspadanje. U takvom slučaju oko dlake su se pojavile veće skupine mikroorganizama za koje moramo pretpostaviti da potječu od autohtone saprofitične flore koja je postojala na patološkom materijalu prije nego je stavljena u steriliziranu zemlju i da su ti mikroorganizmi u sterilnoj zemlji degradirali porazitirane gljivice u dlaci.

U tom smislu izvršena su daljnja ispitivanja koja su trebala da pokažu da li se radi o kemijsko-fizičkim osebinaama samog substrata koji djeluje na razgrađivanje patogenih dermatofita u parazitiranoj dlaci u zemlji, ili se radi o neposrednoj biokemijskoj funkciji izvjesnih mikroorganizama koji razgrađuju organsku materiju dermatofita.

U ekstraktima nesterilne zemlje u destiliranoj vodi ili fiziološkoj otopini NaCl, dermatofiti u parazitiranim dlačicama pokazivali su analogne promjene kao i u samoj nesterilnoj zemlji; međutim takvo djelovanje je izostalo kada je ekstrakt prošao kroz Seitzov filter. U ekstraktima alkohola ili etera promjene su također izostale.

Postignuti rezultati izvršenih eksperimenata tako su karakteristični i stalni da se može pretpostaviti da razgrađivanje gljivičnih parazita u inficiranoj dlaci nastaje pod uplivom neposrednog kontakta sa mikroorganizmima, koji svojim metabolizmom vrše fungilitično djelovanje u patološkom materijalu, i da se radi o fundamentalnoj pojavi u prirodi.

To potvrđuje i činjenica u pogledu fungilitičnog djelovanja autohtone saprofitične banalne flore koja se nalazi na samom patološkom materijalu (parazitiranoj dlaci). Kada se naime uništi saprofitična flora prethodnom sterilizacijom patološkog materijala i on stavi u steriliziranu zemlju, gljivice ostaju u dlaci morfološki intaktne, dok substrat zadrži svoju sterilnost. U nesterilnoj zemlji sterilizirane dlačice *T. violaceuma* ponašaju se kao kada se stavi u zemlju svježā parazitirana dlačica, te dolazi do potpunog raspadanja gljivica za nekoliko dana.

Drugačiji je mehanizam djelovanja na parazitiranu dlaku keratinske saprofitične mikropopulacije zemlje koja putem proteolitičnih enzima rastvara samo keratinsku substancu, a ne i parazite u dlaci, što će biti izneseno na drugom mjestu.

Što se tiče pitanja saprofitičnog života patogenih dermatofita u prirodi, odnosno u zemlji, prema iznesenim rezultatima malo je vjerovatno da patogeni dermatofiti, kao *T. violaceum*, koji su stekli tako reći punu parazitarnu i genetski determiniranu specifičnost za keratinski substrat humanog organizma, imaju i sposobnost samostalnog saprofitičnog života u zemlji.

Opisani rezultati, koji pokazuju evidentno da mikropopulacija zemlje i mikroorganizmi saprofitične flore mogu da razgrađuju dermatofite u patološkom materijalu, mogu da posluže kao osnova za mnoga nerješena pitanja u epidemiologiji i patogenezi humane i animalne infekcije patogenim dermatofitima.

## **ERNEST I. GRIN, INFLUENCE OF SOIL AND ITS MICROPOPULATION ON PATHOGENIC DERMATOPHYTES IN PARASITIZED HAIR**

### **S u m m a r y**

Researches and experiments were made designed to test the influence of soil and its micropopulation on pathogenic dermatophytes in pathological material. For these tests mostly were used hairs infected by *Trichophyton violaceum*.

The results have shown that parasitized hairs deposited in moistened soil, under laboratory and natural conditions, retain their shape rather a long time, while the fungal elements in the hairs gradually lose their shape and refract light less intense until, in the end, they completely break up into a homogenous granular mass. The keratin substance of

the hair remains unaffected, the cuticle retaining its primary structure for a longer time.

The process of degradation of fungous elements does not always run its course within the same period, for it sometimes may occur that during the first few days of their stay in the soil the parasitized fungi in the hair tend to show signs of a rudimentary germination of spores without, however, reaching full saprophytic growth owing to the antagonistic action of the micropopulation present in the soil.

The lysis of the parasitized fungi of *T. violaceum* in the hair occurs on an average within 6—8 days, sometimes even sooner; the process seldom takes longer unless the temperature is low. However, the vitality of the fungus in a parasitized hair as a rule tends to disappear before the appearance of morphological changes, as shown by tests which proved negative cultures on Sabouraud's maltose agar with an addition of antibiotics.

Eighteen specimens of soil were used in these tests, and the results were more or less identical.

Further tests were made with the object of establishing the factors responsible for the lysis of the fungus in pathological material when brought into contact with soil.

For this reason, experiments were made to isolate the microorganisms in parasitized hairs that were kept in soil for some time and in which the decomposition of fungi had already taken place. One series of experiments was concerned with the isolation of microorganisms that decompose cellulose as the basic biological manifestation in soil. On a culture-medium with filter-paper (after Imšenecki) several different colonies of microorganisms were isolated, which were found to decompose the cellulose of the filter-paper fairly intensively. In their appearance and microscopic morphology, these correspond to the cellulose bacteria that have been classified by Winogradsky as belonging to the genus of cell-fascicules or cellvibrions.

Another series of tests was concerned with microorganisms that were isolated on conventional culture-media. Eight different (as yet undetermined) strains were isolated, five of which revealed a lysing action on the dermatophytes in infected hairs (one of the strains showing clear signs of symbiosis stimulating germination of the spores). The action of these isolated microorganisms was more intense in their primary substratum, viz. in soil.

The action of pure cultures of isolated microorganisms proved more intense in non-sterile than in sterilized soils, presumably due to the symbiotic action of several species of microorganisms on decomposition of fungous elements in nature.

Of considerable interest are the observations relative to control tests in sterilized soil. In the beginning, the spores remain well conserved in parasitized hairs of *T. violaceum*, deposited into sterilized soil (moistened with sterile water), a few days later, however, they begin to show signs of decomposition. In these instances, around the hair there appeared clusters of microorganisms which must have originated in the autochthonous saprophytic flora that was present in the pathological material before being deposited into sterilized soil.

Tho this effect, further tests were made in order to ascertain whether it was the chemico-physical properties of the substratum itself that were concerned, with the latter having an effect on the decomposing of pathogenic dermatophytes in the parasitized hair in soil, or whether it was a direct biochemical function of certain microorganisms that digest the organic material of dermatophytes.

In extracts of non-sterile soil in distilled water or a physiological solution of NaCl, the dermatophytes in parasitized hairs showed changes analogous to those in non-sterile soil alone, but such action was absent when the extract had passed through a Seitz filter. Nor were there any changes to be observed in alcohol or ether extracts.

The results of these experiments are characteristic and definite enough for the assumption to be made that the decomposing of fungal parasites is brought about under the influence of direct contact with microorganisms which, through their metabolism, are responsible for the fungilic action on pathologic material, and that therefore we are concerned here with one of fundamental phenomena in the nature.

This is confirmed by the fact concerning the fungilic action of the autochthonous saprophytic banal flora that is present in the pathologic material itself (on parasitized hair). For when the saprophytic flora has been destroyed by sterilization and the pathological material deposited into sterilized soil, the fungal elements in the hair remain morphologically intact, while the substratum retains to be sterile. In non-sterile soils the sterilized hairs of *T. violaceum* behave in the same way as fresh parasitized hairs do when deposited into soil; the decomposition of the fungus occurs a few days later.

Of a different kind is the mechanism of action on a parasitized hair of the keratinophilic saprophytic micropopulation of soil (e. g. *M. gypseum*) which by means of proteolytic enzymes decomposes not the parasites in the hair but only the keratinous substance — a matter which will be dealt with in another article.

As regards the question of saprophytic life of pathogenic dermatophytes in nature, i. e. in soil, it can hardly be assumed, according to the results recorded, that pathogenic dermatophytes like *T. violaceum*

— which have reached almost full parasitic and genetically determined specificity for the keratinous substrate of human organism might also possess the ability of independent saprophytic life in soil.

The results recorded above, which clearly show that the micro-population of soil and the microorganisms of saprophytic flora in pathological material are able to decompose the dermatophytes, may well serve as a basis for the solution of a number of problems relating to epidemiology and pathogenesis of human and animal infection with pathogenic dermatophytes.

### L I T E R A T U R A

1. Waksman S. A.: Soil Microbiology, N. Y. 1952.
2. Cit. po Wolf, T. F.: Chap. 7 u: Biology of Pathogenic Fungi, Edit. Nickerson, W. J., Waltham, Moss. 1947.
3. Eltig, B.: Arch. f. exp. Dermat. Bd. 207, 1958.
4. Emmons, C. W.: Publ. Health. Reports, Vol. 64, № 28:892, 1949.
5. Emmons, C. W.: Publ. Health. Reports, Vol. 57, № 4:109, 1942.
6. Ajello, L.: Am. J. of Tropical Med. a Hyg. Vol. 1, № 2:227, 1952.
7. Ajello, L.: Bull. Nat. Assoc. of Clin. Labor., Vol. 7, № 1, 1955:11.
8. Ajello, L.: Science, Vol. 123:876, 1956.
9. Gordon, M. A.: Jour. of Invest. Dermatol., Vol. 20, № 3:201, 1953.
10. Grin, E. I. i Ožegović, L.: Nauč. Društvo NR BiH, Rad. VIII, knj. 4, 1957.
11. Frey, D. M. i Durie, E. B.: The Austr. Jour. of Experim. Biology a. Med. Science, Vol. XXXIV:199, 1956.
12. Vanbreuseghem, R.: Arch. belg. Dermat. 8:268, 1952.
13. Georg, L. K. Ajello, L., a. Papageorge C. J.: Lab. a. Clin. Med. 44:422, 1954.
14. Georg, L. K.: Arch. Derm. Syph. 67:355, 1953.
15. Winogradsky, S.: Microbiologie du Sol, Maison, Paris, 1949.
15. Imšenecki, A. A.: Mikrobiologija celulozi. Akad. Nauka SSSR, Moskva, 1953.
17. Henricis Molds, Yeasts a. Actinomycetes sec. Ed. N. Y. 1951.
18. Stahl, W. H. and coworkers: Textile Res. J. 20:570, 1950.
19. Stepaniščeva, Z. G. u: Očerki po gribkovim zabol. koži, Ed. A. M. Arievič i N. M. Turanova, Medgiz, Moskva, 1955.
20. Vanbreuseghem, R.: Arch. belg. Derm. Syph. 13/4, 1957.
21. Garrett, S. D. u Biolog. Aspect of the Transmissin of Disease, Ed. C. Horton-Smith, London, 1957.
22. Balabanov, V. A.: Annaire du L'Univers. de Sofia Fac. de med. Tome XXVI, 1946.
23. Balabanov, V. A.: Compt. Rend. de L'Acad. Bulagre des Scieces, Tome 8, № 2, 1955.



24. Heymer, T.: Arch. klin. exper. Dermatol., 205, 1957.  
(cit. po ref. Mykosen Bd. I, Heft 3, 1958).
25. Grin, E. I. i Ožegović, L.: Nova metoda za izolaciju dermatofita sa patološkog materijala od ljudi i životinja (u pripremi).
26. Grin, E. I. i Ožegović, L.: Daljna ispitivanja o uplivu zemlje na dermatofite u patološkom materijalu (u pripremi).



BLAGOJE KOVAČEVIĆ

## SEPTIČNA OBOLJENJA ŠAKE

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 8-VIII-1958 god.)

Od svih povreda koje se dešavaju na ljudskom organizmu skoro polovina otpada na šaku, a od tih, kod jedne desetine dolazi do pojave septičnog oboljenja.

Sve povrede se mogu podeliti u dve grupe: otvorene i zatvorene. Zatvorene povrede primarno nisu inficirane, jer ih štiti spoljni zaštitni pokrivač odnosno koža, koja je ostala neoštećena. Otvorene povrede ili rane već primarno bivaju inficirane, a sekundarno se mogu komplikovati unošenjem i drugih klica. Da li će doći do pojave septičnog oboljenja zavisi od niza faktora, a pre svega od oruđa kojim je povreda naneta, od jačine sile koja je dejstvovala, od vrste i virulencije mikroorganizama, od primarne obrade rane, od osobina povrednog organizma itd.

Povrede šake su veoma različite, što zavisi od predmeta kojim su nanete i sile koja je delovala. U većini slučajeva to su mikrotraume koje zauzimaju 90% od svih povreda na šaci. Kako te povrede na prvi pogled izgledaju neznatne, lečenje se, obično, prepušta najmlađim lekarima, pa čak i nižem zdravstvenom osoblju. No, ovdje je potrebno naglasiti da i veliki broj lekara tretira zapaljive procese šake sasvim suprotno od onoga što danas zahteva savremena traumatologija, pa se na taj način čine krupne greške i propusti. Na kliniku često dolaze slučajevi u stadijumu nekroze tetiva i sekvestracije kosti, koji su dugo lečeni vlažnim oblozima.

Lečenje mikrotrauma šake savremenim metodama traje 3—5 dana, dok se u mnogim našim ustanovama ovaj period produžava na 12—15 dana, pa i više.

Veoma je važno za sve povrede, a možda i najvažnije za sudbinu bolesnika, ukazivanje prve pomoći, jer ona treba da likvidira primarnu i spreči sekundarnu infekciju.

Oboljenja šake, pogotovu gnojna zapalenja, imaju veliki značaj za svako lice jer nedostatak ili deformacija samo jedne falange ima za posledicu smanjenje funkcionalnih sposobnosti cele ruke, a za neke profesije i gubitak profesionalne radne sposobnosti.

Kod povreda i infekcije uopšte, a naročito šake, možemo slobodno reći: ukoliko je stručna hirurška pomoć pravilnija, potpunija i ranije izvedena, posledice su manje, a trajanje lečenja kraće.

Privremena i trajna radna nesposobnost, usled ankiloze zglobova i deformiteta prstiju, često su posledice zapuštenog ili nestručnog lečenja septičnog oboljenja šake.

Da bi se ma koje oboljenje moglo pravilno lečiti potrebno je dobro poznavanje anatomije i fiziologije svih elemenata oboljelog dela tela, što je osobito važno za šaku koja je sastavljena iz čitavog niza organa.

Kliničku sliku zapaljivog gnojnog procesa uslovljava anatomska građa kože i potkožnog tkiva. Usled čvrsto i okomito položenih niti vezivnog tkiva na dlanovima, gnoj, pod pritiskom, prodire u dubinu. Ta mehanična komponenta ima vrlo neugodne posledice, pošto izaziva napetost tkiva, što prouzrokuje veoma jake bolove i poremećaj cirkulacije, pa ta dva faktora, uz infekciju i toksične produkte stvaraju uslove za nekrozu tkiva zahvaćenog procesom. Konkretno, mi nalazimo gotovo baš kod svih formi panaricijuma, bez obzira u kome se anatomskom delu razvija, istovremeno i nekrozu i gnojenje. Nekroze tkiva mogu biti suhe i vlažne. Vlažne imaju naklonost da prodru kroz kožu i da stvaraju fistule, dok su suhe neobično otporne, hroničnog karaktera, nagingju prodiranju u dubinu i širenju na susedno tkivo.

Kada govorimo o septičnom oboljenju šake, mislimo pre svega na glavni i osnovni septični proces koji se vrlo često susreće na šaci, a to je *panaritium*.

Najčešći oblik panaricijuma je subkutani, (*panaritium subcutaneum*) koji po pravilu ima svoje sedište u predelu vole manus i volarnog predela prstiju i to obično desne šake, koja je više izložena traumi. Ostali delovi šake manje dolaze u obzir. Na dorzalnoj strani šake, zbog sasvim drugih anatomskih odnosa, kao što su veća pomičnost kože, neznatnost i lakša mogućnost razvlačenja potkožnog tkiva, zapaljivi procesi imaju sasvim drugi pravac širenja, to jest skoro se uvek kreću prema površini.

Kod septičnih zapaljenja dlana i prstiju veoma je važno znati, prilikom postavljanja dijagnoze, da su prvi klinički simptomi otok i crvenilo koje vidimo na dorzalnoj površini, iako se centar procesa nalazi volarno. Te kliničke pojave često bivaju loše protumačene i dovode do pogrešnih terapijskih zahvata.

Klinička slika subkutanog panaricijuma manifestuje se karakterističnim simptomima kao što su: edem, bol, crvenilo, povišena lokalna i opšta temperatura.

Bol je spontano jak, prilikom dodira njegov se intenzitet povećava, a nastaje kao posledica pritiska, napetosti i delovanja toksina na senzibilne nervne završetke. Bol skoro uvek prisili bolesnika da potraži lekarsku pomoć. Mesto najveće osetljivosti utvrđuje se dodirivanjem obolelog predmeta sondom. Na mestu najoštrijeg osećanja bola nalazi se izvor i glavno zapaljivo žarište, te na tome mestu treba vršiti operativni zahvat. Incizija bi na nekom drugom mestu bila pogrešna, pogotovo ako bi se izvela na dorzalnoj strani šake.

Pokretljivost prstiju obično nije poremećena, što je važan diferencijalno-dijagnostički znak prema tendinoznom panaricijumu. Napadnuti prsti se nalaze u lakoj volarnoj fleksiji. Limfni sudovi i žlezde u predelu lakta i pazuha često su uvučeni u proces.

Kod subkutanog gnojnog zapaljenja, na dorzalnoj strani šake, vidimo na ulazu infekcije otok i crvenilo koje liči na furunkulozno zapaljenje. Bol nije naročito jak, jer gnojni eksudat ne stoji pod nekim jačim pritiskom.

Diferencijalno-dijagnostički prema subkutanom panaricijumu dolazi u obzir erizipeloid, ali kod njega ne dolazi do gnojenja, nema bolova, ni povišene temperature.

U diferencijalnoj dijagnostici još može da se spomene primarni lues na jagodicama prstiju koji pokazuje kliničku sliku subkutanog panaricijuma, a rezistentan je na terapiju koju primenjujemo kod panaricijuma.

Kutani panaricijum (*panaritium cutaneum*) je jedina forma panaricijuma koja je sasvim bezopasna. Površinski slojevi epidermisa podignuti su u vidu malih mehurića usled skupljanja seroznognojnog eksudata.

I kod ove lake forme panaricijuma vide se inflamirani limfni sudovi koji idu od šake do pazuha, kao i otečene i bolne žlezde u predelu lakta i aksile.

Ovde treba spomenuti i *paronychium*, odnosno *panaritium paraunguale* i *subunguale*. Obe ove vrste infekcije nastaju najčešće usled povreda zanoktica ili samoga nokta. Kao što im i ime kaže, *paronychia* se razvija i širi u predelu korena nokta, a *subungvalni panaricijum* ispod nokta. *Paronychia* se češće razvija iz *subungvalnog*, traumatskog hematoma, dok se isto tako *subungvalni panaricijum* razvija posle povrede zanoktica i infekcije povredjenog mesta.

*Phlegmona interdigitalis* je jedna vrsta subkutanog panaricijuma koja se manifestuje stvaranjem apscesa između prstiju, koji se dalje difuzno širi pa dovodi do pojave flegmone. To se obično dešava teškim fizičkim radnicima i sportistima kod kojih se stvaraju žuljevi u predelu metakarpofalangealnog zgloba drugog do petog prsta.

Taj oblik flegmone pruža karakterističnu kliničku sliku, koja se sastoji iz pojave jako izraženog otoka, praćenog crvenilom kože na dorzalnoj strani šake. Usled kompresije interdigitalnih vena više puta se vidi cijanotični edem. Prsti se nalaze u polifleksiji i međusobno su razmaknuti. Pokreti su ograničeni i bolni. Dlan je na dodir veoma osetljiv i bolan, ali se bol ne prenosi duž vagine tetiva već ostaje lokalizovan na dlanu.

*Panaritium tendinosum-tendovaginitis acuta purulenta* je takvo septično-gnojno oboljenje čija se klinička slika zasniva na anatomskoj građi vagina tendineum. Poznato je da ovojnice fleksora drugog, trećeg i četvrtog prsta ne stoje u vezi sa zajedničkom ovojnicom fleksora i da se završavaju u visini glavica metakarpalnih kostiju, odnosno u predelu poprečne brazde dlana, dok se ovojnice prvog i petog prsta ne završavaju u nivou ostalih i na dlanu, već stoje u direktnoj vezi sa zajedničkom ovojnicom fleksora u predelu karpusa. Ovaj oblik panaricijuma može nastati kao posledica povrede i infekcije, širenjem infekcije per continuitatem i metastatičnim putem.

Tendinozni panaricijum počinje sa naglim širenjem otoka i crvenilom duž tetiva i sa jakim bolovima prilikom pomicanja i dodirivanja. Najčešće biva tako da je ceo prst obuhvaćen zapaljivim procesom. Otok

je naročito izražen na volarnoj strani, dok je sa strane i dorzalno edem neznatan. Dlan je napet, zatcgnut i veoma osetljiv na dodir. Otok se širi prema ručnom zglobu pa čak prelazi i na podlakticu. Funkcija cele šake, a naročito prstiju je smanjena. Spontani bolovi su veoma jaki, a njihov intenzitet se pojačava pri najmanjem pritisku. Prsti se nalaze u volarnoj semifleksiji, jer je to najpovoljniji polazaj da se donekle odtereti gnojno zapaljenje i edematozna tetiva. Ova vrsta panaricijuma je praćena visokom temperaturom i drhtavicom, a bolesnik zbog bola, drhtavice i nesаницe odaje sliku teškog opšteg stanja.

Kada se proces odigrava na drugom, trećem ili četvrtom prstu može da ostane ograničen samo na jedan prst. No, ako je zahvaćena tetiva fleksora palca ili maloga prsta infekcija se propagira dalje, na zajedničku ovojnici ostalih fleksora i širi se prema ovojnicu palca i malog prsta, te tada imamo takozvanu ipsilon flegmonu.

Ovojnice ekstenzora su vanredno retko zahvaćene gnojnim procesom; no, i ako se on pojavi, ne pokazuje tendenciju širenja i može se lako kupirati.

Dijagnoza razvijenog tendinoznog panaricijuma nije teška, ako se ima u vidu sve ono što je navedeno u pogledu anatomije, fiziologije i načina širenja infekcije u predelu šake uopšte, a posebno kod tetiva i njihovih ovojnica.

*Panaritium ossale* odigrava se u koštanom delu falanga. Više puta nastaje primarno, kao posledica povrede jagodica prsta a istovremeno i infekcije, ili sekundarno, kada infekcija prodire u potkožno tkivo kroz mesto gde je koža oštećena, te zapaljivi proces zahvata ne samo oštećeni deo kože i potkožnog tkiva već i kost. Proces u kosti može da se razvije i sekundarno, per continuitatem, iz flegmone potkožnog tkiva ili iz tendinoznog panaricijuma. Koštani panaricijum se manifestuje, osim onih simptoma koji prate svaku vrstu gnojnog procesa šake, još i nekrozom i sekvestracijom kosti, što pretstavlja konačni stadijum osalnog panaricijuma. Veličina sekvestracije i sudbina obolele kosti kao i cele šake zavisi od raznih faktora, a pre svega od vrste, količine i virulencije mikroorganizama. cirkularnih poremećaja, individualnih osobina bolesnika, a i od vremena i načina primenjene terapije.

Osalni panaricijum se najčešće javlja na distalnoj falanzi, pošto je taj deo prsta više izložen povredama nego ostali i zato što su proksimalna i srednja falanga zaštićene ovojnicom tetiva dok to kod distalne falange nije slučaj.

Dijagnoza osalnog panaricijuma je vrlo karakteristična i dosta laka, jer bolesnik skoro uvek dolazi lekaru sa velikim zakašnjenjem, kada je proces podmakao i kost uvućena u njega. Tada je akutno zapaljenje prešlo u hroničnu formu kada temperatura obično pada na normalu, ali na falanzi se nalazi jedna ili više fistula koje secerniraju gnojavo-seroznu tećnost, a na rendgenskom snimku se vide nekroze i sekvestri.

Osalni panaricijum zahteva ranu dijagnozu i hitnu operaciju, jer postoji uvek sklonost ka brzom širenju i stvaranju sekvestara, a to se, po mogućnosti, mora sprećiti odnosno ogranićiti da proces ne bi zahvatio okolne organe, pre svega zglobove i tetive ovojnice.

*Panaritium articulare* uslovljen je antomskom gradom u predelu interfalangealnih zglobova kao i metakarpofalangealnih.

Zglobovi prstiju su na dorzalnoj strani prekriveni samo tankom kožom čija debljina iznosi 1—2 mm; zato minimalne, površinske povrede kože mogu penetrirati u sami zglob i inficirati ga. Sa volarne strane ređe dolazi do primarne infekcije usled specijalnih anatomskih odnosa, tj. da bi povreda doprla do zgloba ona treba da prođe kroz više anatomskih elemenata.

Etiologija zglobnog panaricijuma najčešće je u vezi sa penetrirajućim povredama. Bakterije prodiru u kapsulu zgloba i izazivaju serozne ili gnojne upale. Ovaj oblik panaricijuma često susrećemo u interfalangealnim zglobovima, a vrlo retko u metakarpofalangealnim.

Artikularni panaricijum se javlja sasvim izolirano ili kao posledica ostalih.

Na dorzalnoj strani koža obolelog zgloba je glatka, sjajna i crvena. Meki delovi zgloba su edematozni a pri palpaciji se više puta oseti fluktuacija. Oboleli prst se nalazi u lakoj fleksiji i ima smanjenu aktivnu i pasivnu pokretljivost. Bol je ograničen na njegovu najbližu okolinu. Opšte stanje bolesnika nije naročito promenjeno. U pojedinim slučajevima dolazi do prodora gnoja kroz kožu i stvaranja fistule. Poneki put, kao komplikacija, javlja se subkutani kao i tendinozni panaricijum, usled prodiranja gnojnog materijala u dubinu. U kasnijem toku oboljenja dolazi do nekroze rskavice i pri pomicanju prsta čuje se jače ili slabije izražena krepitacija. Na kraju dolazi do eliminisanja sekvestra i stvaranja potpune koštane ankiloze zgloba u patološkoj subluksaciji i sa atrofijom mekih delova prsta.

Postavljanje dijagnoze nije teško pošto vidimo da su otok i crvenilo najjače izraženi ili, bolje rečeno, ograničeni na predeo zgloba. Bol je veoma jak ako je došlo do pomicanja zglobnih površina, tako da jedna falanga u uzdužnoj osovini pritiskuje drugu. Rentgenski je nalaz u svežim slučajevima negativan. Onde gde se klinički oseća krepitacija, na rendgenogramu se vide nagrižene i neravne zglobne površine, a nekipeut i sekvestri. Time je dijagnoza sasvim jasna i potpuno rasvetljena.

*Phlegmona vole manus* je difuzno, gnojno zapaljenje dlana. Volarna strana šake, odnosno dlan, ima tu prednost što je dobro zaštićen od infekcije zahvaljujući čvrsto građenoj koži u tome predelu koja je, okomito položenim vezivnim nitima, spojena sa palmarnom aponeurozom. Zbog tih osobina površinske povrede ne vode pojavi infekcije, već jedino duboki ubodi u dlan. Apscesi ispod žuljeva prstiju, interdigitalne flegmone i tendinozni panaricijum 2—4 prsta kod prodora ovojnica tetiva, mogu dovesti do širenja gnojnog zapaljenja u vezivnom tkivu, ispod palmarne aponeuroze.

Kod palmarne flegmone karakteristično je da se otok i crvenilo nalaze na dorzalnoj strani šake čemu je uzrok anatomska građa dlana. Kod tih slučajeva mi postavljamo dijagnozu na osnovu toga što se prsti od 2—4 nalaze u semifleksiji, što postoji jako izražen bol, kako kod aktivnih tako i kod pasivnih pokreta prstiju, i što je pritisak na dlan veoma intenzivan i širi se difuzno po celom dlanu.

Velika opasnost flegmone dlana je u tome što može da dođe do arozije krvnih sudova površinskog i dubokog arkusa, koja dovodi do krvavljenja i širenja krvi i infekcije po celoj šaci. Ova komplikacija i mnoge druge nastaju ukoliko se kod palmarne flegmone nije pravo-

vremeno hirurški intervenisalo. Sam gnoj ne može da prodre kroz palmarnu aponeurozu i debelu kožu dlana, već traži mesto manjeg otpora pa se širi prema prstima, podlaktici, između metakarpalnih kostiju i prema dorzalnoj strani šake.

Terapija septičnih oboljenja šake, isto kao i svih ostalih gnojnih procesa u ljudskom organizmu, sastoji se u tome da se pravovremenom operacijom omogući izlaz gnoja, jer se time sprečava dalje oštećenje tkiva, širenje zapaljivo-gnojnog procesa i resorpcija toksičnih produkata.

Operativnom zahvatu treba dodati antibiotsku terapiju pošto se one dopunjuju. Na taj način se postižu najbolji rezultati.

Kod izvođenja operativnih zahvata moramo imati u vidu: da budu bezbolni, da se izvrše na pravom mestu i sa primenom hemostatične poveske.

Bezbolnost se postiže opštom anestezijom. Lokalna anestezijska je kontraindicirana pošto se ne postiže potpuna bezbolnost, već se povećava napetost tkiva, a mikroorganizmi i njihovi produkti se propagiraju u dubinu i širinu.

Upotreba hemostatične poveske je od velikog značaja i koristi, jer omogućava odstranjenje oštećenog i nekrotičnog tkiva iz operativnog polja zahvaljujući privremenoj beskrvnosti dotičnog predela. No, ako na obolelom ekstremitetu postoji tromboflebitis, onda je upotreba hemostatične podveze kontraindicirana, pošto može da dovede do još težih komplikacija.

Incijizija mora biti izvedena na onom mestu koje je najosetljivije na dodir sondom i to u smeru uzdužne osovine prstiju i dlana. Uopšte, na prstima se vrši više incizija, ali one ne smeju biti izvedene volarno i medijalno tj. rez ne sme da pada okomito na tetivu, jer ako se vagina tendine otvori medijalno onda pri pokretima prstiju, a naročito pri izvođenju fleksije, ona iskoči kroz otvor na vagini i koži, sasušuje se i nekrotizira, što vodi invaliditetu. Isto tako incizija ne treba da preseca poprečne brazde na koži koje odgovaraju zglobovima. Operativni rez se izvodi sa strane; i u tim slučajevima, ako je potrebno, vagina tetive može se otvoriti sa strane, a otvor se može drenirati, ali tako da, ma kakav dren bio, ne sme da pritiskuje tetivu, a još je bolje da je i ne dodiruje.

Kod panaricijuma najbolje je upotrebiti za drenažu jedno parče gumene rukavice, koje će omogućiti oticanje gnoja a neće svojim pritiskom izazvati nikakve promene na okolnom tkivu. Tamponada gazom je nepotrebna, štetna i kontraindicirana.

U terapiji septičnog oboljenja šake su stručni zavoj i imobilizacija neobično važni. Mirovanje je od osobitog značaja, pošto rad mišića prouzrokuje jaču i bržu resorpciju zapaljivog sekreta i toksina, širenje infekcije i pogoršanje opšteg stanja bolesnika.

Prvi zavoj posle operacije se menja drugi, treći ili tek četvrti dan, već prema tome kako se bolesnik oseća. Ukoliko je operativni zahvat pravilno izveden, onda posle kratkog vremena nastupa poboljšanje koje vodi izlečenju. Ali kada se bolesnik oseća slabo, a bolovi posle operacije ne prestaju i bivaju sve jači, to nam pokazuje da operacija nije dobro izvedena i da postoji neka tehnička greška. Te greške su uglavnom sledeće: mala incizija, zaostalo nekrotično tkivo i tamponada gazom koja omogućava oticanje sekreta i pogoduje širenju infekcije u dubinu i širinu.

Kod promene zavoja, a naročito prvog, treba biti veoma obazriv. Zavoj se ne sme kidati da rana ne bi prokrvavila, jer se na taj način stvara nova mogućnost sekundarne infekcije i bolesnik oseća veliku nelagodnost, tako da se prilikom promene zavoja kod njega pojavljuje strah. Da bi se to izbeglo, treba zavoj prečiti sa 3% rasvorom H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ili još bolje staviti celu šaku u toplu kupku jer ona stvara hiperemiju i potpomaže demarkaciju nekrotičnog tkiva, ako je slučajno pri operativnom zahvatu preostalo, i omogućuje bolji odliv gnoja i ostalog infektivnog materijala.

U postoperativnom lečenju od naročitog je značaja Bierova venozna-pasivna-hiperemija. Ona potpomaže demarkaciju i stvaranje granulacionog tkiva kao i obilniju sekreciju infektivnih produkata.

Što se tiče zavoja, to jest, da li treba da budu suhi li vlažni, mi smatramo da je kod slučajeva gde je operativni zahvat izveden pogodniji suhi zavoj. Vlažni zavoji dolaze u obzir u početku razvitka procesa, i tu oni, uz primenu antibiotika i pasivne hiperemije, mogu imati neku vrednost, ali im je negativna strana ta što dovode do maceracije kože. Za vlažne zavoje se daje fiziološki rastvor 3% rastvor acidi borici kao i 75% rastvor alkohola. U nekim početnim slučajevima i ova terapija katkada može dovesti do izlečenja. U veoma retkim slučajevima, kod kojih se ne primeni nikakva terapija, može ponekad da dođe do spontanog izlečenja. Ovo se dešava na taj način što gnojni proces prodire kroz kožu, stvori se fistula, nekrotično tkivo se eliminiše i per secundam dolazi do sanacije. Kod tih slučajeva, koji ostaju bez ikakvog lečenja, proces po pravilu teče tako da gnojenje zahvata kožu, stvara se jedna ili više fistula, nekrotično se tkivo eliminiše te dolazi do izlečenja. Ovo se dešava veoma retko; po pravilu proces zahvata sve delove prstiju i dlana te se razvija takozvani pandactilitis, palmarna flegmona, a proces se širi dalje na šaku i podlakticu, pa može da uvuče u proces i celi gornji ekstremitet. U tim slučajevima dolazi do pojave metastaza u unutrašnjim organima kao u plućima, pleuri, jetri, bubrezima itd. i na kraju vodi pojavi septikopijemije.

Kod tendinoznog panaricijuma svrha terapije je održanje tetiva i njihove funkcije. U tome ima velike zasluge Bier. Ranije su rezovi vršeni na taj način što je vagina tetive otvarana medijalno, duž cele njene dužine, što je i sam Bier činio. Tokom vremena on je stekao iskustvo i došao do uverenja da takav operativni zahvat pri kojem je medijalno rasečena cela tendinozna ovojnica, a tetiva iskočila na površinu rane, brzo dovodi do sušenja, nekroze i propadanja tetiva. Bier je zato predložio inciziju sa strane i sa više kožnih mostova tako da tetiva ostaje na svom mestu. Medijalna incizija i ona koja prelazi preko kože i poprečne brazde iznad zglobova vodi sigurnom propadanju tetiva i stvaranju invaliditeta.

Operativni zahvat treba što pre izvesti pošto je sasvim razumljivo da tetiva opkoljena gnojem brzo propada. Osim toga zapaljivi gnojni proces stvara i zaraslice između tetiva i ovojnica i ostalih okolnih tkiva, pa tako, u velikoj meri, remeti funkciju pojedinih prstiju i ručnog zgloba. Ukoliko se kod tendinoznog panaricijuma ne bi poduzelo blagovremeno operativno lečenje, oboljenje bi poprimilo težak tok, spojen ne samo sa potpunim funkcionalnim gubitkom prsta, već i sa drugim teškim, opštim komplikacijama.

Isto tako, osalni panaricijum zahteva rano lečenje. Treba sprečiti sekvestraciju kosti i prelaz infekcije na susedne organe, a pre svega na tetive i zglobove. Operativni zahvat, sa uklanjanjem nekrotičnog tkiva uz primenu antibiotika, je metoda izbora.

Kod flegmone dlana incizijom se moraju prerezati niti palmarne aponeuroze i pronaći ležišta gnojnog procesa. Neki put je neophodno potrebno učiniti jednu ili više kontrainsizija, kako bi se stvorio što bolji put za drenažu i oticanje gnoja.

U slučajevima panaricijuma zgloba može se u početku pokušati sa konzervativnom terapijom tj. imobilizacijom, antibioticima i Bierovom hiperemijom. Na taj se način, u izvesnom broju slučajeva, može postići izlečenje. Ali ako je proces potpuno razvijen, sa pojavom piartrosa, onda dolazi u obzir jedino operativno lečenje, koje se sastoji u otvaranju zgloba sa dorzalne strane i to između medijalne i radijalne linije ili medijalne i ulnarne linije, tako da tetiva ekstenzora ostane nepovredena. Međutim, ako postoje promene na zglobnim površinama, tada se tkivo odstrani pa ako posle lečenja nastupi ankiloza, a tetiva je očuvana, može se docnije izvršiti artroplastika.

Mi smo ranije naglasili da je osnovno lečenje ma koga oblika panaricijuma hirurški zahvat, a zatim dolaze adjuvantna sredstva kao što je imobilizacija, Bierova pasivna hiperemija i adekvatni antibiotici, bez čega se danas ne može ni zamisliti savremeno lečenje infektivnih oboljenja.

Od svih antibiotika penicilin zauzima prvo mesto kod lečenja oboljenja šake. To je sigurno najbolji dosada poznati antibiotik u borbi sa infekcijom mikroorganizmima, osetljivim na penicilin.

Klinički rezultati, kako naši tako i niza drugih autora, koji su primenjivali penicilin na velikom broju slučajeva septičnog oboljenja šake — kao što su Watson i Lawaden — opravdavaju njegovu primenu i pored toga što se javlja ne mali broj slučajeva sa rezistencijom stafilokoka prema penicilinu.

Analizom septičnih oboljenja šake dolazi se do zaključka da je u 95% slučajeva prouzročivač staphylococcus pyogenes, a od tih su 23% rezistentni prema penicilinu (Williams). Primenjivanje penicilina bez određivanja antibiograma treba ograničiti i odbaciti.

Prilikom davanja penicilina, kod septičnih oboljenja šake, više puta je došlo do pojave sekundarne infekcije, fatalnih gastroenteritisa itd., usled slabe tehnike, površne dijagnostike i otpornosti mikroorganizama.

U toku lečenja naših slučajeva došli smo do uverenja da se kod septičnih, nespecifičnih oboljenja šake posle pravilne hirurške obrade rane i ustanovljenja antibiograma postiže najbolji uspeh davanjem penicilina. Postavlja se pitanje koji oblik penicilina je najpodesniji.

Mi smo primenjivali: crystalline penicillin, procain penicillin i benthamine penicillin i došli do sledećeg zaključka: kristalni penicilin se pokazao kao vrlo efikasan u teškim slučajevima infekcije. Prokain penicilin smo davali kod lakših formi septičnog oboljenja i to 300,000 jedinica dnevno sa dobrim rezultatima, ali injekcije treba davati svakodnevno, što znači da bolesnici sa lakšom formom oboljenja moraju ostati u bolnici ili svakodnevno dolaziti radi primanja jedne injekcije.

Bentamin penicilin sa dobiva u pripremljenoj vodenoj suspenziji, a intramuskularna injekcija od 300,000 jedinica održava bakteriostatički nivo u krvi najmanje tri dana.

Kod većine bolesnika posle izvršene operacije dajemo bentamin penicilin, a iduće previjanje izvodimo tek treći dan, kada ponovo dajemo penicilin. Retkim previjanjem izbegava se sekundarna infekcija, mnogo ranije postizemo izlečenje, a bolesnik ostaje na ambulantnom lečenju.

Smatramo da je za sada penicilin glavni i osnovni antibiotik u borbi protiv sepse ruku.

Za ambulantno lečenje najpogodniji je bentamin-penicilin, jer je dovoljno dati injekciju svaki treći dan, pošto bakteriostatičnost u krvi ostaje najmanje tri dana.

U toku poslednjih 10 godina lečeno je na našoj klinici 667 slučajeva panaricijuma.

Većina njih lečena je pre dolaska na kliniku i to izvođenjem raznih incizija, jedan ili više puta. Veoma smo retko imali slučajeve koji su došli na kliniku, a da ranije nije bio učinjen nikakav operativni zahvat. Skoro kod svih slučajeva koje smo primili na kliniku, posle izvedene operacije u nekoj manjoj ustanovi, moglo smo ustanoviti da je zahvat bio nepravilno izveden, a i ostala terapija. Lečenje tih slučajeva bilo je sasvim suprotno onome što zahteva savremena nauka. Ono se sastojalo u lokalnoj anesteziji hlortilom i medijalnoj inciziji duž prsta, te je sasvim razumljivo što je to lečenje dovođilo do velikog procenta invaliditeta.

Broj septičnih oboljenja šake kao i invaliditeta biće smanjen, ako se radnicima i službenicima zabrani upotreba alkoholnih pića za vreme rada, ako radnici budu znali kakve sve povrede mogu nastati kod nepažljivog rada, ako lekari, naročito oni sa terena, budu znali kako da pravilno obrade i leče povrede i septična oboljenja.

## B. KOVAČEVIĆ, FIST INJURIES AND SEPTIC INVOLVEMENT

### S u m m a r y

Fist injuries vary greatly, depending on the nature of objects that cause them and the force of impact. In the majority of cases we are concerned with microtraumas, which account for 90 per cent of all fist injuries. The infection can be either primary or secondary. At first sight such injuries appear to be insignificant, and the patient is therefore left in the care of young and inexperienced doctors, assistants or even members of the nursery staff. At this point, it is necessary to emphasize the fact that even among a large number of general practitioners there is a tendency to treat the inflammatory processes of the fist in a way quite contrary to the dictates of modern surgery, hence grave errors and sins of omission. A number of advanced cases with necrosis of the tendons and sequestration of the bone are being treated daily in one of our major Surgery Institutes, cases that had been treated conservatively by means of compresses and the like.

Of the greatest importance in cases of any injuries, and perhaps of vital importance for the fate of the patient himself, is the administration of first aid, the object of which is the liquidation of primary and the prevention of secondary infection.

As regards injuries and infection generally, and those of the fist in particular, it can safely be stated that the more correct, thorough and timely the surgical aid the less grave are the consequences and the shorter the duration of treatment.

For a proper treatment of an injured and infected fist a thorough knowledge is needed of the anatomy of physiology of all elements of which this complex organ is composed.

The clinical picture of an inflammatory purulent process of the fist is conditioned by the anatomical structure of the skin and its subcutaneous tissue. Due to the shape of perpendicularly placed threads of the binding tissue in the palm, pus under pressure penetrates into the depths of the fist. This mechanical component is the cause of untoward consequences, since it tends to stimulate the tightening of tissue which, in its turn, occasions severe pain and disturbance of circulation. It is these two factors combined with infection and toxic products that create conditions conducive to necrosis of the tissue affected by the process.

The basic principles of modern therapy in septic wounds and injuries of the fist can be set out briefly as follows:

The treatment consists in a timely operation being performed with the object of providing an outlet for pus, thus preventing further damage to tissue, the spreading of inflammatory purulent process, and resorption of toxic products.

Surgical intervention proceeds under general anaesthesia, thus ensuring freedom from pain.

Incision is made at a point found to be the most sensitive, which is determined by probing.

In performing the operation a haemostatic bandage is necessary since it temporarily arrests bleeding and makes convenient the removal of damaged and necrotic tissue away from the operative field.

Surgical intervention needs to be combined with adequate antibiotic treatment, the two kinds of therapy being complementary and productive of best results.

To sum up, surgical treatment combined with antibiotics as an adjuvant continues to be the principal and basic therapy.

PAVAO STERN

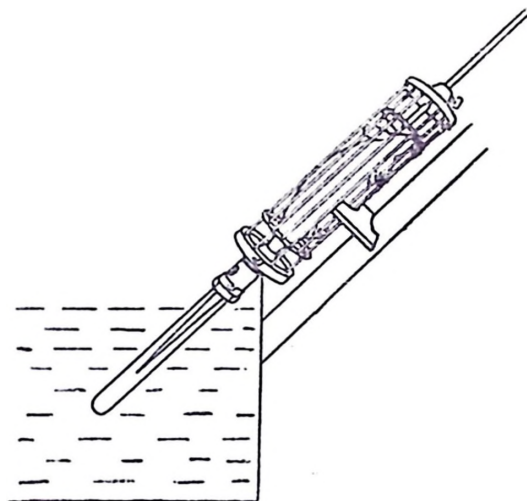
## FARMAKOLOŠKA ANALIZA PERMEABILITETA KOŽE

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 19-I 1959 godine)

Koža predstavlja normalnu barijeru za prelaz vode i drugih supstanci. Takva barijera mora da postoji da bi se održao integritet organizma i da bi se sačuvao od prevelikog nakupljanja tečnosti i ulaza raznih otrova. Postoji ogromna literatura o tom problemu<sup>1</sup> i zna se da stratum corneum conjunctum, koji predstavlja pravu barijeru kože, sadrži lipoeide, koji imaju u tom procesu presudnu ulogu<sup>2</sup>. Postoji ipak stanovita resorpcija vode kroz kožu, ali ne kroz taj stratum corneum conjunctum, nego kroz akcesorne dijelove kože, kao što su folikuli dlaka, žlijezde znojnice i lojnice itd. Pomoću teške vode nedvojbeno je dokazano da voda stvarno prodire kroz kožu<sup>3</sup>.

Budući da brzina resorpcije u koži dobrim dijelom ovisi o permeabilitetu kapilara u koriumu, kojega reguliraju biogeni amini, prvenstveno histamin (H) i 5 hidroksitriptamin (5HT), mi smo si stavili u zadatak da ispitamo utjecaj pomenutih fizioloških agensa na permeabilitet kroz kožu. Oba ova agensa dolaze i u epidermisu i to veoma bogato<sup>4</sup>. Uopće je koža najbogatiji organ na H i kod ljudi i kod životinja<sup>5</sup>. U jednom nedavnom referatu pokušali smo pokazati fiziološke i patofiziološke zadatke H u koži<sup>6</sup>. Među takve fiziološke funkcije spada prema našem mišljenju i regulacija resorpcije. Zato smo studirali u prvom redu H sam<sup>7</sup>, ali i 5HT<sup>8</sup>, budući da su oni glavni poznati faktori u tom organu, za koje znamo da djeluju na permeabilitet kapilara. Osim toga mi smo se poslužili i sa azulenima, koji sprečavaju izbacivanje H iz tkiva<sup>9</sup> i gdje prema tome teoretski možemo pretpostavljati da će djelovati obrnuto na resorpciju kroz kožu nego H. Konačno u jednoj seriji pokusa ispitati smo i razne sterine (dezoksiholnu kiselinu, K strofantin, dezoksikortikosteron), jer je poznato da sterini bez obzira na svoja specifična fiziološka i farmakološka svojstva djeluju smanjujući permeabilitet kapilara i staničnih membrana<sup>10</sup>. Ovi eksperimenti imaju za cilj da se vidi može li se variranjem količine biogenih amina u koži i pomoću raznih farmaka mijenjati resorpcija kroz kožu. U ogromnom broju slučajeva potrebno je smanjivati tu resorpciju, a katkada, u terapijske svrhe, bilo bi zgodno da je možemo povećati. U svakom slučaju sa stanovišta industrijske higijene i problema alergizacije kroz kožu ovakav problem ima i praktično značenje.

**M e t o d a.** U svim našim eksperimentima poslužili smo se metodom Massmann-a<sup>11</sup>. Štakor se nalazi u jednom kavezu, tako da ne bude prignječen, a opet da se ne može micati. Rep štakora je potpuno izvan tog kaveza i uronjen je u jednu epruvetu, koja sadrži 0,5% KCN (pH 8,5). Ta je epruveta uronjena u jedan termostat, koji je reguliran na 38° C



Slika I.

(iz Arch toxicol 16, 208 (1956))

Čeka se dok štakor uquine uslijed resorpcije KCN, i to maksimum 8 sati. Rep štakora na prelazu u kavez premazan je jednom mješavinom voska i vazelina, tako da eventualno urin ili fekalije ne bi došle u onu epruvetu sa KCN.

Osim toga mi smo, gdje god je to bilo potrebno, ispitali i količine H u koži i u krvi. U koži smo H ekstrahirali po metodi Feldberga i Talesnika<sup>12</sup>, a serotonin po metodi West-a<sup>13</sup>. H smo u krvi određivali po metodi Code-a<sup>14</sup>, a serotonin po metodi Langemann-a<sup>15</sup>. H je određivan na izoliranom crijevu zamorca uz dodatak 10<sup>-9</sup> atropina, a serotonin na uterusu štakora, koji su dan prije primili stilbestrol<sup>16</sup>. Za ispražnjavanje kože od H poslužili smo se histamin-liberatorom (HL) 48/80 i polimiksinom B, a za ispražnjavanje kože od 5HT reserpinom. Od azulena upotrebljavan je Azulon SN liq. od firme HOMBURG.

Poznato je da je HL 48/80 jedan vanredno jaki HL i da može kožu štakora u roku od 2—3 dana osiromašiti toliko na H da ostaje svega 10% H u koži<sup>17</sup>. Štakori su primali 48/80 100—350 gama/100 g tjelesne težine i. p. kroz 6 dana, svaki dan 50 gama više. Mi smo se uvjerali u svim našim pokusima, da se površina repa ne mijenja, naime da ne dolazi do edema koji bi mogao eventualno igrati ulogu u permeabilitetu kože<sup>7</sup>. To znači da površina repa ostaje prije i nakon pokusa nepromijenjena.

Tabela I.

	Broj životinja	Srednja tjelesna težina	Smrt nakon	P
Kontrole	16	219	4h 25'	—
48/80	16	219	7h 58'	0,01
Prometazin	16	223	6h 26'	skoro 0,05

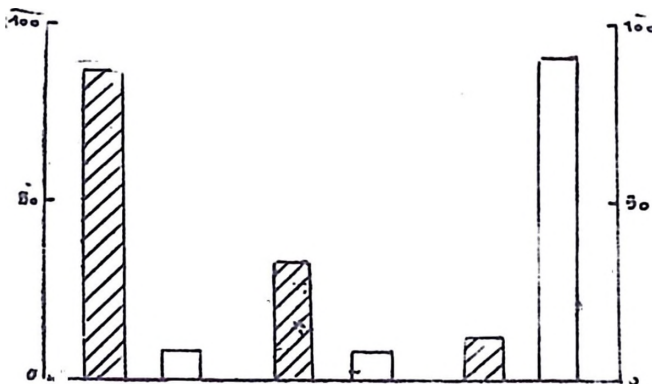
Kako se vidi iz priložene tabele I, HL 48/80 signifikatno smanjuje resorpciju kroz kožu. Jednoj grupi štakora dali smo antihistaminik prometazin 10 mg/kg 2 sata prije eksperimenta. I on smanjuje permeabilitet iako ne tako jako kao HL 48/80.

U vrijeme kad smo taj pokus radili, još nije bio poznat rad Parratt-a i West-a<sup>4, 18</sup>, koji su određivali točnu topografiju H u koži repa štakora, a isto tako i 5HT. Zbog toga smo mi odredili H u koži štakora (Tabela II) i našli da se stvarno smanjuje iza onih doza 48/80 kojima smo se poslužili

Tabela II.

	Broj životinja	Histamin u koži repa štakora gama/g
Kontrola	6	16,13
48/80	6	1,2

kod pokusa resorpcije. Na kraju u diskusiji osvrnućemo se na ove rezultate, a sad ćemo prikazati naše pokuse sa jednim drugim HL, i to polimiksinom B. HL 48/80 stvarno smanjuje H u koži, ali djeluje jednim dijelom i na količinu 5HT, koju isto smanjuje u koži štakora<sup>4</sup>. Zasluga je Parratt-a



Grafikon I.  
(iz J. Physiol 139, 27 (1957))

Efekt ponovljenih intraperitonealnih doza polimiksina B, 48/80 i reserpina na sadržaj 5-hidroksitriptamina i histamina u koži štakora. Vrijednosti izražene kao procenti kontrolnih vrijednosti.

i West-a što su upozorili na to da polimiksin B, jedan antibiotik, smanjuje samo H u koži a praktički ne djeluje na 5HT, dok reserpin samo na 5HT, a ne na H<sup>1</sup>. Budući da smo mi u našim pokusima sa 48/80 smanjili i 5HT, moglo bi se postaviti pitanje nije li smanjenje permeabilneta kroz kožu išlo na račun i smanjenja 5HT. Iz tih razloga poslužili smo se u slijedećoj seriji pokusa sa polimiksinom B<sup>8</sup>. Metoda resorpcije bila je nepromijenjena kao i u prijašnjem pokusu. Životinje su primale prvi dan 2,5 mg/kg, drugi dan 5 mg/kg 2 puta, a treći dan 7,5 mg/kg 2 puta. 24 sata iza zadnje injekcije stavljene su u aparat za ispitivanje resorpcije. Tada u koži štakora prema West-u ima manje od 6% H. Kako se vidi iz tabele V., polimiksin B isto smanjuje resorpciju kroz

Tabela III.

	Broj životinja	Srednja tjel. težina u g	Smrt nakon	P <sup>e</sup> )	Opaska
Kontrole	10	142	4h 46'		
Polymyxin B	14	142	6h 26'	0,001	

kožu (Tab. III). Budući da je on čisti HL, možemo sa velikom sigurnošću reći da je i efekat 48/80 išao na račun smanjenja H, što u ostalom još bolje potvrđuju kasniji rezultati sa reserpinom.

Interesiralo nas je kako će djelovati na resorpciju kroz kožu akutno povišenje H u koži samoj, dakle poslije aplikacije polimiksina B. Iz istih razloga jedna grupa štakora dobila je intraperitonealno 1 cc bjelanjka, koji uzrokuje edem u koži, koji se osobito dobro očituje na njušci i šapicama<sup>19</sup>. To je svakako znak mobilizacije jednog faktora u koži, koji povisuje permeabilitet kapilara. Te su životinje neposredno iza injekcije polimiksina B i bjelanjka stavljene u kavez za resorpciju i, kako se vidi iz tabele IV, resorpcija je bila smanjena. Iz iste tabele vidi se da i

Tabela IV.

	Broj životinja	Srednja tjel. težina u g	Smrt nakon	P	Opaska
Polymyxin B	6	140	7h 39'	< 0,01	
Bjelanjak	6	129	7h 10'	< 0,01	
Histamin	12	136	6h 30'	< 0,01	

egzogeni H smanjuje permeabilitet. Životinje su dobile 10 mg/kg histaminhidroklorida s. c. Da bi se uvjerali da su ovako male doze polimiksina za tako kratko vrijeme mobilizirale H, odredili smo jednoj grupi štakora H u koži šije i repa i u plazmi. Iz tabele V vidimo da je stvarno

<sup>e</sup>) Prema Ficher R. Metodi statistici, Torino 1948.

Tabela V.

	Broj životinja	Histamin - baza u			Opaska
		koži šije gama/g	koži repa gama/g	plazmi gama/ml	
Kontrole	2	31,0	22,4	0,112	
Polymyxin B	6	15,22	12,09	0,54	

došlo do pada H u koži već nekoliko sati iza polimiksina, a da je u krvi istovremeno H porastao. Vjerovatno uslijed edema, koji je u ostalom kod aplikacije bjelanjka i vidljiv, dolazi do smanjenja resorpcije, jer je cirkulacija otežana. Mislimo da je to principijelno drugi efekt nego onaj kojeg smo dobili dugotrajnim davanjem polimiksina ili 48/80. Interesantno je da je i egzogeni H smanjio resorpciju. Vjerojatno je došlo do oštećenja kapilara i do edema u koži. Sam H, dan intravenozno, ne izaziva vazodilataciju u koži<sup>20</sup>.

Budući da smo dobili ovakove efekte sa H, postavili smo si pitanje kako će djelovati azuleni na resorpciju kroz kožu. Za azulene smo mi pokazali da sprečavaju izbacivanje H kod sukoba antigen-antitijelo<sup>21</sup>. Do tog zaključka došli smo na taj način što smo mogli pokazati da zamorac, koji je primio azulen, ostaje osjetljiv na inhalaciju histamina, t. j. dobiva astmatički napadaj, a kod inhalacije homolognog antigena ostaje zaštićen. Nadalje smo mogli dokazati da azuleni sprečavaju serotonsku astmu<sup>21</sup>. Iz tih razloga bilo je interesantno ispitati azulene u odnosu na resorpciju kroz kožu<sup>22</sup>. Pokuse smo izveli tako da smo zamorcima — jednoj grupi — davali u toku 2 dana 25 mg/kg, drugoj smo davali 50 mg/kg, a trećoj grupi 100 mg/kg. Kako se vidi iz tabele VI u svim slučajevima resorpcija kroz kožu je smanjena, što govori

Tabela VI.

	Broj životinja	Srednja tjel. težina u g	Smrt nakon (u min.)	Opaska
Kontrole	16	138	4,35	U odnosu na kontrole sve su vrijednosti signifikantne $P < 0,01$ .
Azulen SN 2 dana 25 mg/kg	16	137	6,40	
Azulen SN 50 mg/kg	11	180	7,47	
Azulen SN 100 mg/kg	8	121	6,29	Izračunato po Fisher R. Metodi statistici, Torino 1948.

u prilog naše teze da azulen sprečava izlaz H iz stanice. Irelevantno je naime da li je H odstranjen ili ne može doći do izražaja, t. j. mobilizirati se i oštetiti kapilare<sup>23</sup>. Da bi ovaj efekt azulena bolje eksperimentalno potvrdili, mi smo određivali i količinu H u koži štakora iza davanja azulena. Kako se vidi iz tabele VII azuleni stvarne ne mijenjaju količinu H

Tabela VII.

	Broj životinja	Srednja tj. težina u g	Histamin u koži (abdomen desno) gama/g	P	Opaska
Kontrole	10	117	63,18		
Tretirane sa Azulen SN	10	129	55,58	< 0,05	u odnosu na kontrole
Tretirane sa 48/80	10	114	24,83	< 0,01	u odnosu na kontrole
Tretirane sa Azulen SN i 48/80	10	123	42,84	< 0,001	u odnosu na životinje tretirane sa sa 48/80

u koži abdomena štakora, ako iza njih apliciramo 48/80. Time nam je još više razumljiv efekt koji smo dobili sa azulenima kod ispitivanja resorpcije kroz kožu.

Već smo u početku spomenuli da u koži pored H dolazi i 5HT, iako u koži čovjeka manje nego u koži štakora. Zbog toga smo izveli jednu seriju eksperimenata sa štakorima kojima je koža prethodno oslobođena od 5HT pomoću 5HT-Liberatora reserpina<sup>24</sup>. Parratt i West<sup>4</sup> su pokazali da ovaj alkaloid praktički ne utiče na količinu H, ali da snažno obara 5HT (vidi sl. IV). Mi smo jednoj grupi štakora davali 1 mg reserpina 2 dana i. p., a treći dan stavili u pokus i, kako se vidi iz tabele VIII došli

Tabela VIII.

	Broj životinja	Srednja tjel. težina u g	Smrt iza	Opaska	P
Kontrole	21	164	4h 20'		—
Reserpin 1 mg/kg i. p. 2 dana	18	158	3h 2'	3. dan uzete u pokus	0,01
Reserpin 1 mg/kg i. p.	12	170	3h 21'	Odmah nakon injekcije reserpina uzete u pokus	0,01
Reserpin 0,5 mg/kg i. p. 8 dana	16	154	4h 39'	9. dan uzete u pokus	—
5-hydroxy-tryptamin 15 mg/kg s. c.	10	149	4h 33'	Odmah nakon injekcije uzete u pokus	—

smo do neočekivanog rezultata. Iza reserpina resorpcija je signifikantno povećana. Budući da smo mislili da ova doza možda toliko mobilizira 5HT da se on još uvijek nalazi u koži, davali smo jednoj grupi štakora

0,5 mg reserpina u toku 8 dana i mogli smo ustanoviti da je resorpcija u to vrijeme opet postala normalna. Treća grupa štakora koja je primala reserpin svega jedanput 1 mg/kg i. p. i odmah stavljena u pokus, pokazala je isto povećanu resorpciju kroz kožu. Ako smo štakorima davali sam 5HT 15 mg/kg s. c., on nije utjecao na permeabilitet.

Budući da znamo da 5HT neusporedivo jače oštećuje kapilare nego H, ne začuđuju nas ovakvi rezultati iza davanja reserpina. Izgleda da kod kratkotrajnog davanja samo jedne doze i kod davanja u toku 2 dana reserpina on toliko ošteti kapilare da se poveća permeabilitet. Prema nekim autorima on djeluje na kapilare dvjesto puta jače od H<sup>25</sup>. Za 8 dana, kako vidimo, resorpcija je opet normalna, jer se valjda permeabilitet kapilara restaurirao. Mi smo se mogli uvjeriti (IX) da već jedna doza reserpina jako povisuje 5HT u krvi. Isto tako mogli smo dokazati da

Tabela IX.

	Broj životinja	Doza	5-HT u koži šije gama/g	5-HT u koži repa gama/g	5-HT u krvi gama/ml	Opaska
Kontrole	4	—	1,41	0,31	0,50	
Reserpin	6	1 mg/kg	1,45	0,56	0,69	Tretiranje reserpinom 3 sata prije žrtvovanja

Tabela X.

	Broj životinja	Doza	5HT u koži repa gama/g	Opaska
Kontrole	6		0,478	Tretirane reserpinom kroz 2 dana
Reserpin	6	1 mg/kg 2 dana	∅	

1 mg u toku 2 dana veoma jako snizuje 5HT u koži (X) a vjerovatno je u to vrijeme još povišen u krvi, što nismo određivali.

U ovoj grupi eksperimenata došli smo do vrlo interesantnih rezultata obzirom na smrtnu dozu KCN-a i reserpin. Pokazalo se naime da reserpin kao i drugi neuroplegici zaštićuje životinju od smrti uslijed letalne doze KCN (koja za štakora iznosi 10—15 mg s. c.<sup>20</sup>). Prema tome u pokusu resorpcije životinja umire brže nego kontrola od KCN-a, iako je primila reserpin, a kod s. c. davanja smrtno doze KCN-a je zaštićena. To nam je dalo povoda da prostudiramo točnije ove odnose. Jednoj grupi štakora davali smo s. c. KCN, ali vrlo polako, svakih 6 minuta po 0,1 cc vodene otopine. Ako smo injicirali 0,5% otopinu KCN na ovaj način, životinje su ginule za 36 minuta, dok kod injiciranja jedne smrtno doze najedanput ginu za 9—15 minuta. Kod polaganog injiciranja one su primile na 100 g težine 3 mg, što je najmanje dvostruka smrtna doza.

Ako smo davali 0,1%-tnu otopinu na ovaj način, štakori su ginuli za 5 sati i u to vrijeme primili su s. c. putem 5 mg/100 g, što iznosi više od 3 smrtno doze na kg. Na ovaj način nam postaje jasno zašto kod resorpcije KCN životinje koje su primile reserpin ginu brže od kontrola. Znači da primaju kroz kožu više od 50 mg/kg KCN, budući da se uginule za vrijeme kraće od 5 sati. Mogli smo se konačno uvjeriti da životinje koje su primale 2 dana po 1 mg reserpina, a treći dan dobile 50 mg KCN, ginu za normalno vrijeme. Prema tomu reserpin nije u stanju da zaštiti životinju od tako velike doze KCN.

Malo prije smo rekli da smo našli da azuleni zaštićuju životinje i od astme izazvane serotonin<sup>21</sup>. Prema tomue ovaj zaštitni efekt erulena u koži možemo dijelom pripisati njegovom antagonističkom djelovanju na serotonin.

Konačno ispitali smo i jednu grupu sterina (XI), jer smo rekli da sterini bez obzira na svoju specijalnu farmakološku i fiziološku ulogu svi od reda djeluju smanjujući permeabilitet kapilara<sup>10</sup>.

Tabela XI.

Supstanca	Doza mg/kg	Broj životinja	Srednja tjel. težina	Smrt u minutama
Kontrola	—	27	131	4,39
Deholin	20,0	6	121	7,6
Deholin	60,0	12	179	> 8
Dezoksikortikosteron	0,1	12	138	> 8
Dezoksikortikosteron	0,01	12	142	> 8
K strofantin	1,0	12	132	5,53
K strofantin	3,0	12	117	3,57

Najprije smo se poslužili dezoksiholnom kiselinom. Kako se vidi, kod pacova koji su primali 20 mg dezoksiholne kiseline resorpcija nije promijenjena, ali kod životinja koje su primile po 60 mg/kg resorpcija se već povisila na preko 8 sati, to znači da su bili potpuno zaštićeni od resorpcije KCN-a. U istu seriju pokusa spadaju i oni sa dezoksikortikosteronom. 0,1 i 0,01 mg/100 g dezoksikortikosterona potpuno zaštićuje štakora od trovanja sa KCN. Zadnja grupa štakora primala je K strofantin u dozi od 1 mg/kg, ali nije bilo nekog signifikantnog smanjenja resorpcije, za razliku od prva 2 sterina. Ako smo povećali dozu K strofantina 3 mg/kg, resorpcija se čak povećala, ali su varijacije u toj grupi vrlo velike, pa rezultat nije signifikantan. Inače je poznato da K strofantin smanjuje permeabilitet i kapilara i eritrocita. Štakori koji su

primili 60 mg/kg deholina i pola sata iza toga dobili 15 mg/kg KCN uginuli su u normalno vrijeme. Tako isto i životinje koje su primile 0,1 mg/kg dezoksikortikosterona nisu mogle podnijeti smrtnu dozu KCN danu s. c. 24 sata iza dezoksikortikosterona. Znači da ovi sterini stvarno smanjuju permeabilitet kapilara u koži pa ne može doći do resorpcije.

**Diskusija.** Kako se vidi iz svih tih podataka, resorpcija kroz kožu ponaša se različito na pomanjkanje biogenih amina. S druge strane supstance za koje znamo da smanjuju permeabilitet kapilara smanjile su i resorpciju kroz kožu.

Pomanjkanje H dovelo je do smanjenja permeabiliteta, što smo mi i očekivali, jer smo rekli da pretpostavljamo da to ide na račun smanjenja permeabilnosti kapilara u koriumu<sup>7</sup>. Otopljena supstanca koja prodire kroz akcesorne dijelove kože, gdje se jedino može resorbirati, mora preći kroz kapilare da bi došlo do toksičnog efekta. Da H ovde stvarno igra važnu ulogu, najbolji je dokaz to što smo dobili isti rezultat i sa polimiksinom B, koji reducira samo H iz kože za razliku od 48/80.

U tom smislu govori i efekt azulena, koji je isto smanjio resorpciju, a mogli smo dokazati da stvarno sprečava oslobađanje H iz kože iza aplikacije 48/80. Da kapilare u tkivu bez H stvarno postaju manje prohodne, najbolji je dokaz to da, ako tkivo unaprijed osiromašimo na H, pa onda damo jedan HL, edem više neće nastupiti, jer nema šta da ošteti kapilare<sup>27</sup>.

U prvi momenat iznenadio nas je rezultat sa reserpinom, no ako uzmemo u obzir da reserpin prema nekim autorima najmanje deset puta, a prema nekima do dvjesto puta jače oštećuje kapilare od H<sup>25</sup>, onda se to može rastumačiti. Vidimo da se 5HT vanredno brzo mobilizira, tako da već 3 sata nakon aplikacije reserpina imamo povećani permeabilitet i taj efekt traje još i treći dan. No ako dajemo dulje reserpin, 8. dan više nema povišenja resorpcije, nego se ona vraća na normalnu. To je vremenski vjerojatno dovoljno za restituciju kapilara. Nadalje vidimo da neki sterini snažno smanjuju resorpciju kroz kožu, tako da životinje žive dulje od 8 sati, a pokazalo se da većina njih preživi eksperiment i oporavi se potpuno za nekoliko dana, što smatramo vrlo značajnim i što bi moglo imati praktičnu primjenu u humanoj medicini. Deholin je netoksičan za čovjeka.

Kad već govorimo o humanoj medicini, onda treba ipak naglasiti da 5HT ne igra tako veliku ulogu u humanoj medicini kao kod nekih životinja<sup>28</sup>. Pa ipak treba si postaviti pitanje, da li neće davanje reserpina možda i kod čovjeka omogućiti lakšu penetraciju otrova kroz kožu. Da reserpin i kod čovjeka toliko mobilizira serotonin, da dolazi do toksičnih efekta, najbolji je dokaz to da reserpin kod čovjeka izaziva ulcus želuca<sup>29</sup> isto kao i kod štakora<sup>30</sup>, koji ima vanredno mnogo 5HT u koži, za razliku od čovjeka. Isto tako ovdje je potrebno istaknuti da potpuno ispražnjenje 5HT iz kože pomoću reserpina djeluje prema Storck-u sprečavajući ekcem izazvan sa 2,4 dinitroklorbenzolom<sup>31</sup>. Egzogeni 5HT nije mogao mijenjati permeabilitet vjerojatno zato, jer ne može tako intimno doći u kontakt sa kapilarama, odnosno u tako ogromnoj koncentraciji kao endogeni 5HT.

Teško je rastumačiti rezultate koje smo dobili sa K strofantinom. Doza od 1 mg nije signifikantno smanjila resorpciju, a veća doza od 3 mg je čak povećala resorpciju, ali opet ne signifikantno, jer su razlike vrlo velike: (Od 7 sati i 35 minuta do 1 sat i deset minuta.) Toksična doza K strofantina za štakora iznosi oko 17 mg/kg. Prema tomu radi se o dozama daleko ispod toksičnih. S druge strane treba znati da strofantin jako izbacuje kalij<sup>31</sup>, koji utiče i na permeabilitet i na diurezu, pa su možda zbog toga naši rezultati tako različiti.

U svakom slučaju vidimo ogromnu razliku između djelovanja H i 5HT na resorpciju kroz kožu. Mi to pripisujemo različitom intenzitetu djelovanja ovih agensa na permeabilitet kapilara.

Mislimo da iz svega toga možemo zaključiti da je stvarno permeabilitet kapilara koriuma odgovoran za ovakav ishod naših eksperimenata. Epidermis i nema kapilara, a rekli smo da se resorpcija, ukoliko postoji, odvija kroz akcesorne dijelove kože.

### Z a k l j u č a k

Služeći se metodom Massmann-a (KCN se resorbira kroz kožu repa štakora i registrira se vrijeme ugibanja životinje) studirali smo resorpcije kroz kožu. Interesirala su nas dva osnovna problema i to uloga biogenih amina, histamina i 5-hidroksitriptamina, te sterina na resorpciju kroz kožu. Osim toga ispitivali smo i jedan u vodi topivi azulen. Za studij funkcije biogenih amina poslužili smo se histamin-liberatorima 48/80 i polimiksinom B, a za studij uloge 5 hidroksitriptamina sa njegovim liberatorom reserpinom. Od sterina ispitivali smo deholin, dezoksikortikosteron i K strofantin. Osim toga ispitivali smo i utjecaj egzogenog histamina i 5 hidroksitriptamina na resorpciju kroz kožu. Rezultati su pokazali:

I. Histamin-liberator 48/80 kao i polimiksin B signifikantno smanjuju resorpciju KCN-a kroz kožu.

II. Reserpin, koji potiskuje 5 hidroksitriptamin iz kože, znatno povećava resorpciju kroz kožu. To se tumači jačim djelovanjem 5 hidroksitriptamina na kapilare kože štakora od histamina. Ako se reserpin daje dulje od 3 dana, permeabilitet kapilara se restaurira i resorpcija postaje opet normalna.

III. Egzogeni histamin i 5 hidroksitriptamin ne utječu na resorpciju kroz kožu. Akutno mobilizirani histamin (endogeni) smanjuje resorpciju uslijed cirkulatornih smetnji.

IV. Azulen SN koji sprečava izbacivanje histamina iz tkiva, smanjuje resorpciju kroz kožu, što se podudara sa gore navedenim rezultatima o histaminu.

V. Od upotrebljenih sterina dezoksikortikosteron potpuno zaštićuje životinju od resorpcije kroz kožu, a deholin samo u većoj dozi. K strofantin nije dao jednoznačajne rezultate.

Diskutira se o značenju ovih rezultata za patofiziologiju kožnih oboljenja.

**P. ŠTERN, PHARMAKOLOGISCHE ANALYSE  
DER HAUTPERMEABILITÄT**

**Z u s a m m e n f a s s u n g**

Nach Massmann's Methode (KCN wird durch die Schwanzhaut der Ratte resorbiert und der Zeitpunkt des Todeseintritts verfolgt) haben wir das Problem der Resorption durch die Haut studiert. Es interessierten uns zwei Grundprobleme und zwar die Rolle der biogenen Amine Histamin und 5-Hydroxytryptamin, sowie der Sterine bei der Resorption durch die Haut. Ausserdem untersuchten wir auch ein wasserlösliches Azulen. Bei der Untersuchung der Funktion der biogenen Amine verwendeten wir Histamin-Liberatoren 48/80 und Polymyxin B, und bei der Untersuchung der Rolle von 5-Hydroxytryptamin seinen Liberator Reserpin. Von den Sterinen untersuchten wie Decholin, Desoxicortico-steron und K Strophantin. Ausserdem prüften wir den Einfluss des exogenen Histamins und 5-Hydroxytryptamins auf die Resorption durch die Haut. Folgende Resultate wurden gewonnen:

I. Histamin-Liberator 48/80, sowie Polymyxin B vermindern signifikant die Resorption von KCN durch die Haut.

II. Reserpin, welches das 5-Hydroxytryptamin aus der Haut verdrängt, erhöht die Resorption durch die Haut bedeutend. Dies wird mit der stärkeren Wirkung des 5-Hydroxytryptamins auf die Hautkapillaren der Ratte im Vergleich zu Histamin erklärt. Wird Reserpin länger als 8 Tage verabreicht, so restauriert sich die Kapillarpermeabilität und die Resorption wird normal.

III. Exogenes Histamin und 5-Hydroxytryptamin können die Resorptionsfähigkeit der Haut nicht beeinflussen. Akut mobilisiertes Histamin (endogenes) vermindert die Resorption infolge zirkulatorischer Störungen.

IV. Azulen SN, welches die Histaminausschüttung aus dem Gewebe verhindert, vermindert die Resorptionsfähigkeit der Haut, was mit den oben erwähnten Resultaten mit Histamin übereinstimmt.

V. Von den verwendeten Sterinen schützt Desoxycorticosteron das Tier völlig von der Resorption durch die Haut, während Decholin dies nur in grösserer Dosis vermag. K-Strophantin ergab keine einheitlichen Resultate.

Es wird über die Bedeutung dieser Resultate für die Pathophysiologie der Hautkrankheiten diskutiert.

**L I T E R A T U R A**

1. Rothman S.: Physiology and Biochemistry of the Skin. The University of Chicago Press 1954.
2. Szakall A.: Berufsdermatosen 6, 171 (1958).
3. Shelley W., Melton F.: J. invest. dermat. 13, 61 (1949).
4. Parratt J., West G.: J. Physiol. 139, 27 (1957).
5. Perry W.: Ciba Symposium on Histamine. J. Churchill, London 1956. 42.
6. Stern P.: Radovi naučnog društva NRBiH VI, 6, (1956).  
Stern P.: III med. kongres za alergiju, Paris 1958. Excerpta medica.

7. Stern P., Adamič S.: Arch, int pharmacodyn 119, 177 (1959).
8. Stern P.: Jubilarno izdanje u čast Joachimoglu G. U štampi.
9. Stern P.: I med. kongres za alergiju, Zürich 1951. S. Karger Verlag Basel-New York 1952, 542.  
Stern P., Milin R.: Arzneimittelforschg. 6, 445 (1956).
10. Weese H.: Verhandlungen der dtsh. Gesellsch. f. Kreislaufforschung 16, 66 (1950).
11. Massmann W.: Arch toxicol. 16, 208 (1956).
12. Feldberg W., Talesnik J.: J. Physiol. 120, 550 (1953).
13. West G. B.: Int. Arch. Allergy 10, 257 (1957).
14. Code C.: J. Physiol. 89, 257 (1937).
15. Langemann H.: Klin. Wschr. 1956, 237.
16. Amin A., Crawford T., Gaddum J.: J. Physiol. 126, 596 (1954).
17. Patton W.: Brit. J. Pharmacol. 6, 499 (1951).
18. Parratt J., West G.: J. Physiol. 140, 105 (1958).
19. Selye H.: Endocrinology 21, 169 (1937).
20. Rosen A., Strandberg T., Uvnäs B.: Acta pharmacol. et toxicol. 13, 267 (1957).
21. Stern P.: Bulletin scientifique 3, 74 (1957).
22. Stern P., Adamič S.: U pripremi za štampu.
23. Stern P., Nikulin A.: Aertzliche Forschung 11, 495 (1957).
24. Adamič S., Stern P.: Allergie und Asthma 5, 29 (1959).
25. Rowley D., Benditt E.: J. exper. med. 103, 399 (1956).
26. Farris E., Griffith J.: The Rat. Lippincott Comp. II izdanje, Philadelphia, London, Montreal 1949.
27. Jaques R.: Helv. physiol. acta 11, C55 (1953).
28. Lewis G.: 5-Hydroxytryptamine. Pergamon Press, New York, London, Paris, Los Angeles 1958.
29. Hawerback B., Bogdansky D.: Proc. Soc. exper. Biol. Med. 95, 392 (1957).
30. Selye H., Bois P.: Allergie und Asthma 3, 11 (1957).
31. Schnyder U., Storck H.: Dermatologica 112, 419 (1956).
32. Greef K.: Dtsch. Med. Wschr. 1956, 666.

JAKOV GAON, ANDRIJA DARVAŠ, EVGENIJE ŠERSTNEV  
I GOJKO AGRAMOVIC

## REZULTATI ISPITIVANJA OSJETLJIVOSTI TJELESNIH UŠIJU NA DDT I DRUGE INSEKTICIDE U NR BIH

(Prilježeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 8-VII 1958 god.)

U v o d \*

Od 1945 godine se DDT upotrebljava skoro u cijelom svijetu u borbi protiv ušiju, raznih drugih vektora zaraznih bolesti i molestanata. Ubrzo se međutim uvidjelo da insekti zahvaljujući svom visokom stepenu varijabilnosti putem odabiranja stvaraju rezistentne sojeve. Nije potrebno naglašavati nespokoјstvo koje je ta činjenica izazvala u svijetu, a posebno u zemljama gdje se održavaju neke endemske bolesti, koje prenose uši ili drugi insekti. U cijelom svijetu pristupilo se izučavanju rezistencije ušiju na DDT i druge insekticide. Kod nas su taj problem obrađivali Vukasović i saradnici<sup>1</sup> i Lepeš<sup>2</sup>.

\*

Ušljivost je u NRBiH od prvorazrednog higijenskog i epidemiološkog značaja. Visoki postotak ušljivosti kod seoskog stanovništva pretstavlja stalnu latentnu opasnost izbijanja epidemija pjegavog tifusa u krajevima gdje postoje endemska ognjišta. Povremene manje epidemije koje su izbijale u raznim selima u NRBiH uspješno su lokalizovane zahvaljujući DDT-u. Međutim, uzimajući u obzir izvještaje iz izvjesnih zemalja<sup>3, 4, 5, 6</sup> koji govore o postojećoj otpornosti tjelesnih ušiju na DDT, odlučili smo, s obzirom na epidemiološku situaciju, da ispitamo u NRBiH stupanj eventualne rezistencije tjelesnih ušiju.

Metod rada: — Ispitivanja osjetljivosti tjelesnik ušiju vršena su sa tri insekticida: DDT, BHC i pyrethrum, i to sa sljedećim koncentracijama:

DDT — 0,1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; 1,0<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; 5,0<sup>0</sup>/<sub>0</sub>;

BHC — 0,25<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>;

Pyrethrum — 0,02<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; 0,04<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

---

\* U početku ovog rada prof. Dr. Vukasović pomogao nas je standard test opremom a naročito tehničkim uputstvima u izvodenju testa. Ovom prilikom mu se na ovome srdačno zahvaljujemo. U kasnijim testovima SZO snabdijevala nas je redovno potrebnom opremom. Ovaj rad je finansijski djelomično potpomognut u toku 1956 godine od KOMNIS-a.

Kod svakog testiranja je radena i odgovarajuća kontrola bez insekticida.

Pri svakom izlasku na teren u nekoj od zdravstvenih ustanova montirana je laboratorija, a uši su sakupljane sa školske djece. Škole su se pokazale kao pogodni objekti za sakupljanje ušiju iz nekoliko razloga. Pri višestrukom dolasku na jedno mjesto sakupljane su uši sa iste djece, tako da se istovremeno moglo pratiti i kretanje ušljivosti tokom jednog vremenskog perioda. Pri tome nije bilo nikakvog otpora, već naprotiv uspostavljena je prisna saradnja i razumijevanje sa nastavnim osobljem. Istovremeno smo se nadali da ćemo posmatranjem na istim lokalitetima tokom jednog određenog vremenskog perioda moći uočiti izvjesnu eventualnu promjenu u reagovanju ušiju na DDT.

Odmah poslije sakupljanja, po deset ušiju stavljano je na tkanine od pamučnog platna (površina 90 cm<sup>2</sup>), koje su prethodno razapete sa čavlima na lezonitne ploče. Na svakoj tkanini je špatulom rasprostrto po 0,5 gr. jedne od navedenih koncentracija DDT-a, BHC-a ili pyrethruma. Na kontrolnu tkaninu nije stavljan insekticid. Istovremeno su uvijek radene dvije uporedne serije svih koncentracija insekticida kao i kontrole, tako da se istovremeno radilo sa 18 tkanina sa po 10 ušiju. Poslije postavljanja na tkanine uši su poklopljene poklopcem od petri-ploče, koja je fiksirana sa dvije gumene trake. Svi testovi radeni su na temperaturi od 25° C. Upotrebljena su dva termostata. U jedan su stavljane ploče sa DDT, pyrethrumom i kontrola, a u drugi sa BHC-om, pošto je on isparljiv insekticid. Relativna vlaga u termostatu iznosila je 75—78%. Poslije 24 časa čitani su rezultati, odnosno bilježen broj mrtvih (nepokretnih), paralisanih (nesposobnih da koordinišu pokrete) i normalnih ušiju (normalna koordinacija pokreta) i sve uši su sa platna uklanjane. Odmah zatim na iste tkanine postavljan je isti broj ušiju. U toku svakog dana sakupljano je i testirano 180 ušiju, tako da je u sva tri dana ukupno testirano 540 ušiju, uključivo sa kontrolnim ušima.

Rezultati i diskusija rezultata. — U toku rada testirano je ukupno 6.780 ušiju.

Ispitivanja su vršena u četiri sreza NRBiH gdje je DDT u često upotrebi.

Srez Doboj (22.—25. III. 1956; 26.—29. IX. 1956; 24.—27. XII. 1956; 19.—22. II. 1957).

Klokotnica, Velika Brijesnica, Mala Brijesnica, Tešanj, Raduša, Grabska, Stanić Rijeka, Stjepan Polje.

Srez Banjaluka: (4.—7. VI. 1956; 11.—14. VII. 1956; 16.—19. V. 1957).  
Vrbanja, Čelinac, Rekavica, Karanovac, Krupa na Vrbasu, Han Kola, Šljivno, Ljubačevo, Štrbe, Opsečko, Kadina Voda.

Srez Goražde: (15.—18. V. 1956; 16.—19. IV. 1957).

Kopači, Zupčići, Miljeno, Ilovača, Ustiprača, Luke.

Srez Zvornik: (24.—27. V. 1954; 31. X. do 3. XI. 1956; 5.—8. XII. 1956; 26.—29. III. 1957).

Divić, Glumina, Caparde, Petkovci, Križevci, Memići.

U svrhu uprošćavanja tabela sa ciljem da rezultati budu pregledniji, izvršili smo na tabelama izvjesno sažimanje rezultata. Sabiranje rezultata istih koncentracija prve i druge serije koje su radene istog

Tab. I.

## NOS DOBOJ — DISTRICT DOBOJ

Konzentracija Insekticida	Datum testiranja				Dates of test																					
	22-25-III-1956 godine		26-29-IX-1956 godine		24-27-XII-1956 godine		19-22-II-1957 godine																			
	U Š I																									
Concentration of toxicant in powder	Normal	Paral- zovane Paralyzed	Mrtve Dead	Normal	Paral- zovane Paralyzed	Mrtve Dead	Normal	Paral- zovane Paralyzed	Mrtve Dead																	
	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %																	
DDT 0,1 g. %	2	3,3	14	23,3	44	73,4	8	13,3	15	25,0	37	61,7	2	3,3	2	3,3	56	93,3	20	33,3	10	16,7	30	50,0		
DDT 0,5 g. %	1	1,7	8	13,3	51	85,0	1	1,7	5	8,3	54	90,0	1	1,7	2	3,3	57	95,0	—	—	4	6,7	56	93,3		
DDT 1,0 g. %	2	3,3	10	16,7	48	80,0	—	—	2	3,3	58	96,7	—	—	4	6,7	56	93,3	2	3,3	3	5,0	55	91,7		
DDT 5,0 g. %	—	—	7	11,7	53	88,3	1	1,7	2	3,3	57	95,0	—	—	3	5,0	57	95,0	—	—	1	1,7	59	98,3		
BHC 0,25 g. %	—	—	4	6,7	56	93,3	2	3,3	8	13,3	50	83,4	—	—	2	3,3	58	96,7	2	3,3	8	13,3	50	83,4		
BHC 0,5 g. %	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	—	—	60	100	—	—	—	—	60	100	—	—	3	5,0	57	95,0		
Pyrethrum 0,02 g. %	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	—	—	—	60	100	
Pyrethrum 0,04 g. %	—	—	—	—	60	100	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	—	—	—	60	100	
Kontrola	59	98,3	—	—	1	1,7	60	100	—	—	—	—	—	—	54	90,0	—	—	6	10,0	58	96,7	—	—	2	3,3

Tab. II.

## NOS BANJA LUKA — DISCRICT BANJA LUKA

Konzentracija Insekticida	Datum testiranja				Dates of test														
	4-7-VI-1956 godine		11-14-VII-1956 godine		16-19-V-1957 godine		Lice												
	U Š I																		
Concentration of toxicant in powder	Normal	Paral- zovane Paralyzed	Mrtve Dead	Normal	Paral- zovane Paralyzed	Mrtve Dead	Normal	Paral- zovane Paralyzed	Mrtve Dead										
	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %	Br. %										
DDT 0,1 g. %	12	20,0	22	36,7	26	43,3	22	36,7	23	38,3	15	25,0	5	8,3	7	11,7	48	80,0	
DDT 0,5 g. %	—	—	9	15,0	51	85,0	1	1,7	7	11,7	52	86,7	1	1,7	4	6,7	55	91,7	
DDT 1,0 g. %	—	—	3	5,0	57	95,0	—	—	6	10,0	54	90,0	—	—	2	3,3	58	96,7	
DDT 5,0 g. %	1	1,7	5	8,3	54	90,0	—	—	3	5,0	57	95,0	—	—	4	6,7	56	93,3	
BHC 0,25 g. %	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1,7	59	98,3	
BHC 0,5 g. %	—	—	1	1,7	59	98,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	60	100	
Pyrethrum 0,02 g. %	—	—	—	—	60	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	60	100	
Pyrethrum 0,04 g. %	—	—	—	—	60	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	60	100	
Kontrola	57	95,0	—	—	3	5,0	60	100	—	—	—	—	—	56	93,3	—	—	4	6,7

dana razumljivo je. Međutim, mi smo sabrali i rezultate istih koncentracija dobijene prvog, drugog i trećeg dana, jer smo se uvjerali da u pojedinačnim rezultatima nema neke zakonite raznolikosti. Na taj način smo dobili preglednije tabele sa sažetim rezultatima od većeg broja jedinki. Osim toga nismo naznačili posebno rezultate za svako selo gdje smo uši testirali, ali smatramo da to nije bilo potrebno, jer se sva ta mjesta nalaze u bližoj okolini sreskog mjesta, gdje smo privremeno montirali laboratoriju i čije smo ime stavili na čelo tabele. Tako ustvari svaki srez uzimamo kao jedan lokalitet.

Ako razmotrimo tabele I—IV, vidjećemo da i pored toga što smo ispitivanja vršili svuda u rasponu od godinu dana (u Zvorniku u rasponu od tri godine) ni u jednom lokalitetu nismo uspjeli naći neku sistematsku promjenu u reagovanju ušiju na insekticide. Premda bi se možda moglo očekivati da će pri svakom izlasku na teren u rasponu od godinu dana u svakom lokalitetu biti veći procenat normalnih i manji procenat mrtvih ušiju, takve rezultate nismo dobili. Doduše, manje i veće oscilacije postoje, ali one očito ne predstavljaju odraz sistematskog smanjivanja senzibiliteta tjelesnih ušiju na ispitivane insekticide.

Tab. III.  
NOS GORAŽDE — DISTRICT GORAŽDE

Koncentracija insekticida Concentration of toxicant in powder	Datum destiranja — Dates of test											
	15—18-V-1956 godine						16—19-IV-1957 godine					
	Uši — Lice											
	Normalne Normal		Parali- zovane Paralyzed		Mrtve Dead		Normalne Normal		Parali- zovane Paralyzed		Mrtve Dead	
Br.	%	Br.	%	Br.	%	Br.	%	Br.	%	Br.	%	
DDT 0,1 g. %	4	6,7	9	15,0	47	78,3	18	30,0	12	20,0	30	50,0
DDT 0,5 g. %	—	—	5	8,3	55	91,7	3	5,0	5	8,3	52	86,7
DDT 1,0 g. %	—	—	3	5,0	57	95,0	—	—	2	3,3	58	96,7
DDT 5,0 g. %	—	—	—	—	60	100	—	—	1	1,7	59	98,3
BHC 0,25 g. %	—	—	—	—	60	100	—	—	1	1,7	59	98,3
BHC 0,5 g. %	—	—	—	—	60	100	—	—	—	—	60	100
Pyrethrum 0,02 g. %	—	—	2	3,3	58	96,7	—	—	—	—	60	100
Pyrethrum 0,04 g. %	—	—	—	—	60	100	—	—	—	—	60	100
Kontrola	60	100	—	—	—	—	57	95,0	—	—	3	5,0

S obzirom na gornje činjenice, a sa ciljem da bi dobili što pregledniju sliku sadašnjeg stanja u pogledu osjetljivosti ušiju na insekticide, sabrali smo sva ispitivanja jednog lokaliteta, bez obzira na datum ispitivanja (tabela V).

Ako želimo da izvedemo zaključke o osjetljivosti tjelesnih ušiju na insekticide, prije svega treba da proanaliziramo rezultate prirodnog mortaliteta ušiju u kontrolnim eksperimentima bez insekticida. Na tabelama I—V vidimo, da je kretanje mortaliteta relativno ujednačeno. Razlike u oscilacijama u pojedinim ogledima, koje se kreću od 0—11,7% nisu signifikantne.

Tab. IV.

## NOS ZVORNİK — DISTRICT ZVORNİK

Konzentracija Insekticida	Datum testiranja		Dates of test									
	24-27-V-1954 godine		31-X-3-XI-1956 godine									
	U ž i		L i c e									
Concentration of toxicant in powder	Nor- malne Normal	Parall- zovane Paralyzied	Mrtve Dead	Nor- malne Normal	Parall- zovane Paralyzied	Mrtve Dead	Nor- malne Normal	Parall- zovane Paralyzied	Mrtve Dead			
	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %			
DDT 0,1 g. %	11   18,3	8   13,3	41   68,3	3   5,0	1   1,7	56   93,3	7   11,7	7   11,7	46   76,6	6   10,0	9   15,0	45   75,0
DDT 0,5 g. %	2   3,3	5   8,3	53   88,3	2   3,3	4   6,7	54   90,0	—	3   5,0	57   95,0	—	2   3,3	58   96,7
DDT 1,0 g. %	7   11,7	12   20,0	41   68,3	—	3   5,0	57   95,0	1   1,7	5   8,3	54   90,0	—	5   8,3	55   91,7
DDT 5,0 g. %	—	3   5,0	57   95,0	—	1   1,7	59   98,3	2   3,3	2   3,3	56   93,3	—	4   6,7	56   93,3
BHC 0,25 g. %	—	2   3,3	58   96,7	1   1,7	3   5,0	56   93,3	—	—	60   100	3   5,0	11   18,3	46   76,6
BHC 0,5 g. %	—	—	60   100	—	1   1,7	59   98,3	—	1   1,7	59   98,3	—	2   3,3	58   96,7
Pyrethrum 0,02 g. %	—	2   3,3	58   96,7	—	—	60   100	—	—	60   100	—	—	60   100
Pyrethrum 0,04 g. %	—	—	60   100	—	—	60   100	—	—	60   100	—	—	60   100
Kontrola	56   93,3	—	4   6,7	53   88,3	—	7   11,7	58   96,7	—	2   3,3	57   95,0	—	3   5,0

Tab. V.

Konzentracija Insekticida	Srez - District Doboj		Srez - District Banja Luka		Srez - District Gorazde		Srez - District Zvornik					
	U ž i		L i c e		L i c e		L i c e					
	Nor- malne Normal	Parall- zovane Paralyzied	Mrtve Dead	Nor- malne Normal	Parall- zovane Paralyzied	Mrtve Dead	Nor- malne Normal	Parall- zovane Paralyzied	Mrtve Dead			
Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %	Br.   %				
DDT 0,1 g. %	32   13,3	41   17,1	167   69,6	39   21,7	52   28,9	89   49,4	22   18,3	21   17,5	77   64,2	27   11,2	25   10,0	188   78,8
DDT 0,5 g. %	3   1,2	19   7,9	218   90,9	2   1,1	20   11,1	158   87,8	3   2,5	10   8,3	107   89,2	4   1,7	14   5,8	222   92,5
DDT 1,0 g. %	4   1,7	19   7,9	217   90,4	—	11   6,1	169   93,9	—	5   4,2	115   95,8	8   3,3	25   10,0	207   86,7
DDT 5,0 g. %	1   0,4	13   5,4	226   94,2	1   0,5	12   6,7	167   92,8	—	1   0,8	119   99,2	2   0,8	10   4,2	228   95,0
BHC 0,25 g. %	4   1,7	22   9,2	214   89,1	—	2   1,7	118   98,3	—	1   0,8	119   99,2	4   1,7	16   6,7	220   91,6
BHC 0,5 g. %	—	4   1,7	236   98,3	—	1   0,8	119   99,2	—	—	120   100	—	4   1,7	236   98,3
Pyrethrum 0,02 g. %	—	3   1,2	237   98,8	—	—	120   100	—	2   1,7	118   98,3	—	2   0,8	238   99,1
Pyrethrum 0,04 g. %	—	1   0,4	239   99,6	—	—	120   100	—	—	120   100	—	1   0,4	239   99,6
Kontrola	231   96,3	—	9   3,7	173   96,1	—	7   3,9	117   97,5	—	3   2,5	224   93,3	—	16   6,7

Podaci o stanju ušiju u kontrolnim podgrupama su sljedeći:

Srez	Normalne žive	Mrtve	Ukupno
Doboj	231	9	240
Banjaluka	173	7	180
Goražde	117	3	120
Zvornik	224	16	240
<b>Ukupno:</b>	<b>745</b>	<b>35</b>	<b>780</b>

$$\chi^2 = 3,7$$

$$P = 0,30$$

Prema gornjem može se zaključiti da veoma vjerovatno u kontrolnim podgrupama nema razlike u ponašanju ušiju. Podgrupe su homogene. Srednja vrijednost mortaliteta pri kontroli svih testiranih ušiju iznosi 4,5% sa granicama povjerenja od  $\pm 1,91\%$  na nivou  $P = 0,01$ .

Pri razmatranju eventualnog postojanja rezistencije ušiju na insekticide, koje smo ispitivali, veoma je važno uspostavljanje izvjesnog standarda. S obzirom da je u uputstvu za rad koji je dala SZO (Svjetska zdravstvena organizacija) naglašeno da na najmanjim datim koncentracijama treba da uginu oko 100% nerezistentnih jedinki, mi smo u našem radu taj standard i usvojili. Drugi problem pri statističkoj obradi dobijenih rezultati bio je problem paralisanih ušiju. Mada je vjerovatno da paralisane uši tokom vremena neće više uzimati hranu i da će uginuti, ipak nismo mogli zanemariti ni mogućnost, da će se izvjestan procenat paralisanih ušiju povratiti i nastaviti normalan život. Ponavljajući standard SZO, da i na najmanjim koncentracijama datih insekticida mora uginuti oko 100% nerezistentnih jedinki, problem je pretstavljao da li paralisane uši uvrstiti u žive (mada će vjerovano u najkraćem roku uginuti bez uzimanje hrane) ili u mrtve (i pored toga što paraliza kod izvjesnog broja ušiju može biti reverzibilna). Napokon smo odlučili da uporedo vršimo dvije statističke analize: u jednoj analizi smo uzeli s jedne strane preživjele (normalne plus paralisane), s druge strane mrtve, a u drugoj analizi smo uzeli s jedne strane normalne, a s druge strane paralisane plus mrtve. Jasno je da smo na taj način dobili dva kriterijuma za zaključivanje o rezistenciji. U kriterijumu gdje smo uzeli normalne i paralisane uši dobili smo sigurne rezultate stvarnog mortaliteta, dok u drugom kriterijumu gdje smo izdvojili samo normalne uši, stekli pravo da sa velikom vjerovatnoćom zaključujemo o eventualnoj rezistenciji.

Iz tabele broj V vidi se visoki procenat normalnih ušiju na koncentraciji od 0,1% DDT-a u sva četiri lokaliteta.

Rezultati statističke analize (metod testiranja Kolmogorov-Smirnov) nam pokazuje da signifikantna razlika na 0,1% DDT-u u odnosu na standard SZO postoji u sva četiri lokaliteta sa 99,0% vjerovatnoće ( $P = 0,01$ ).

Doduše signifikantno nije utvrđena rezistencija u pojedinim lokalitetima za više koncentracije DDT-a, gdje broj normalnih opada i broj mrtvih raste sa povišavanjem koncentracije, ali ipak je činjenica da u svim lokalitetima imamo izvjestan procenat preživjelih i na višim koncentracijama DDT-a. Moramo tu primjetiti da naprimjer u Zvorniku imamo i neke nelogične oscilacije: na 1,0% DDT je veći postotak nor-

malnih jedinki (3,3%) nego na 0,5% DDT (1,7%) i veći je procenat uginulih jedinki na 0,5% DDT (92,5%) nego na 1,0% DDT (86,7%). Mi smatramo da se tu radi o grešci na osnovu varijacija koja ne utiče na zaključivanje o rezultatima. Ako želimo da protumačimo postojanje makar i malog broja normalnih ušiju, čak i na najvišim koncentracijama DDT-a u skoro svim lokalitetima, mišljenja smo, da s obzirom na signifikantno utvrđenu rezistenciju na koncentraciji od 0,1% DDT-a tu ne možemo govoriti o laboratoriskoj grešci već o izvjesnoj tendenciji ka rezistenciji.

S obzirom na našu pretpostavku o postojanju rezistencije pokušali smo međusobno uporediti četiri lokaliteta sa ciljem da vidimo u kom je lokalitetu rezistencija najviše izražena. Mora se odmah naglasiti da statističkom analizom nisu nađene signifikantne razlike među srezovima. Međutim pokušali smo naći izvjesne makar orijentacione razlike. Postavilo se opet pitanje kriterijuma, tj. da li ćemo naše pretpostavke zasnovati na procentu mrtvih ili na procentu normalnih ušiju, jer u zavisnosti od toga dobija se drukčiji redosljed radi različitog procenta paralizovanih ušiju u raznim lokalitetima. Nadalje, ispostavlja se da onaj redosljed lokaliteta koji važi za jednu koncentraciju ne važi za drugu. Uzevši u obzir sve ove činjenice, a zatim rezultate koje dobijamo sabiranjem mortaliteta svih ušiju na svim koncentracijama DDT-a unutar jednog lokaliteta, izlazi da je raspon mortaliteta među lokalitetima na svim koncentracijama DDT-a minimalan (81,0%—88,0%). Prema gornjem može se izvući realna pretpostavka da po pitanju osjetljivosti tjelesnih ušiju na DDT između četiri lokaliteta, koja smo ispitivali, veoma vjerovatno nema razlike. To nam nadalje dozvoljava da rezultate koje smo dobili u četiri lokaliteta sažmemo u jednu konačnu tabelu (tabela broj VI) te da izvršimo konačnu statističku analizu.

Tab. VI.

Koncentracija insekticida Concentration of toxicant in powder	Uši — Lice					
	Normalne Normal		Paralizovane Paralyzed		Mrtve Dead	
	Br.	%	Br.	%	Br.	%
DDT 0,1 g. %	120	15,4	139	17,8	521	66,8
DDT 0,5 g. %	12	1,5	63	8,1	705	90,4
DDT 1,0 g. %	12	1,5	60	7,7	708	90,8
DDT 5,0 g. %	4	0,5	36	4,6	740	94,9
BHC 0,25 g. %	8	1,1	41	5,7	671	93,2
BHC 0,5 g. %	—	—	9	1,3	711	98,7
Pyrethrum 0,02 g. %	—	—	7	1,0	713	99,0
Pyrethrum 0,01 g. %	—	—	2	0,3	718	99,7
Kontrola	745	95,5	—	—	35	4,5

Iz tabele broj VI može se zaključiti da je rezistencija ušiju na 0,1% DDT signifikantno dokazana. Istovremeno pošto sada raspolažemo sa daleko većim uzorkom (za svaku koncentraciju 780 odnosno 720 jedinki) statistička analiza nam kazuje sa 99% vjerovatnoće da signifikantnost postoji i na koncentracijama od 0,5% i 1,0% DDT-a. Ne treba da nas buni da u svakom lokalitetu posebno nismo mogli dokazati signifikantnost, a to činimo u sažetoj tabeli, jer treba uzeti u obzir da u njoj raspolažemo sa većim uzorkom, te je i standardna greška manja. Međutim ipak smatramo da tu moramo biti oprezni sa našim zaključivanjima, jer smo signifikantnu razliku u odnosu na standard SZO izveli testirajući posebno preživjele (normalne plus paralisane) a posebno mrtve uši. Nivo signifikantnosti  $P = 0,01$ ;  $D$  — maksimalna nađena razlika 0,3320 za 0,1% DDT, a 0,0961 za 0,5% DDT, dok su dopuštene razlike za obe koncentracije 0,0583 po metodi Kolmogorov-Smirnov. Prema Wright i Brown<sup>3</sup> naglašavaju ispravnost ovakvih zaključivanja, ne možemo zanemariti činjenicu, da ne bi dobili signifikantne rezultate ukoliko bi posebno testirali samo normalne i posebno paralisane plus mrtve uši. To nam ukazuje na to da pri donošenju suda o tome da li postoji rezistencija ušiju ili ne na 0,5% i 1,0% DDT presudnu ulogu igra činjenica, da li ćemo paralisane uši unositi u žive ili mrtve. Ako pretpostavimo da najveći dio paralisanih ušiju više ne uzima hranu, a ujedno želimo biti oprezni u našim zaključivanjima, pretpostavićemo da na 0,5% i 1,0% DDT za sada nema značajnije izražene rezistencije, ali postoji jaka tendencija u tom pravcu. (Nivo signifikantnosti  $P = 0,01$ ;  $D$  = maksimalna nađena razlika 0,1538, a dopuštena 0,0583 za 0,1% DDT. Za 0,5% DDT maksimalno nađena razlika 0,0154 a dopuštena 0,0583 po metodi Kolmogorov-Smirnov. Prema tome za 0,1% DDT postoji signifikantnost a za 0,5% DDT ne postoji). U prilog naše pretpostavke ide upoređivanje naših podataka sa standardima koje su dali Wright i Brown. Doduše navedeni autori smatraju da se mortalitet ušiju na 0,1% kod nerezistentnog »Orlando« soja kreće od 85—100% (a ne 100% kao što je dato u uputstvu SZO kojeg smo se striktno pridržavali), ali s druge strane oni navode da opšti mortalitet na svim datim koncentracijama DDT-a kod nerezistentnog »Orlando« soja iznosi 99%, a u našim lokalitetima iznosi 86,2% (Doboj); 81,0% (Banjaluka); 87,1% (Goražde); 88,0% (Zvornik). Gornji rezultati dosta slikovito govore u prilog vrlo vjerovatne pretpostavke o postojanju rezistencije odnosno jake tendencije ka rezistenciji u sva četiri lokaliteta koje smo ispitivali. Ni u jednom lokalitetu (tabela I—IV) nismo mogli uočiti u vremenskim razmacima izvjesno povećanje rezistencije. Smatramo da objašnjenje za tu činjenicu treba tražiti u tome da se zadnjih godina od strane sanitarnih organa sve manje primjenjuje DDT na terenu (impregnacija rublja), te samim tim popušta onaj jaki selekциони pritisak, koji eliminiše nerezistentne jedinke.

\*

Ostaje nam još da vidimo rezultate ispitivanja djelotvornosti BHC-a i pyrethruma. U djelovanju bilo kojeg od ovih insekticida nema neke bitne razlike pri vremenski raznim ispitivanjima jednog lokaliteta (tabela I—IV), niti ima razlike u djelovanju između četiri ispitana lokaliteta (tab. V). To nam omogućava da zaključke donesene na osnovu sazetih podataka iz tab. VI, gdje se statističkom analizom može utvrditi da signifikantna razlika u odnosu na standard SZO postoji samo kod BHC-a

i to na koncentraciji 0,25% (mortalitet 93,2%). Polazeći opet sa stanovišta da smo navedenu signifikantnost dobili testirajući samo procenat mrtvih (kad testiramo mrtve i paralisane zajedno signifikantne razlike u odnosu na standard SZO ne dobijamo) ne možemo tvrditi da rezistencija na 0,25% BHC stvarno postoji, ali možemo pretpostaviti da vjerovatno postoji tendencija u tom pravcu.

Mortalitet ušiju na 0,5% BHC (98,7%) dokazuje da na toj koncentraciji nema neke jače izražene tendencije ka rezistenciji, ali 6,8% preživjelih ušiju na 0,25% koncentracije BHC-a govori u prilog da to ne pretstavlja laboratorijsku grešku.

Što se tiče djelovanja pyrethruma, na osnovu tab. VI možemo zaključiti da je od svih upotrebljenih insekticida njegovo djelovanje najjače na tjelesnoj uši. Na svaku koncentraciju pyrethruma je istestirano po 720 ušiju, ali nikada nismo dobili ni jednu normalnu uš.

#### KRETANJE UŠLJIVOSTI

Tab. VII. BODY LICE AMONG THE POPULATION

Mjesto — Locality	Datumi skupljanja ušiju i vršenje testa Dates of tests			
Srez — District D o b o j	62% III. 1956	56% IX 1956	19% XII 1956	24% II. 1957
Srez — District B a n j a L u k a	75% VI. 1956	50% VII. 1956	22% V. 1957	
Srez — District G o r a ž d e	72% V. 1956	32% IV. 1957		
Srez — District Z v o r n i k	67% X. 1954	32% XI. 1956	39% XII. 1956	40% III. 1957

Mišljenja smo da bi od izvjesnog interesa bilo ukratko se osvrnuti na kretanje ušljivosti u četiri ispitivana lokaliteta (tabela VII). Pada u oči da je ušljivost u svim mjestima ispitivanja u znatnom padu. Ušljivost je gledana samo kod školske djece (pri svakom obilasku pregledano oko 300 djece) a ne i kod odraslog stanovništva, jer se školska djeca mogu uzeti kao osnova za generalizaciju. Pad ušljivosti je ipak realan samo za lokalitete koje smo ispitivali, jer smo konstantno obilazili iste škole, te je vjerovatno naše prisustvo imalo odlučujućeg značaja u smislu obraćanja pažnje na taj problem kako kod nastavnog osoblja tako i kod roditelja djece.

Zaključak: — Po metodici koju je dala SZO izvršili smo testiranje 6,780 tjelesnih ušiju na DDT (0,1%<sup>o</sup>; 0,5%<sup>o</sup>; 1,0%<sup>o</sup>; 5,0%<sup>o</sup>), BHC (0,25%<sup>o</sup>; 0,5%<sup>o</sup>) i pyrethrum (0,02%<sup>o</sup>; 0,04%<sup>o</sup>). Testiranja su vršena u četiri sresa u NRBiH (srez Doboj, srez Banjaluka, srez Goražde i srez Zvornik) gdje je DDT bio u čestoj upotrebi. Svaki srez je uzet kao jedan lokalitet.

S obzirom da prilikom višestrukih ispitivanja u toku od 1956—1957 godine (u srezu Zvornik u toku od 1954—1957 godine) nije uočena neka sistematska promjena u reagovanju ušiju na insekticide, rezultati ispitivanja su sažeti za svaki lokalitet posebno. Upoređujući međusobno četiri sreza, koje smo ispitivali, vidi se da među njima takode nema neke bitne razlike u reagovanju na navedene insekticide. Zato su rezultati iz četiri lokaliteta pod pretpostavkom da su uši homogene u svom reagovanju na insekticide sažeti u jednu konačnu tabelu (tabela VI).

Na osnovu sažetih rezultata iz četiri lokaliteta zaključuje se sljedeće:

- 1) postoji jasna rezistencija tjelesnih ušiju na 0,1% DDT-a, a na 0,5% i 1,0% postoji vjerovatna tendencija ka rezistenciji;
- 2) postoji vjerovatna tendencija ka rezistenciji tjelesnih ušiju na 0,25% BHC. Na 0,5% BHC tendencija ka rezistenciji ne postoji;
- 3) pyrethrum se pokazao kao najdjelotvorniji insekticid. U njegovom dejstvu na tjelesne uši nije uočena ni najmanja tendencija ka rezistenciji.

**J. GAON, A. DARVAŠ, E. ŠERSTNEV & G. AGRAMOVIĆ,  
RESULTS OF TESTS DESIGNED TO DETERMINE RESISTENCE OF  
BODY LICE TO D. D. T. AND OTHER INSECTICIDES IN THE PEOPLE'S  
REPUBLIC OF BOSNIA & HERZEGOVINA**

**S u m m a r y**

Body lice collected several times in four districts of the P. R. Bosnia and Herzegovina were exposed to various concentrations of insecticides DDT (0,1%; 0,5%; 1,0%; 5,0%); BHC (0,25%; 0,5%); and Pyrethrum (0,02%; 0,04%). A total of 6780 body lice were tested using the method of W. H. O.

The following results have been obtained:

- 1) The body lice showed a distinct resistance to 0,1% DDT and a tendency of resistance to 0,5% and 1,0% DDT.
- 2) There is a tendency of resistance to 0,25% BHC but no tendency of resistance to 0,5% BHC.
- 3) The body lice showed the greatest susceptibility to pyrethrum. All 720 body lice died when exposed to this insecticide.

**L I T E R A T U R A**

- 1) Dr. P. Vukasović, Dr. S. Borjanović, A. Martinović — Prethodna ispitivanja rezistencije čovječije tjelesne vaši (*Pediculus humanus corporis*); Rezistencija insekata prema insekticidima. — Glasnik Higijenskog instituta. Sv. 1—2 (1956), Beograd.
- 2) Dr. Tibor Leps: Rezultati ispitivanja rezistencije tjelesnih vašiju (*Pediculus humanus corporis*, Deg.) prema DDT-u u srezu Istočkom (Kosmet). Vojno-sanitetski pregled, 1—2, 1957.
- 3) J. W. Wright; A. W. A. Brown: Survey of possible insecticide resistance in body lice. — Bulletin, of the World Health Organisation 1957, 16, 9—31.
- 4) Hurlbut, H. S., Altman, R. M. and Nibly, Carlyle, DDT, resistance in Korean body lice, Science 115. Jr. 1952. 11—12.
- 5) Herbert S. Hurlbut, Robert L. Peffly and Abdel Aziz Salah — DDT Resistance in Egyptian Body Lice. Amer. Journ. trop. Med. Hyg. 3; 922.
- 6) Herbert C. Barnett, Edw. C. Knoblock — Chemical and Biolog. Stud. on DDT x Resistance of Lice. U. S. Armed Forces., Med. J. 3:297—304 1957.

HAJRUDIN HADŽISELIMOVIĆ

## MORFOLOŠKE ODLIKE DUGIH KOSTIJU DONJIH EKSTREMITETA KOD NAŠIH NARODA

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

### Cilj rada

Ispitivanje dugih kostiju naših naroda i upoređenje dobivenih rezultata sa rezultatima kod drugih naroda predstavljaju povod za obradu ovog problema.

Poznavanje pojedinih indeksa butne kosti i golenjače ima i praktični značaj za sudsko-medicinska ispitivanja pronađenih pojedinih delova ovih kostiju. Indeksi dobiveni na našem materijalu omogućuju nam ispitivanje pronađenih ostataka kostiju predašnjih generacija.

Na osnovu poznatih indeksa moguće je kod pronađenog jednog dela kosti govoriti o dužini iste, kao i o dužini tela ispitivane osobe kojoj taj pronađeni materijal pripada.

Prema tome izraditi na velikom materijalu tablice naših indeksa, radi proučavanja dugih kostiju našeg naroda, predstavlja poseban interes pri obradi ovog problema.

Posebno smo se osvrnuli i na ispitivanje pojedinih morfoloških osobina femura i tibiae upoređujući dobivene rezultate sa rezultatima drugih naroda.

**Materijal i metod rada:** Ispitivanja su vršena na 200 femura i 200 tibija. Polne razlike su ispitivane na 50 muških i 50 ženskih objekata.

**Sredstva za merenje:** Metar, nonius, tast-cirkl i episkop.

### Naša istraživanja

#### Indeksi:

#### Z a f e m u r

1. Index tibialis. 2. Index platcnemicus. 3. Index femoro-tibialis. femura. 2. Indeks poprečnog preseka vrata. 3. Indeks koji smo dobili iz odnosa veličine proksimalne širine epifize i trohanterične dužine femura. 4. Index platimericus. 5. Index pilastricus. 6. Indeks koji smo dobili iz odnosa obima diafize i trohanterične dužine femura. 7. Index popliteus. 8. Index condyloideus medialis. 9. Index condyloideus lateralis.

**Z a t i b i j u:**

1. Index tibialis. 2. Index platicnemius. 3. Index femoro-tibialis.

**Uglovi:****Z a f e m u r:**

1. Kolodiazifzni ugao (angulus collodiaphyseos), kao i varijacije ovog ugla prema polu.

**Z a t i b i j u:**

1. Retroverzioni ugao (angulus retroversionis), kao i varijacije prema polu.

**Obimi:****Z a f e m u r:**

1. Obim glave. 2. Obim sredine tela.

**Dužine:****Z a f e m u r:**

1. Maksimalna dužina femura u prirodnom položaju. 2. Trohanterična dužina u prirodnom položaju.

**Z a t i b i j u:**

1. Maksimalna dužina tibije.

**Glava femura****Sagitalni prečnik:**

1. Na 200 femura dobili smo sagitalni prečnik . . . . . 46,3 mm.

**Varijacije prema polu:**

2. Na 50 muških dobili smo sagitalni prečnik . . . . . 47,9
3. Na 50 ženskih femura sagitalni prečnik . . . . . 41,9

**Vertikalni prečnik:**

1. Na 200 femura vertikalni prečnik iznosi . . . . . 46,2

**Varijacije prema polu:**

2. Na 50 muških vertikalni prečnik iznosi . . . . . 48,1
3. Na 50 ženskih femura vertikalni prečnik iznosi . . . . . 42,1

**Obim glave**

1. Na 200 femura obim iznosi . . . . . 147,7

**Varijacije prema polu:**

2. Na 50 muških dobili smo sledeću vrednost za obim glave 151,6
3. Na 50 ženskih dobili smo sledeću vrednost za obim glave 138

Indeks koji smo dobili iz poznatog obima glave i poznate trohanterične dužine femura u prirodnom položaju, množeći dobiveni rezultat sa 100 iznosi:

1. Na 200 femura . . . . . 35,3

**Varijacije prema polu:**

2. Na 50 muških . . . . . 36,1
3. Na 50 ženskih . . . . . 35,3

**Obim glave s pogledom na strane**

1. Desni muški (30 femura) iznosi . . . . . 150,9
2. Levi muški (20 femura) iznosi . . . . . 152,3
3. Desni ženski (30 femura) iznosi . . . . . 138,8
4. Levi ženski (20 femura) iznosi . . . . . 137,2

## VRAT

### Sagitalni prečnik:

1. Na 200 femura dobili smo sagitalni prečnik . . . . . 26,5

### Varijacije prema polu:

2. Na 50 muških, sagitalni prečnik . . . . . 27,6

3. Na 50 ženskih, sagitalni prečnik . . . . . 24

### Vertikalni prečnik:

1. Na 200 femura vertikalni prečnik iznosi . . . . . 33,6

### Varijacije prema polu:

2. Na 50 muških, vertikalni prečnik iznosi . . . . . 35

3. Na 50 ženskih, vertikalni prečnik iznosi . . . . . 30,3

### Varijacije ovih prečnika s obzirom na strane femura

	Sagitalni prečnik	Vertikalni prečnik
1. Muški desni (30 femura) . . . . .	26,9	34,4
2. Muški levi (20 femura) . . . . .	28,1	35,6
3. Ženski desni (30 femura) . . . . .	22,9	30
4. Ženski levi (20 femura) . . . . .	25	30,5

## INDEKS POPREČNOG PRESEKA VRATA

1. Na 200 femura dobili smo indeks . . . . . 78,9

### Varijacije prema polu:

2. Na 50 muških dobili smo indeks . . . . . 78,7

3. Na 50 ženskih dobili smo indeks . . . . . 79,7

### Varijacije s obzirom na strane:

1. Na 30 muških femura sa desne strane dobili smo indeks 78,1

2. Na 20 muških femura sa leve strane dobili smo indeks 78,9

3. Na 30 ženskih femura sa desne strane dobili smo indeks 76,3

4. Na 20 ženskih femura sa leve strane dobili smo indeks 82

## KOLODIJAFIZNI UGAO

1. Na 200 femura dobili smo ugao . . . . . 118,4

### Varijacije s pogledom na pol:

2. Na 50 muških femura ugao iznosi . . . . . 118,8

3. Na 50 ženskih femura ugao iznosi . . . . . 115,4

### Proksimalna širina gornje epifize:

1. Na 200 femura dobili smo vrednost za proksimalnu širinu . . . . . 95,4, indeks 43,8

### Varijacije vrednosti proksimalne širine prema polu:

2. Na 50 muških femura dobili smo vrednosti 98, indeks 42,8

3. Na 50 ženskih femura dobili smo vrednosti 86,7 indeks 45,1

Ovaj indeks smo dobili iz odnosa trohanterične dužine femura u prirodnom položaju i proksimalne širine epifize množeci dobiveni rezultat sa 10.

## PROKSIMALNI OKRAJAK FEMURA CRISTA INTERTROCHANTERICA

1. Na 200 femura dobili smo ove vrednosti za cristu intertrochantericu  
130 femura sa osrednje izraženom kristom,



- 50 femura sa jako izraženom kristom,  
20 femura sa slabo izraženom kristom.

### LINEA INTERTROCHANTERICA

#### 1. Na 200 femura:

- 105 femura je sa osrednje izraženom lineom intertrochant.  
54 femure sa jako izraženom lineom intertrochant.  
30 femura sa slabo izraženom lineom intertrochant.  
11 femura kod kojih nedostaje linea intertrochanterica.

### TROCHANTER MINOR

Radeći na 200 femura primetili smo da i sam trochanter minor pokazuje varijacije u pogledu svoje veličine, svoga oblika, kao i svoga položaja. Pretežno sve su kosti imale trochanter minor izražen, ali su se njegova veličina, njegov oblik kao i položaj menjali.

Položaj je bio različit: trochanter minor na 44 kosti izgleda kao da je usađen u zadnju stranu femura sa vrhom koji gleda vrlo malo unutra, ali više pozadi. Na 1 femuru primetili smo da je vrh trochanter minor-a savijen u obliku kuke i gleda više na spoljnu stranu. Zatim postoji razlika u samom rasporedu koštanog tkiva u okolini trochanter-a, kao i na samom trochanter minor-u. Ta razlika je izražena s obzirom na pol. Normalno koštano tkivo, koje se u obliku jedne zrakaste lepeze širi na zadnjoj strani trochanter minor-a počevši od njegovog vrha prema okolini, na dosta velikom broju femura nije izraženo. Zapazili smo da ženske kosti pokazuju jače izražen ovaj reljef nego muške.

Možda je kod njih ta arhitektonska slika reljefa bolje izražena zbog toga što su kod njih zaista svi indeksi manji nego kod muških kostiju. Usled te umanjenosti izgleda na prvi pogled da su kosti ženske kompaktnije i prema tome izgledaju i ovi reljefi jače izraženi kod ženskih femura negoli kod muških. Druga pretpostavka ne bi bila moguća, jer je isključeno da je musculus ilio-psoas u svojoj kontrakciji više upotrebljen kod žena nego kod muškaraca.

U pogledu oblika našli smo da su ženski trohanteri više zaobljeni i da im je vrh slabije izražen, dok je vrh kod muških jače izražen. Samo su trohanteri minori kod muških femura veći, a kod ženskih femura, pored male veličine trohantera minora, upada u oči i orijentiranost vrha više prema zadnjoj strani femura.

### TROCHANTER TERTIUS

Na 200 femura ispitivali smo izraženost trochanter tertius-a. Našli smo da se trochanter tertius javlja, kod nas, u 32% slučajeva dobro izražen.

### TELO FEMURA ZA INDEX PLATIMERICUS, SAGITALNI PREČNIK

1. Na 200 femura sagitalni prečnik iznosi . . . . . 27,7

Varijacije prema polu:

2. Na 50 muških femura sagitalni prečnik iznosi . . . . . 29,1  
3. Na 50 ženskih femura sagitalni prečnik iznosi . . . . . 25,9

**TRANSVERZALNI PREČNIK**

1. Na 200 femura transverzalni prečnik iznosi . . .	32,5
Varijacije prema polu:	
2. Na 50 muških femura transverzalni prečnik iznosi .	32,3
3. Na 50 ženskih femura transverzalni prečnik iznosi .	30,8

**INDEX PLATIMERICUS**

1. Na 200 femura index platimericus . . . . .	85,2
Varijacije prema polu:	
2. Na 50 muških femura index platimericus . . . . .	90
3. Na 50 ženskih femura index platimericus . . . . .	84

Varijacije ovih veličina s pogledom na strane femura:

1. Na 30 femura muških			
	sagitalni prečnik	transv. prečnik	index plat.
sa desne strane . . . . .	29,9	33,3	89,7
2. Na 20 muških levih . . . . .	28,4	31,3	90,7
3. Na 30 ženskih desnih . . . . .	25,5	32	79,6
4. Na 20 ženskih levih . . . . .	25,1	29,6	84,7

Sagitalni i transverzalni prečnik ovog indeksa merili smo u oblasti 2—3 cm. ispod trochanter minor-a.

**ZA INDEX PILASTRICUS,  
SAGITALNI PREČNIK**

1. Na 200 femura sagitalni prečnik . . . . .	28,2
Varijacije prema polu:	
2. Na 50 muških femura sagitalni prečnik . . . . .	28,8
3. Na 50 ženskih femura sagitalni prečnik . . . . .	26

**TRANSVERZALNI PREČNIK**

1. Na 200 femura transverzalni prečnik . . . . .	27,8
Varijacije prema polu:	
2. Na 50 muških femura transverzalni prečnik . . . . .	28,3
3. Na 50 ženskih femura transverzalni prečnik . . . . .	25,8

**INDEX PLATIMERICUS IND. PILAST.**

1. Na 200 femura . . . . .	85,2	101,4
Varijacije prema polu:		
2. Na 50 muških femura . . . . .	90	101,7
3. Na 50 ženskih femura . . . . .	84	100,8

Varijacije indeksa pilastrikusa s pogledom na strane femura:

1. Na 30 muških femura indeks sa desne strane iznosi .	99,6
2. Na 20 muških femura indeks sa leve strane iznosi .	102,4
3. Na 30 ženskih femura indeks sa desne strane iznosi	101,1
4. Na 20 ženskih femura indeks sa leve strane iznosi	101,9

Odnos indeksa platimerikusa i indeksa pilastrikusa s pogledom na strane femura:



	Indeks platimerikus		Indeks pilastrikus	
1. Na 30 muških desnih femura . . . . .	89,7		99,6	
2. Na 20 muških sa leve strane . . . . .	90,7		102,4	
3. Na 30 ženskih sa desne strane . . . . .	79,6		101,1	
4. Na 20 ženskih sa leve strane . . . . .	84,7		101,9	
<b>Obim tela</b>				
Proksimalno Indeks	Sredina Indeks	Distalno Indeks		
100	41,8	93	44,9	125
				33,4

Ovaj indeks smo dobili deobom poznate trohanterične dužine femura u prirodnom položaju sa obimom tela, množeći dobiveni rezultat sa 10.

### ZA INDEX POPLITEUS

1. Index popliteus pretstavlja odnos sagitalnog i transverzalnog prečnika u oblasti planum popliteum-a i to 4 cm. iznad facies patellaris.

### SAGITALNI PREČNIK

1. Na 200 femura sagitalni prečnik iznosi . . . . .	31,5
<b>Varijacije prema polu:</b>	
2. Na 50 muških femura sagitalni prečnik . . . . .	31,8
3. Na 50 ženskih femura sagitalni prečnik . . . . .	28,6

### TRANSVERZALNI PREČNIK

1. Na 200 femura ovaj prečnik iznosi . . . . .	41,5
<b>Varijacije prema polu:</b>	
2. Na 50 muških femura prečnik iznosi . . . . .	42
3. Na 50 ženskih femura prečnik iznosi . . . . .	38,9

### INDEX POPLITEUS

1. Na 200 femura ovaj indeks iznosi . . . . .	75,9
<b>Varijacije prema polu:</b>	
2. Na 50 muških femura indeks iznosi . . . . .	75,7
3. Na 50 ženskih femura indeks iznosi . . . . .	73,5

### ZA INDEX CONDYLOIDEUS MEDIALIS

Taj indeks pretstavlja odnos između trohanterične dužine femura u prirodnom položaju i dužine condylus medialis-a multipliciran sa 10.

### SAGITALNI PREČNIK

1. Na 200 femura sagitalni prečnik . . . . .	61,6
<b>Varijacije prema polu:</b>	
2. Na 50 muških femura sagitalni prečnik . . . . .	63,7
3. Na 50 ženskih femura sagitalni prečnik . . . . .	58

### INDEX CONDYLOIDEUS MEDIALIS

1. Na 200 femura ovaj indeks iznosi . . . . .	67,8
<b>Varijacije prema polu:</b>	
2. Na 50 muških femura indeks iznosi . . . . .	65,9
3. Na 50 ženskih femura indeks iznosi . . . . .	67,3

Varijacije sagitalnog prečnika, kao i index-a condyloideus medialis-a, s obzirom na strane:

	sagit. prečnik	troh. dužina u prirodnom položaju	index
1. Na 30 muških femura sa desne strane . . . . .	68,5	419	61,1
2. Na 20 levih muških femura . . . . .	68,9	420,5	61
3. Na 30 ženskih desnih femura . . . . .	58,4	388,2	66,4
4. Na 20 ženskih sa leve strane . . . . .	57,7	393,4	68,2

#### ZA INDEX CONDYLOIDEUS LATERALIS, SAGITALNI PREČNIK

1. Na 200 femura sagitalni prečnik . . . . .	62,5
Varijacije prema polu:	
2. Na 50 muških femura sagitalni prečnik . . . . .	64,1
3. Na 50 ženskih femura sagitalni prečnik . . . . .	58,2

#### INDEX CONDYLOIDEUS LATERALIS

1. Na 200 femura dobili smo indeks . . . . .	68,4
Varijacije prema polu:	
2. Na 50 muških femura dobili smo indeks . . . . .	65,9
3. Na 50 ženskih femura dobili smo indeks . . . . .	67,1

Ovaj indeks predstavlja odnos trohanterične dužine femura u prirodnom položaju i sagitalnog prečnika cond. lateralis-a multipliciran sa 10.

Varijacije sagitalnog prečnika i indeksa cond. lateralis-a prema stranama:

	sagit. prečnik	troh. dužina u prirodnom položaju	index
1. Na 30 muških femura sa desne strane . . . . .	64	419	65,5
2. Na 20 levih muških . . . . .	64,2	420,5	68,6
3. Na 30 ženskih desnih . . . . .	58,4	388,2	66,4
4. Na 20 ženskih levih . . . . .	58	393,4	67,8

#### DISTALNA ŠIRINA

1. Na 200 femura dobili smo distalnu širinu . . . . .	79,9	index	52,2
Varijacije prema polu:			
2. Na 50 muških femura dobili smo distalnu širinu . . . . .	82,5	index	50,8
3. Na 50 ženskih femura dobili smo distalnu širinu . . . . .	74,8	index	52,2

#### DUŽINE FEMURA

Maksimalna dužina femura u prirodnom položaju:

1. Na 200 femura ta dužina iznosi . . . . .	435,2
Varijacije prema polu:	
2. Na 50 femura muških dužina iznosi . . . . .	442
3. Na 50 ženskh femura dužina iznosi . . . . .	412,7



- Varijacije ove dužine prema stranama femura:
1. Na 30 muških femura sa desne strane dužina iznosi 440,1
  2. Na 20 muških femura sa leve strane dužina iznosi 443,1
  3. Na 30 ženskih femura sa desne strane dužina iznosi 412,6
  4. Na 20 femura ženskih sa leve strane dužina iznosi 412,9

**TROHANTERIČNA DUŽINA FEMURA  
U PRIRODNOM POLOŽAJU**

1. Na 200 femura ova dužina iznosi . . . . . 417,8
- Varijacije prema polu:
2. Na 50 muških femura . . . . . 419,7
  3. Na 50 ženskih femura . . . . . 390,8
- Varijacije trohanterične dužine u prirodnom položaju prema stranama femura:
1. Na 30 muških femura sa desne strane . . . . . 419
  2. Na 20 muških femura sa leve strane . . . . . 420,5
  3. Na 30 ženskih femura sa desne strane . . . . . 388,2
  4. Na 20 ženskih femura sa leve strane . . . . . 393,4

**TIBIA  
INDEX TIBIALIS,  
SAGITALNI PREČNIK**

1. Na 200 tibija sagitalni prečnik iznosi . . . . . 30,1
- Varijacije prema polu:
2. Na 50 muških tibija sagitalni prečnik . . . . . 30
  3. Na 50 ženskih tibija sagitalni prečnik . . . . . 26,9

**TRANSVERZALNI PREČNIK**

1. Na 200 tibija transverzalni prečnik . . . . . 22
- Varijacije prema polu:
2. Na 50 tibija muških transverzalni prečnik . . . . . 21,9
  3. Na 50 tibija ženskih transverzalni prečnik . . . . . 24,6

**INDEX TIBIALIS**

1. Na 200 tibija dobili smo indeks . . . . . 73,8
- Varijacije prema polu:
2. Na 50 muških tibija dobili smo indeks . . . . . 73
  3. Na 50 ženskih tibija dobili smo indeks . . . . . 91,4

**ZA INDEX PLATICNEMICUS,  
SAGITALNI PREČNIK**

1. Na 200 tibija sagitalni prečnik . . . . . 33,2
- Varijacije prema polu:
2. Na 50 muških tibija sagitalni prečnik . . . . . 34,1
  3. Na 50 ženskih tibija sagitalni prečnik . . . . . 30,9

**TRANSVERZALNI PREČNIK**

1. Na 200 tibija transverzalni prečnik iznosi . . . . . 23,2
- Varijacije prema polu:
2. Na 50 tibija muških transverzalni prečnik iznosi . . . . . 24,9
  3. Na 50 ženskih tibija transverzalni prečnik iznosi . . . . . 22,9

## INDEX PLATICNEMICUS

To je odnos transverzalnog prečnika tibije prema sagitalnom na visini foramen nutritium-a tibiae. A index tibialis je odnos transverzalnog prečnika prema sagitalnom na sredini tela tibije. Ti odnosi se multipliciraju sa 100.

1. Na 200 tibija index platicnemicus iznosi . . . . . 70,0

Varijacije prema polu:

2. Na 50 muških tibija index platicnemicus iznosi . . . 75,9

3. Na 50 ženskih tibija index platicnemicus iznosi . . . 74,1

Na 50 muških tibija našli smo ove vrednosti:

1. 20 tibija sa izraženom mezoknemijom t. j. index platicnemicus od . . . . . 63 —69

2. 21 tibija sa izraženom euriknemijom, index platicnemicus od . . . . . 70,0—77,9

3. 7 tibija sa izraženom hipereuriknemijom, index platicnemicus od . . . . . 78,0—84

4. 2 tibije sa izraženom platiknemijom, index platicnemicus od . . . . . 55,0—62,9

Na 50 ženskih tibija našli smo vrednosti za index platicnemicus:

1. 35 tibija sa izraženom euriknemijom, index platicnemicus od . . . . . 70 —77,9

2. 6 tibija sa izraženom hipereuriknemijom, index platicnemicus od . . . . . 81 —85,9

3. 7 tibija sa izraženom mezoknemijom, index platicnemicus od . . . . . 67 —69

4. 2 tibije sa izraženom platiknemijom, index platicnemicus od . . . . . 62

Retroverzijoni ugao grade osovina tela sa osovinom condylus-a:

1. Na 200 tibija taj ugao iznosi . . . . . 16,8

Varijacije prema polu:

2. Na 50 tibija muških ugao iznosi . . . . . 18,2

3. Na 50 ženskih tibija ugao iznosi . . . . . 17,1

## MAKSIMALNA DUŽINA TIBIJE

Merili smo ovu dužinu od vrha condylus-a do najdistalnije tačke malleolus medialis-a.

1. Na 200 tibija maksimalna dužina iznosi . . . . . 355,6 mm.

Varijacije prema polu:

2. Na 50 muških tibija maksimalna dužina iznosi . . 360,3

3. Na 50 ženskih tibija maksimalna dužina iznosi . . 342,1

## FEMORO-TIBIJALNI INDEX

Taj indeks predstavlja odnos dužine tibije prema dužini femura. Taj odnos se takode multiplicira sa 100.

1. Na 200 tibija taj indeks iznosi . . . . . 81,1



Varijacije prema polu:

2. Na 50 muških tibija indeks iznosi . . . . . 80,9
3. Na 50 ženskih tibija indeks iznosi . . . . . 82

### GLAVA FEMURA

Na 200 femura uzetih bez izbora primetili smo da u pogledu veličine prečnika glave postoje polne razlike. Muški prečnici su veći nego ženski. Ali, ženske kosti teže u većem broju ka jednakosti sagitalnog i vertikalnog prečnika. Primetili smo da je na većem broju femura sagitalni prečnik manji nego vertikalni, ali postoje i femuri sa jednakim prečnicima.

Za upoređenje ovih naših rezultata uzeli smo rezultate sa tabela Hepburn-a, Lehmann-Nitzsche-a, Klaatsch-a. Sa tih tabela se vidi da je glava gorile jako razvijena, sa velikim prečnikom. Australijanci pokazuju, suprotno gorili, malu glavu, ali sa jednakim prečnicima. Naročito male prečnike vidimo kod femura Andamaneza 36,1. Najveće prečnike pokazuju: Spy, Neandertalac, Hohlerfels i Gorila. To su prečnici čija je vrednost preko 50 mm.

Radeći na 200 femura konstatovali smo sledeće:

1. 105 femura su imali veći vertikalni od sagitalnog prečnika.
2. 55 femura su imali iste vrednosti za vertikalni i sagitalni

prečnik.

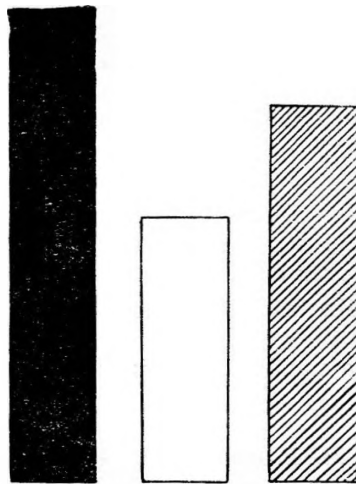





Tabela I.

- |   |                    |
|---|--------------------|
|  | Neandertalac , Spy |
|  | Australijanci      |
|  | Naši obimu         |

3. 40 femura su imali sagitalni prečnik veći od vertikalnog. Najveća razlika ovih prečnika iznosila je 4 mm.

Ali veći značaj ima za nas obim glave femura, jer nam odnos obima glave i dužine femura daje jedan indeks, koji nam omogućava izračunavanje dužine femura na osnovu poznatog obima glave. Razlika

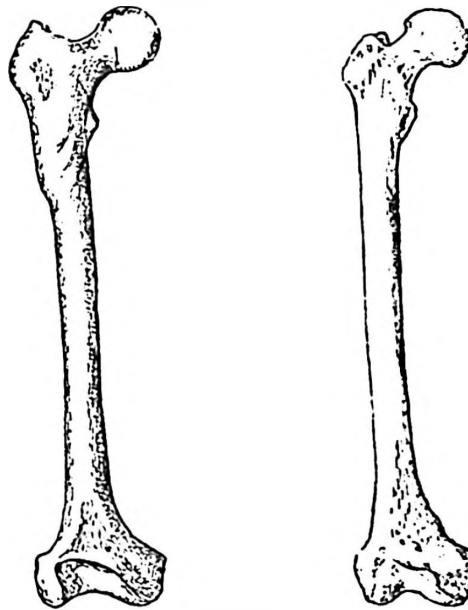
ovog obima u pogledu na strane tela nije velika, ali je velika razlika u pogledu pola. Ta polna razlika iznosi oko 14 mm. Da bi se imale jasne pretstave o veličini obima glave kod nas i kod drugih naroda, poslužićemo se tabelom Hepburn-a (tabela No 1). Naročito veliki obim pokazuju glave femura Spy (175), Neandertalca (164). Vrlo male obime pokazuju Australijanci, a veličina obima koje smo dobili iznosi 147,7. Između obima glave i veličine prečnika postoji jedna korelacija. Kao primer za to navodimo sledeće:

	Obim glave	Prečnici	
		v.	s.
1. Muški femur . . . . .	151,6 . . . . .	47,9 . . . . .	48,1
2. Ženski femur . . . . .	138 . . . . .	41,9 . . . . .	42,1

Povećanjem sagitalnog i vertikalnog prečnika povećava se i obim glave. Samo ta korelacija nije potpuno savršena. Jer dok se obim glave u navedenom primeru povećao za 13,6 mm, prečnici su se povećali samo za 6 mm.

### VRAT FEMURA

Primitili smo da je na femurima koje smo ispitivali sagitalni prečnik manji od vertikalnog, ali da je ta razlika ipak manja kod ženskih kostiju negoli kod muških. Kod muških femura konstatovali



Sl. 1.

Femur  
Neandertalca

Femur  
kod nas

prečnik kod muških individua veći nego kod ženskih. Najveće prečnike pokazuju nam prema tabeli W. Lustig-a: Neandertalci (sagitalni: 34, vertikalni: 38), Spy (39). Ali Spy u isti mah pokazuju i jednake prečnike. smo da razlika između ova dva prečnika iznosi do 8 mm. To je najveća razlika ovih prečnika kod muških kostiju. Najveća razlika kod ženskih kostiju iznosi do 6 mm. Važno je napomenuti da su sagitalni i vertikalni

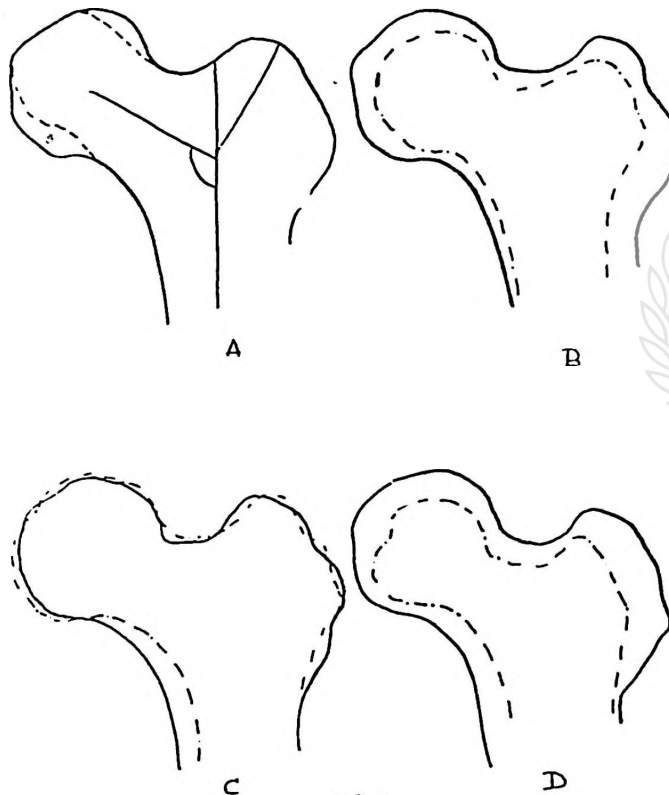
Najmanje prečnike pokazuju Australijanci (19—23). Rezultate koje smo dobili za ove prečnike mogli bi da uporedimo sa prečnicima kod Crnaca.

### INDEKS POPREČNOG PRESEKA VRATA

Taj indeks pokazuje male razlike u pogledu pola, a razlike u pogledu strana uopšte ne postoje. Presek vrata je ovalan, a kod primitivaca taj presek pokazuje trouglastu formu.

### KOLODIJAFIZNI UGAO

Prema radovima Kraus-a vidi se da najveći ugao pokazuju Švajcarci. Taj ugao iznosi  $133^{\circ}$ . Prilikom ispitivanja konstatovali smo da postoje femuri sa vrlo malim uglom, od  $105^{\circ}$ , i drugi, sa uglom od preko  $130^{\circ}$ . Iz literature se vidi da Austrijanci i Nemci imaju dosta veliki ugao. Taj ugao iznosi od  $125^{\circ}$  do  $126,8^{\circ}$ .



Sl. 2.

A. Hohlerfels /—/

B. Hohlerfels /—/ / Homo Aurignacensis /--/

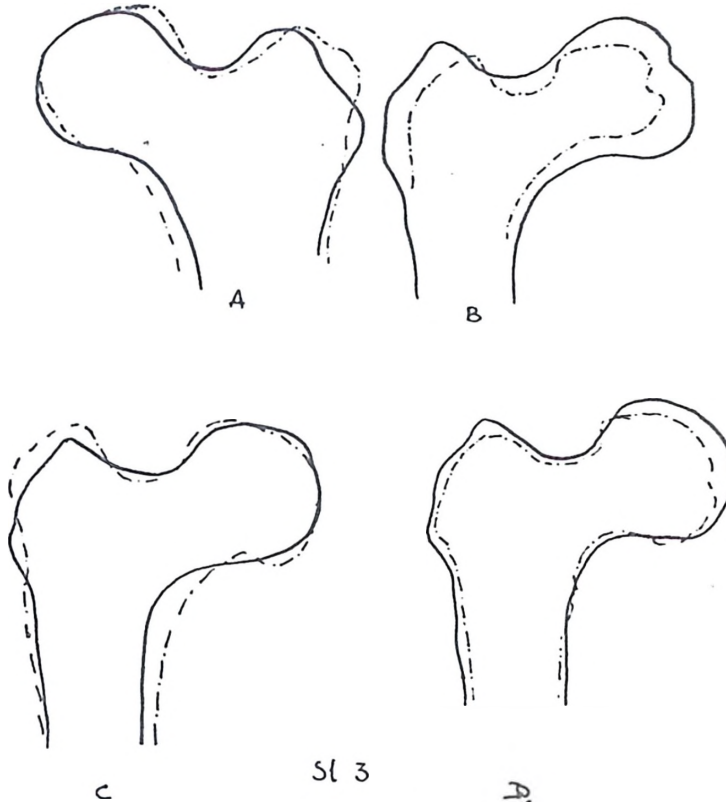
C. Hohlerfels /—/ / Neandertalac /--/

D. Hohlerfels /—/ / Australijanci /--/

Linea intertrochanterica femura Spy-a i Neandertalca (sl. br. 1) je slabo razvijena, a ponekad i nedostaje. Australijanci pokazuju jasno izraženu, kako lineu intertrochanteriku, tako i kristu intertrochanteriku. Kod nas, međutim, su ovi reljefi osrednje izraženi.

## PROKSIMALNA ŠIRINA GORNJE EPIFIZE

Proksimalna širina gornje epifize je u stvari razdaljina između najmedijalnije tačke glave femura i najlateralnije tačke trochanter maior-a. Najveću proksimalnu širinu imaju Spy, najmanju Australijanci, a proksimalna širina koju smo dobili može da se uporedi sa proksimalnom širinom Indijanaca. Većeg značaja za nas ima indeks koji smo



Sl 3

A. Hohlerfels/-/, Gorila /---/ ; B. Neandertalac/-/, Australijanci (---)  
 C. Neandertalac/-/, Gorila /---/; D. Neandertalac/-/, Naš čovek /---/



dobili iz odnosa proksimalne širine i trohanterične dužine femura. Taj nam indeks daje mogućnost da iz poznate proksimalne širine izračunamo trohanteričnu dužinu femura. Na crtežima br. 2, 3 prikazane su proksimalne širine femura Hohlerfels-a, Neandertalca, Gorile, Homo Aurignacensis-a, Australijanca, kao i našeg čoveka. Upoređujući njihove gornje epifize vidimo razlike između pojedinih femura (sl. br. 1).

## INDEX PLATIMERICUS

Najveći indeks platimerikus pokazuju Francuzi i Eskimi, najmanji Mavri, Švajcarci imaju indeks sličan našem.

Primetili smo da postoje, kako razlike u pogledu pola, tako isto i u pogledu strana, što je izneseno napred.

Ranke je nazvao platimerijom smanjivanje sagitalnog prečnika dijafize. To smanjivanje sagitalnog prečnika dijafize javlja se obično kod rahitisa. Platiskelijom je nazvao smanjivanje transverzalnog prečnika, što opet zavisi od izvesnih patoloških stanja. Stenomerijom smatra povećanje sagitalnog prečnika, a eurimerijom — stanje kada kost ima podjednake prečnike.

F. Schwarz je studirajući femure sadašnjih naroda i predašnjih generacija došao do zaključka da je sagitalni prečnik u odnosu na transverzalni kod današnjih naroda veći nego što je bio ranije. To nam govori za činjenicu da je platimerija ranije bila jače izražena nego danas. Radeći na 200 femura konstatovali smo da je taj odnos sagitalnog prečnika prema transverzalnom kod nekih femura vrlo mali. Ti femuri svakako teže više ka eurimeriji i stenomeriji. Primetili smo dalje da muškarci teže više ka eurimeriji nego žene. Osim toga smo primetili da muške kosti teže u procentualno većem broju i ka stenomeriji nego ženske.

Po tabeli Lehman-Nitzsche-a možemo da upoznamo razlike u pogledu veličine ovog indeksa (indeks platimerikus) kod raznih naroda:

1. Francuzi . . . . .	88
2. Švajcarci . . . . .	84,6
3. Englezi . . . . .	81,8
4. Austrijanci . . . . .	79,7
5. Japanci . . . . .	75,1
6. Kinezi . . . . .	79,7
7. Jugosloveni . . . . .	85,2

Sa ove tabele upada u oči sličnost po veličini našeg indeksa i indeksa platimerikusa kod Švajcaraca.

#### Index pilastricus

Prilikom rada na femurima zapazili smo da postoje razlike u pogledu veličine ovoga indeksa kod muškaraca i kod žena. Ali sem toga postoje razlike i u pogledu strana. Na napred iznetim tabelama jasno se vidi da je ovaj indeks veći kod muškaraca nego kod žena.

Istraživanja F. Schwarz-a na ovom polju pokazala su da između platimerije i pilasterije postoji jedan odnos tj. kad se jedan povećava, povećava se i drugi, i obrnuto. Samo taj odnos nije savršen. Jer dok se pilaster samo neznatno poveća, indeks platimerikus se poveća dosta jako.

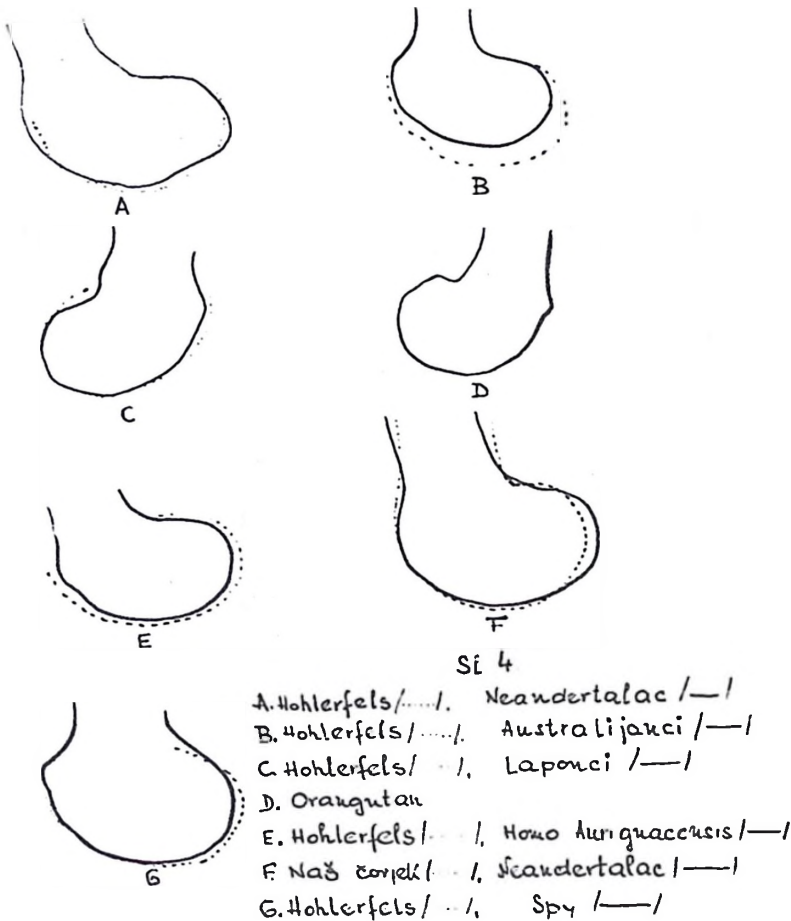
Sa tabele Lehman-Nitzsche-a vidi se veličina ovih indeksa (ind. pilastricus) kod drugih naroda:

1. Japanci . . . . .	100,0
2. Švajcarci . . . . .	103,1
3. Francuzi . . . . .	104,8
4. Crnci . . . . .	119,8
5. Englezi . . . . .	109,3
6. Kinezi . . . . .	96
7. Bengali . . . . .	114,2
8. Jugosloveni . . . . .	101,4

Sa ove tabele može odmah da se konstatuje da indeks pilastricus nosi izrazite osobine specifičnosti pojedinih naroda. Što je index platnemicus za tibiju, to bi smo u poređenje mogli reći, da su za femur index platimericus i index pilastricus.

### Obim tela femure

Primitili smo da se sa povećanjem jednog obima povećavaju i drugi. Naročito je interesantan odnos veličine obima i dužine femura u prirodnom položaju. Taj odnos nam daje jedan indeks vrlo važan u pogledu određivanja trahonterične dužine femura u prirodnom položaju. Svi obimi tela su veći kod muškaraca nego kod žena. A osim toga postoje razlike i u pogledu strana.



### Index popliteus

Najveći indeks prema tabeli Hepburn-a pokazuju Bengali, takode i Australijanci, dok najmanji indeks pokazuju Andamanezi. Naš indeks je sličan po veličini indeksu starih Brita.

### Index condyloideus medialis

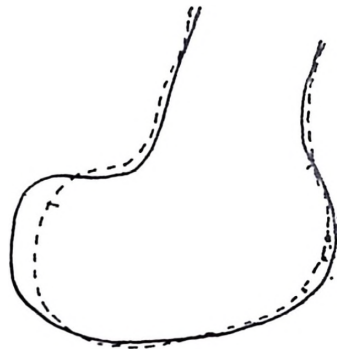
Dužinu condylus-a proučavao je Klaatsch i to kod preistorijskih i sadašnjih ljudi. On je dokazao da kao dužinu condylus-a treba smatrati najveći prečnik od spreda ka pozadi, dok su tu meru Martin i Lehmann-Nitzsche označili kao debljinu condylus-a. Prilikom rada konstatovali smo da je zaista tačno klasično gledište, da je lateralni condylus duži od medijalnog.

Najveći index condyloideus medialis pokazuju Australijanci, a najmanji je kod gorile. Nemci imaju takođe vrlo malen indeks condyloideus medialis. Osim toga smo primetili da postoje razlike kako u polnom pogledu, tako i u pogledu strana. Primetili smo da ženski femuri imaju veći indeks nego muški.

Razlika između dužine condylus lateralis-a i condylus medialis-a je prema Klaatsch-u 3 mm. Kod naših kostiju ta razlika je još veća.

Razlike s obzirom na dužinu condylus medialis-a i njegov izgled kod našeg naroda, Neandertalca, Hohlerfels-a, Gorile i dr. predstavljene su crtežom br. 4.

Upoređenje lateralnog condylus-a Neandertalca sa lateralnim kondilom našeg čovjeka izneto je skicom br. 5.



Sl 5.

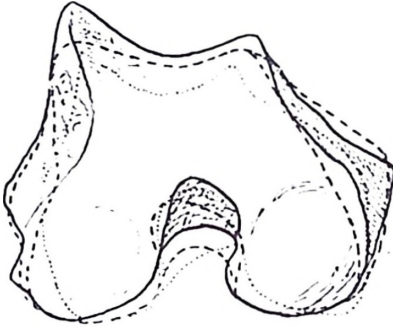
Lateralni kondil Neandertalca /—/  
kod nas /-----/

### Distalna širina femura

Na 200 femura konstatovali smo da ova širina iznosi 79,9 mm. Kod muških femura ova je širina veća.

Distalnu epifizu i naročito izgled zglobnih tela femura našeg čoveka pokazali smo upoređujući ih sa donjim okrajkom Neandertalca i Pithecanthropus-a (crtež br. 6, 7).

Indeks, koji smo dobili iz odnosa trohanterične dužine femura u prirodnom položaju i distalne širine, omogućuje nam da odredimo dužinu femura kod pronađenog distalnog dela kosti.

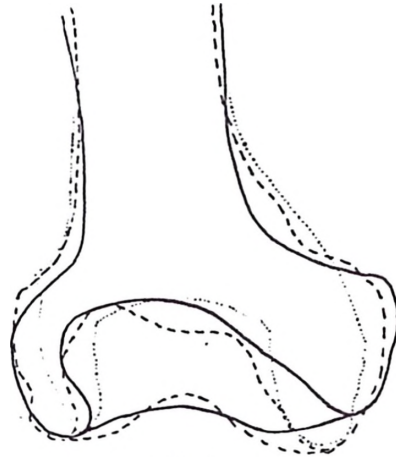


Sl 6

Neandertalac /—/

Pithecanthropus /- - - -/

Naš čovjek /- - - -/



Sl 7

Neandertalac /—/

Pithecanthropus /- - - -/

Naš čovjek /- - - -/

### Tibija

Platiknemija je spljoštavanje tibije. To ime je dao Broca. Manouvrier deli tibije u tri grupe: 1. Tibije visokog stepena plastiknemije sa indeksom od 55—63, zatim umerene plastiknemije sa indeksom od 63—69 i trijangularne sa indeksom preko 70. Međutim W. Lustig je video tibije sa indeksom 50 kod Australijanaca. Tabela F. Schwarz-a, kojom nam on pokazuje vrednost indeksa platiknemikusa kod ranijih generacija i sada, jasno nam govori za to da se index platiknemius u toku istorijskog razvitka povećao.

Stari Parižani osmog stoleća imali su indeks . . . . . 70,0

Današnji Francuzi imaju ovaj indeks . . . . . 74,5

Iz ovoga se vidi da se transverzalni prečnik u odnosu na sagitalni prečnik postepeno povećavao u toku istorijske evolucije.

Zahvaljujući radovima Manouvrier-a, koji je svojim istraživanjima specijalno mnogo doprineo razjašnjenju ovoga pitanja, došli su autori do ovih zaključaka:

1. Plastiknemija nedostaje kod dece, ili je vrlo slabo razvijena.
2. Plastiknemija je kod ljudi jače izražena nego kod žena.
3. Ljudi malog i srednjeg rasta pokazuju izraženost plastiknemije u većem stepenu.
4. Lovački narodi imaju izraženu plastiknemiju, što je verovatno u vezi sa njihovim zanimanjem.

Na osnovu stepena izraženosti plastiknemije vrši se podela ljudi u grupe:

1. Hiperplatiknemni, sa indeksom od . . . . . x do 54,9
2. Plastiknemni, sa indeksom od . . . . . 57,0 do 62,9

3. Mezoknemni, sa indeksom od . . . . . 63,0 do 69,9
4. Euriknemni, sa indeksom od . . . . . 70,0 do 77,9
5. Hipereuriknemni sa indeksom od . . . . . 78,0 do x

Primitili smo da bi mi prema ovoj klasifikaciji spadali u euriknemne. Ali smo u isti mah našli da ženske kosti teže više toj euriknemiji nego muške. To se uostalom vidi iz rezultata koje smo dobili prilikom merenja. Zatim smo opazili da osobe većeg rasta imaju manji indeks platiknemikus tj. platiknemija je slabije izražena kod njih. Te više osobe teže ka mezoknemiji, dok niže osobe u procentualno većem broju su euriknemne.

Tabele Manouvrier-a, W. Lustig-a i Lehmann-Nitzsche-a daju nam vrednosti ovog indeksa (indeks platiknemikus) kod ostalih naroda. Iz njih se vidi sledeće:

1. Francuzi . . . . .	74,5
2. Belgijanci . . . . .	75
3. Holandani . . . . .	65,8
4. Englezi . . . . .	73,6
5. Italijani . . . . .	59,5
6. Kozaci . . . . .	72,5
7. Finci i Estonci . . . . .	74,6
8. Eskimci . . . . .	72,2
9. Kinezi . . . . .	69,7
10. Japanci . . . . .	78,1
11. Stanovnici Jave . . . . .	70,0
12. Moderni Peruanci . . . . .	70,0
13. Na našim tibijama dobili smo index platicnemicus . . . . .	70,0

Iz ove tabele se jasno vidi kako postoji jedna šarolikost u pogledu veličine ovog indeksa kod pojedinih naroda. Ako počnemo sa najmanjim indeksom kod Australijanaca, pa preko dosta dobro izražene platicknemije kod nas, Francuza, Engleza i Belgijanaca do jako izražene platicknemije kod Orangutana, kod koga index platicnemicus ide i do 90.

Prema vrednostima, koje smo dobili za retroverzioni ugao, mogli bi da konstatujemo da je ovaj ugao jače razvijen kod muškaraca nego kod žena. Iz niže navedene tabele vidi se odnos našeg ugla prema uglu ostalih naroda.

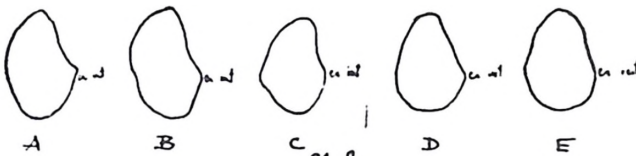
Švajcarci . . . . .	7,6°
Parižani . . . . .	20°
Spy, Jugosloveni . . . . .	16,8°
Crnkinje . . . . .	18°

Što se tiče maksimalne dužine tibije ona je različita kod raznih naroda. Dužina naše tibije približuje se dužini tibije kod Eskimaca i kod Spy. Najveću maksimalnu dužinu tibije imaju Hindusi, najmanju imaju Laponci. Ženske kosti su mnogo kraće, jer su kod njih uopšte svi indeksi manji.

Odnos dužine femura prema dužini tibije izražen je femorotibijalnim indeksom, koji opet varira kod raznih naroda. Najveći ovaj indeks imaju Crnci: 87, najmanji Laponci, mi se sa našim indeksom približujemo indeksima Hindusa i Australijanaca.

### Crista interossea tibiae

Mi smo primetili da je crista intersossea na našim kostima pretežno dobro izražena. Na većini kostiju, na kojima smo radili, razlikuju se 3 dela. Prvi deo, nekoliko prsta širok ispod tuberositas tibiae. Pravac ovog dela je od spreda ka pozadi i dole. Drugi deo je najduži i sačinjava sa prvim delom jedan ugao. Taj deo je orijentiran na niže. Treći deo ide od pozadi ka spreda i on je paralelan sa prvim delom. Iz literature smo videli da je ova krista vrlo dobro izražena kod Homo Auroignacensis-a na kome se mogu jasno razlikovati ova tri dela. Kod Spy ona nije jasno izražena. Razlikuju se samo dva dela. Australijanci poseduju naprotiv kristu interoseu jasno izraženu. Ta krista može često da se raspadne u nekoliko delova. Sl. 8 (poprečni presek tibije u visini foramen



Sl. 8  
Poprečni presjek tibije u visini foramen-a nutritium-a

A. Hohlerfels, B. Australijanci, C Homo Aurignacensis,  
D. Kod nas, E. Spy.

nutritium-a) pretstavlja nam kristu interoseu i njen odnos prema foramen-u i kristi anterior tibije. Taj odnos je pretstavljen kod raznih tibija, pa i kod nas.

### Linea poplitea

Na većini kostiju konstatovali smo dobro izraženu lineu popliteu.

W. Lustig je našao da je linea poplitea kod evropskih tibija jako izražena. Kod Spy i Australijanaca ona je takođe jako izražena.

### Zadnja strana tibije

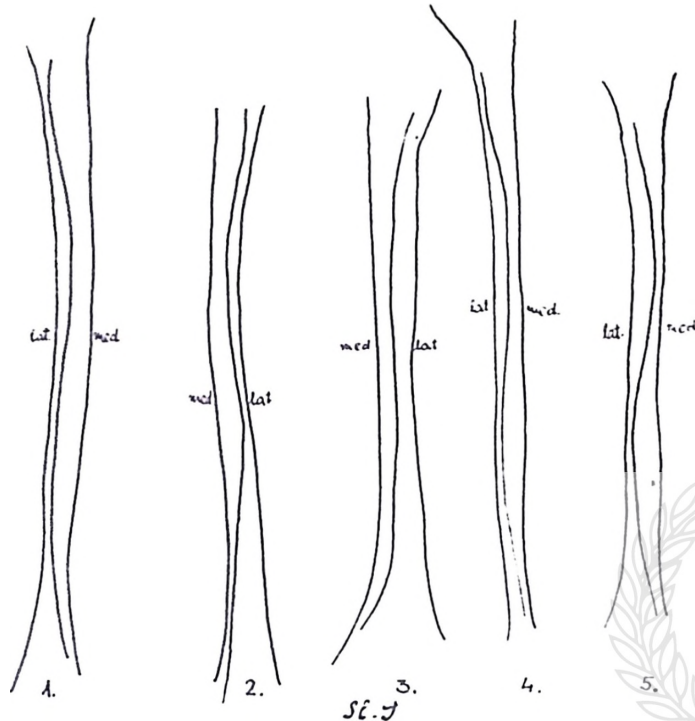
Važno je ovde opisati izgled zadnje strane tibije. Iz literature se jasno vidi da je ova zadnja strana kod Hohlerfels-a ravna, dok je ona kod Spy slabo konveksna i orjentisana u pravcu od zadnje lateralne strane ka prednje medijalnoj.

Na našim kostima smo konstatovali da je zadnja strana tibije odmah ispod condylus-a slabo udubljena. Oblast lineae popliteae, i ispod nje, jasno konveksna do sredine tibije. Od sredine, zadnja strana postaje malo udubljena, da bi ponovo postala slabije konveksna. To je slika zadnje strane, koju smo videli na većini kostiju.

Na ženskim kostima smo primetili da je ova udubljenost odmah ispod condylus-a jače izražena nego na muškim, ali su konveksne površine na ženskim kostima slabije izražene nego na muškim.

### Crista tibialis anterior (Sl. 9)

Razlikovali smo na njoj tri dela: prva dva dela zauzimaju jednu polovinu tibije, treći deo je izražen na drugoj polovini tibije. U isti mah



1. Hohlerfels 2. Homo Aurignacensis, 3. Spy  
4. Australijanci, 5. Kod nas

na tibije se jasno vide i tri luka: dva luka su orijentisana lateralno sa svojim konkavitetom, a treći luk je njegovim konkavitetom upravljen ka medijalnoj strani. Te delove vidimo na kristi tibialis anterior tibije. Iz literature smo doznali da se sva tri dela nalaze dobro izražena kod Homo Aurignacensis-a, ali je donji deo kod njih više orijentisan na medijalnu stranu.

Kod Spy ne postoje tri dela ove kriste, nego samo dva, gornji literalni i donji medijalni deo cristae tibialis anterior. Najveće savijanje i lukove pravi crista Australijanaca.

Na kostima na kojima smo radili konstatovali smo da je crista tibialis anterior jasno izražena. Ali smo opet primetili da postoje jasne razlike u pogledu pola. Te razlike se odnose ne samo na jaču izraženost ove cristae kod ženskih osoba, nego i na jače izraženo savijanje cristae kod ženskih osoba. Potpuno je razumljivo da će se crista tibialis anterior, koja se nalazi na granici između medijalne i lateralne strane, bolje razviti tamo gde euriknemija raste. A iz rezultata koje smo dobili prilikom merenja indeksa platiknemikusa, jasno se vidi da ženske kosti u procentualno većem broju slučajeva teže ka euriknemiji negoli muške. Ta činjenica, a pored toga i fakat da se sa euriknemijom

i transversalni prečnik povećava u odnosu na sagitalni, ukazuje na posledicu koja je, u stvari, ništa drugo nego jača izbočenost same kriste, odnosno jača izraženost te kriste. Povećanjem transversalnog prečnika dolazi do poremećaja odnosa transversalnog i sagitalnog prečnika, jer se vrednost sagitalnog prečnika prema povećanom transversalnom smanjuje, a time se indeks platiknemikus povećava. Posledica smanjenja sagitalnog prečnika u odnosu na transversalni jeste jača izraženost same kriste. To je objašnjenje koje smo ovde izneli, a za koje mislimo da je jedino moguće kao tačno ako se želi rešiti pitanje zašto je crista tibialis anterior jače izražena kod žena nego kod muškaraca.

Pri završetku možemo zaključiti da poznavanje ovih indeksa ima veliku ulogu ne samo za određivanje pola, dužine femura i tibije, dužine tela, nego i za eventualno tačno određivanje pripadnosti pronađenog dela kosti.

Iz napred iznetog vidi se da svaki narod ima svoje indekse od kojih su neki specifični za njega, a drugi međutim pokazuju sličnosti sa indeksima kod drugih naroda. Na osnovu te sličnosti u pogledu veličina indeksa grupisali smo pojedine narode u odnosu na naše indekse.

Počevši od Australijanaca, koji za indekse gornjeg okrajka i tela femura imaju najmanje vrednosti, pa preko srednje dobivenih vrednosti kod Evropljana, do vrlo izraženih tih indeksa kod Spy, Neandertala (T. 1) i kod Holerfelsa. Interesantno je to što smo zapazili iz literature, da Australijanci, nasuprot malim indeksima gornjih delova, imaju najveće indekse distalnog dela femura.

Potpuno oštećen femur Holerfelsa dragoceno je poslužio autorima, koji su pomoću njega pružili čovečanstvu ove dragocene indekse, čiju važnost obično bolje poznaju mlađe generacije. Zato indeksi kao plod rada na samim kostima, koje su ustvari ostaci mrtvih generacija, služe živim potomcima da upotpuno svoju sliku dobivenu antropološkim metodama.

## H. HADŽISELIMOVIĆ, MORPHOLOGICAL FEATURES OF LONG BONES OF THE EXTREMITIES OF OUR PEOPLE

### S u m m a r y

Two hundred femora and as many tibiae were used for the purpose of examining and measuring parts of the bones. Sex differences were also studied as well as those in respect of the sides of body. The results of the measurments were as follows:

F e m u r				
HEAD	Sagital diameter	Vertical diameter	Girth	Index
	46,3	46,2	147,7	35,3
NECK	Sagital diameter	Vertical diameter		Index
	26,5	33,6		78,9
ANGULUS COLLO-DIAPHYSEOS			118,4	
PROXIMAL WIDTH of UPPER EPIPHYSIS			118,4	
INDEX PLATIMERICUS	Sagital diameter	Transverzal diameter		Index
	27,7	32,5		85,2
INDEX PILASTRICUS	Sagital diameter	Transverzal diameter		Index
	28,2	27,8		101,4

BODY GIRTH	Proximal 100	Index 41,8	Middle 93	Index 44,9	Distal 125	Index 33,4
INDEX POPLITEUS		Sagital diameter 31,5		Transverzal diameter 41,5		Index 75,9
INDEX CONDYLOIDEUS MEDIALIS				Sagital diameter 61,6		Index 67,8
INDEX CONDYLOIDES LATERALIS				Sagital diameter 62,5		Index 68,4
DISTAL WIDTH						Index 52,2
LENGHT of FEMUR in natural position			Maximum lenght 435,2		Trochanteric 417,8	
Tibia						
INDEX TIBIALIS		Sagital diameter 30,1		Transverzal diameter 22		Index 73,8
INDEX PLATICNEMICUS		Sagital diameter 33,2		Transverzal diameter 23,2		Index 70,0
ANGULUS RETROVERSIONIS				16,8		
MAXIMUM LENGHT of TIBIA				355,6		
INDEX FEMORO-TIBIALIS				81,8		

The data resulting from measurements of the long bones of Yugoslav peoples have been compared with similar findings concerning certain other peoples as well as previous generations. Points of similarity have been noted as well as those of specificity of certain index numbers regarding various peoples.

#### L I T E R A T U R A

1. Johannes Ranke und Georg Thilenius: *Archiv für Anthropologie*.
2. Karl v. Bardeleben: *Skelettlehre*.
3. Fraipont: *Le tibia dans la race Néanderthal. Revue d'Anthropologie*.
4. Manouvrier: *Etude sur la rétroversion de la tête du tibia et l'attitude humaine à l'époque quaternaire. Mém. de la soc. d'Antropol. de Paris. T. 4, 1889.*
5. H. Klaatsch: *Das Gliedmassenskelet des Neanderthalsmenschen. Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft auf der fünfzehnten Versammlung in Bonn, 1901.*
6. Burka Miloš: *Les modifications morphologiques du tibia au cours de la croissance. Anat. Bericht, Bd. 9, str. 470—471, 1926 g.*
7. Hrdlička Aleš: *Contributions to the study of the femur: The crista aspera and the pilaster. Anat. Bericht, Bd. 30, str. 354, 1934 g.*
8. Martin, C. P.: *Some variations in the lower end of the femur, which are especially prevalent in the bones of primitive people. Anat. Bericht, Bd. 26, str. 439, 1932.*
9. Hromada Jan: *Der Collo-Diaphysen- Condylo-Diaphysen- und Torsionswinkel am menschlichen Femur. Anat. Bericht, Bd. 42, str. 104, 1940 g.*
10. Kotikova E.: *Eine Untersuchung der Bedingungen, welche auf die Bildung der Form des Schienbeines einwirken. Anat. Bericht, Bd. 13, str. 335, 1926 g.*
11. Münter, A. Heinrich: *A study of the lengths of the long bones of the arms and legs in man, with special reference to Anglo-Saxon skeletons. Anat. Bericht, Bd. 37, str. 100, 1936 g.*
12. S. Weszycki: *Über die Formfaktoren des menschlichen Hüftgelenkes unter besonderer Berücksichtigung ihrer gegenseitigen Abhängigkeit. Anatomischer Anzeiger, Bd. 104, Heft 11—16, 1957 g.*

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 zamišljenje i postavljene, da mogu otkriti pokazatelje reakcionog poretka, u koliko u samom metabolizmu objektivno postoje.

Problematiche 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 jetrinih 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 fosfolipoide), 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 nađene 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 radiaktiviteta 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 nađena 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 nađena 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 nađenu 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. Procentat 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.

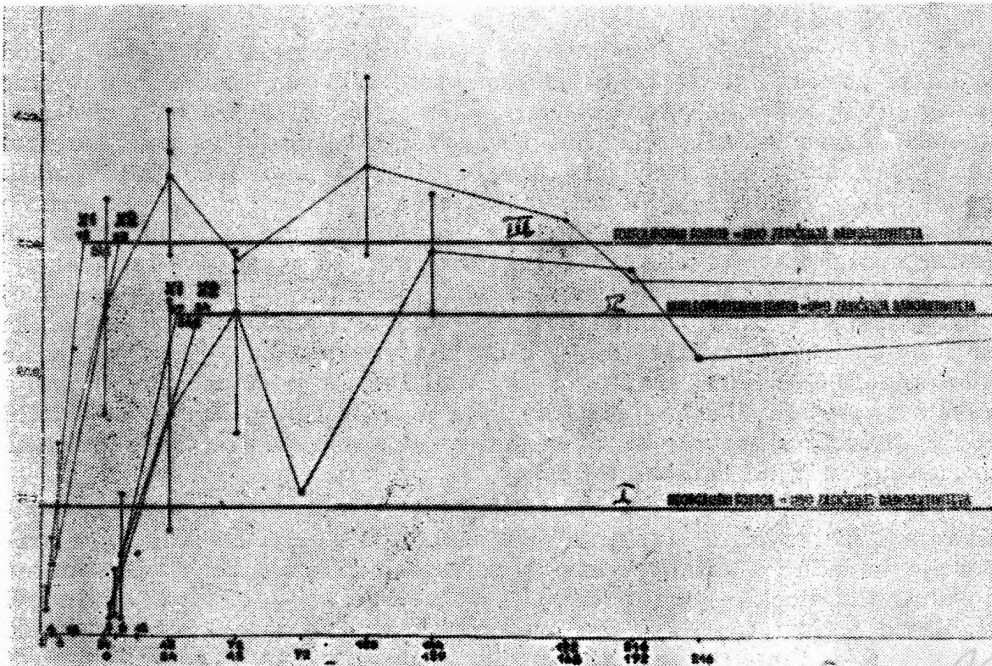
S obzirom na utvrđenu činjenicu da se radiofosfor ugrađuje u sve frakcije u istoj proporciji kao i obični fosfor, moramo zaključiti da se obični fosfor unosi u ćelije (odnosno i da ulazi u hemijske reakcije) istim procentnim brzinama kao i radiofosfor. Prema tome mora i vreme obnavljanja čitave koncentracije 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 radiofosfora, pod uslovom da se sve tri vrednosti iskažu u procentnim veličinama u jedinici vremena.

Tablica br. 1

Vreme u kome je izmerena radioaktivnost		2 h	4 h	6 h	12 h	24 h	Zbirni aktivitet iz svih vremena	Zbir vremena	Prosečni procenat porasta za 2 h	Transport za 2 h		
		2	3	4	5	6					7	8
Procentne veličine aktiviteta	Nukleoproteidi	Izračunato iz proseka	16,2	32,16	48,24	96,4	193,—				α	
		Za celo vreme	18,5	39,5	61,2		170,4	289,6	36	16,08	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,—					α
		Za celo vreme	28,3	65,6	108,—	222,—	258,—	681,9	48	28,8	28,8	b
		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 grafikona 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 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 Rappoport-a), 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, nastaće 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 određujuće supstancije za veličinu transporta fosfora. Ova je jednačina neupotrebljiva za sledeće članove lanca (kojima šećer dalje preduje 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 mg<sup>0</sup>%, što znači da će u samoj jetri biti oko 0,3 mg<sup>0</sup>%. Kako se u perifernim venama koncentracija šećera može smanjiti (u periodu gladovanja, ili kod hrane bez šećera) do 0,08 mg<sup>0</sup>%, to i u jetri možemo dostići vrednost 0,1 mg<sup>0</sup>%.

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 mg<sup>0</sup>% slobodne glukoze, dok im je koncentracija šećera kod čiste proteinske hrane morala pasti na vrednost oko 0,1 mg<sup>0</sup>%. 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 mg<sup>0</sup>%).

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

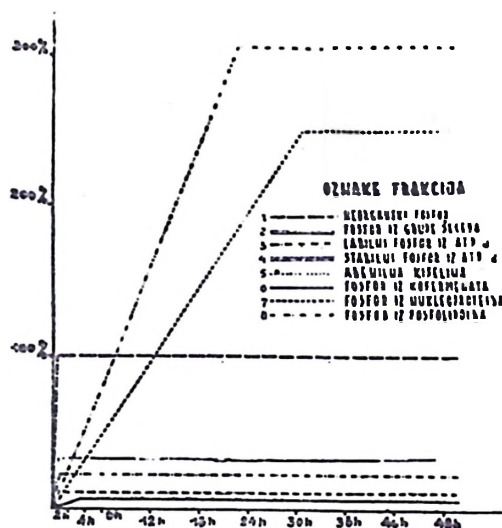
Tablica br. 2

Koncentracije				C <sub>P</sub> x C <sub>šć</sub> u miliEkvivalentima	Transport		
Fosfora		Šećera			Ap <sup>3</sup> u mEkv	AP	
u mg <sup>0</sup> %	u mEkv	u mg <sup>0</sup> %	u mEkv			u mEkv	u mg <sup>0</sup> %
1	2	3	4	5	6	7	8
20	0,65	0,3	1,67	0,65 x 1,67	1,085	1,04	32,7
25	0,81	0,15	0,832	0,81 x 0,832	0,675	0,81	25,4
31	1,—	0,1	0,556	1,— x 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), pretstavljene su u grafikonu horizontalnim linijama, 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 procenta 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 budućće 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 <sup>32</sup> u frakcijama (= koncentracije)		Korigo- vana prosečna raspodela fosfora u % među frakcija- rju rav- na u sta- noteže: Srednje vrednosti između raspodele P <sup>32</sup> i P <sup>31</sup>	Obnavljanje fosfora u frakcijama posle 2 h		
	Nadeno putem analiza u = mg	Izraču- nate iz korigo- vanc pro- centne raspodele fosfora u frakci- jama u = mg		% uno- šenja P <sup>32</sup> u frakci- je tokom prva 2 h u pore- denju sa neor- ganskom frakte=100	Apsolutna količina obno- vljenog P <sup>32</sup> izra- čunate iz % obna- vljanja P <sup>32</sup> mg	Procenat obna- vljanja P <sup>32</sup> 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 nerorganski 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 rasure 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 odnosanjem produkata, što je u osnovi eksperimentalno dokazano već u Hevesy-ovim 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**	$0,833 \times 10^{-3}$	$468 \times 10^{-2}$	$0,176 \times 10^{-3}$	$C = 0,00176 \times 120^2$ $= 0,00176 \times 14.400$ $= 25,38$
2.	P iz šećernih frakc.	$3,94 \times 10^{-2}$	$302 \times 10^{-2}$	$1,31 \times 10^{-2}$	$C = 0,0131 \times 25,4^2$ $= 0,0131 \times 636 = 8,33$
3.	Labilni P iz ATP*	$6,46 \times 10^{-2}$	$279 \times 10^{-2}$	$2,13 \times 10^{-2}$	$C = 0,0213 \times 15,3^2$ $= 0,213 \times 234,0 = 5,53$
4.	Stabilni P iz ATP**	$12,86 \times 10^{-2}$	$232 \times 10^{-2}$	$5,54 \times 10^{-2}$	$C = 0,0554 \times 7,79^2$ $= 0,0554 \times 61,55 = 3,42$
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	$80 \times 10^{-2}$	$53,6 \times 10^{-2}$	$149,3 \times 10^{-2}$	$C = 1,493 \times 1,25^2$ $= 1,493 \times 1,56 = 2,33$
7.	P iz nukleoproteida	$20,8 \times 10^{-2}$	$6,58 \times 10^{-2}$	$316 \times 10^{-2}$	$C = 3,16 \times 4,02^2$ $= 3,16 \times 23,3 = 73,4$
8.	P iz fosfolipoida	$13,45 \times 10^{-2}$	$8,75 \times 10^{-2}$	$153 \times 10^{-2}$	$C = 1,53 \times 7,42^2$ $= 1,53 \times 55,5 = 85,2$

Od organskih jedinjenja fosfora najmanju specifičnu brzinu sinteze ime 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 frakcije 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 stadijuma 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<sup>0/0</sup>) uz minimalnu koncentraciju fosfora (20 mg<sup>0/0</sup>), i obratno minimalna koncentracija šećera u jetri (0,1 mg<sup>0/0</sup>) mogla je biti kod ishrane čistom proteinskom hranom, gdje je koncentracija fosfora bila najveća (31 mg<sup>0/0</sup>). 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 indential, 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<sup>0/0</sup>) along with a minimum concentration of phosphorus, and vice-versa, a minimum concentration of sugar (0,1 mg<sup>0/0</sup>) after feeding pure protein stuffs to rats where the phosphorus concentration is the highest (31 mg<sup>0/0</sup>). 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 mg<sup>0</sup>/<sub>o</sub> 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—98 (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).



ALEKSANDAR SABOVLJEV

**POKUŠAJ REKONSTRUKCIJE REAKCIONOG PORETKA METABOLIZMA FOSFORA U JETRI PASOVA IZ EKSPERIMENTALNIH ČINJENICA I DELA I IZ REAKCIONIH KONSTANTI II DELA\*)**

(Primljeno na sednici Odeljenja medicinskih nauka 8-VIII 1958 god.)

**1) Odabiranje i analiza kriterijuma za rekonstrukciju poretka**

U jednoj ranijoj publikaciji (14) autor je teoretski raspravljao o mogućnosti izračunavanja reakcionih konstanti iz podataka transporta i koncentracija frakcija organizovanih u lančasti poredak metabolizma ireverzibilnog karaktera. Ideja za takvu pretpostavku nikla je s jedne strane iz podudarnosti proporcija koncentracija fosfora u organskim frakcijama u jetri pacova naših analiza i analiza J. Sachs-a (13), mada su koncentracije za pojedine frakcije kod nas i kod Sachs-a bile sasvim različite u pogledu njihove apsolutne vrednosti. S druge strane tu ideju je još jače potkrepio nalaz Hevesy-a, da ove apsolutne razlike nastaju pod uticajem različite količine šećera u hrani pacova. Kad smo ustanovili da se iste proporcije ponavljaju i u procentnim veličinama radioaktivnosti istih organskih frakcija, nezavisno od njihovih apsolutnih veličina, stekli smo ubedenje da cela grupa organskih jedinjenja fosfora u jetri reaguje sa neorganskim fosforom kao jedinstvena grupa, tako da porast organski vezanog fosfora može teći samo na račun smanjenja neorganskog fosfora jetre i obratno. Čini nam se da je tim činjenicama već skoro dokazano da šećer mora stajati na čelu takvog reakcionarnog lanca, te da pojedini članovi lanca verovatno jedan drugome određenim redosledom predaju fosforu kiselinu (skraćeno: fosfor).

Međutim ovi dokazi treba još da budu potvrđeni i primenom reakcionih konstanti na metabolizam tih frakcija. Za izračunavanje reakcionih konstanti priredili smo teorijsku bazu već ranije (14) za specifične brzine sinteze i razlaganja, dok smo u II delu ovog rada razradili metodu izračunavanja i ustanovili konkretne veličine transporta iz procentnog porasta radioaktivnosti frakcije u periodu njegovog uspona. Ujedno smo u II delu primenom formula iz pomenute naše publikacije izračunali i specifične brzine za sinteze i za razlaganja za sve frakcije. Međutim, ni jednačina iz naše ranije publikacije pod br. 14, niti re-

---

\*) Ispitivanje metabolizma fosfora u jetri pacova pomoću radiofosfora. III deo.

zultati samih eksperimenata iz I dela ovog rada, kao ni reakcione konstante u široj formi, bez uporedne analize još ne mogu dati informacije o verovatnim reakcionarnom poretku metabolizma forsora u jetri pacova.

Zadatak III dela ove publikacije sastoji se najpre u tome da se sistematizuju svi podaci koji bi mogli služiti kao pokazatelj za otkrivanje činjenica pogodnih da neposredno istaknu raspored ili redosled frakcija u poretku. Naši rezultati imaju tu odliku što su dobiveni iz eksperimenata organizovanih baš na način da principijelno mogu otkriti reakcioni poredak. Potrebno je samo odabrati pokazatelje poretka (u koliko ih je analiza objektivno ustanovila) i sistematizovati ih po njihovim prirodnim svojstvima. U tu svrhu sastavili smo tablicu br. 1, u koju smo uneli podatke o apsolutnom transportu, o transportu iskazanom u procentima obnavljanja frakcije (obe veličine uzete su za jedinicu vremena od 2 h). Zatim su izneta vremena obnavljanja frakcije. U kolonama 5, 6, 7 i 8 obnavljanja za sve frakcije prikazana su iz posebnog aspekta: upoređuju se obnavljanja svih frakcija sa stanovišta frakcije čije je posebno obnavljanje najsporije, pod pretpostavkom da najsporija frakcija odražava ritam obnavljanja celog lanca (čiji nam je poredak za sada inače nepoznat). Kao vremenska baza za upoređenje obnavljanja celog lanca, uzeta je zato frakcija nukleoproteida. U koloni 5 pokazano je da se pojedine frakcije obnavljaju u nejednakim frekvencijama u periodu u kome se nukleoproteidi obnove svega jednom. Najveći broj obnavljanja u periodu od 1845 minuta (vreme obnavljanja nukleoproteida!) doživljuje neorganski fosfor (73,2 puta = 7.320% obnovljene frakcije). Zatim najvešće biva obnovljen fosfor u grupi šećera (47,3 puta = 4.730%) itd. U koloni 6 količina obnavljanja frakcija za period od 1.845 minuta (obnavljanje rukleoproteida!) iskazana je u broju miligrama fosfora za svaku frakciju. Vrednosti su dobivene množenjem frekvence obnavljanja frakcija sa koncentracijom fosfora u frakciji. Maksimalan broj miligrama u transportu iskazan je u neorganskoj frakciji (1880 mg), zatim u grupi šećernih frakcija (395 mg) itd. Najmanji apsolutni transport za vreme trajanja ovakvog ciklusa obnavljanja nukleoproteida nalazimo u kofermentima (19,3 mg). U hemiji je običaj upoređenja vršiti na bazi ekvivalenata, a dobijaju se ako se svi članovi koji reaguju skupa podele sa najmanjom apsolutnom veličinom. Ovde ćemo dakle sve transporte podeliti sa 19,3 (transport kofermenata!). Tako dobivene vrednosti transporta iskazane su u ekvivalentima kofermentske jedinice. Kolona 7 sadrži tačne vrednosti nastale ovom deobom, dok su u koloni 8 te cifre zaokružljene na vrednost najbližeg celog broja. Izuzetno su za adenilnu kiselinu i za stabilni fosfor iz ATP-a uzete srednje vrednosti između dva cela broja. Razlog je bio u tome što je transport adenilne kiseline znatno veći nego u kofermenata, te smo smatrali da ne bi bilo sasvim realno izjednačiti ih na istom nivou. Za stabilni forsor iz ATP-a smo smatrali da će bolje harmonizirati sa adenilnom kiselinom ako i njega iskažemo sa polovinom ekvivalenta. Kada smo to učinili sa stabilnim, onda smo labilni morali dati u proporciji koja je stvarno iskazana u veličinama njihovih transporta. Najzad za šećer smo mogli ići radije na niže, ali smo uzeli višu vrednost, jer smo smatrali da je našim proračunom dat minimum, a ne optimum transporta za tu frakciju, te smo se orijentisali prema onom što smo smatrali realnijim.

Kako ekvivalenti na uprošćeni način prikazuju veličine transporta pojedinih frakcija, time se znatno olakšava postupak za odabiranje kriterijuma o reakcionom poretku frakcija u metabolizmu fosfora u jetri pacova.

U tablicu br. 1 nisu uneti podaci o specifičnim brzinama sinteza i specifičnim brzinama razlaganja, jer su na pregledan način već prikazane u tablici br. 4, II dela ovog rada (18).

Tablica br. 1.

Naziv frakcije	Obnavljanje neaktivnog fosfora tokom prva dva sata		Vreme trajanja ciklusa obnavljanja pojedinih frakcija u minutama	Obnavljanje fosfora unutar vremena najsporijeg ciklusa obnavljanja (1,845 min.)				Koliko je izišlo fosfora iz frakcije u jedinici vremena (2 h) putem razlaganja za prva 2 h
	u mg	u % od C		Koliko se puta obnovi citavi ciklus obnavljanja frakcija u % C	Apsolutna količina obnavljanja fosfora u frakcijama		U ekvivalentima izračunatim iz najmanje frakc.	
					u mg	stvarno		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Neorganski P	120,—	460,—	25,2	7.320	1.800	97,2	97	120,—
P iz šećernih frakcija	25,4	301,—	39	4.730	395	20,5	21	25,4
Labilni P iz ATP	15,3	279,—	43	4.300	238,—	12,4	13	15,3
Stabilni P iz ATP	7,77	232,—	52	3.550	119,—	6,17	6,5	7,77
P iz adenilne kiseline	1,63	70,5	170	1.085	25,2	1,31	1,5	1,16
P iz kofermenata	1,25	53,0	223	830	19,3	1	1	0,87
P iz nukleoproteida	4,82	6,58	1.845	100	73,3	3,8	4	0,317
P iz fosfolipoida	7,44	8,75	1.369	135	115,—	5,96	6	0,65

Specifične brzine kao i veličine transporta iz tablice br. 1 otkrivaju nam neke karakteristične elemente, koje je potrebno analizom tačno formulirati. Počecemo sa specifičnim brzinama sinteza. Zatim ćemo proučiti specifične brzine razlaganja. Kao kriterijum za analizu uzećemo njihov odnos prema frakciji nukleoproteida (kao frakciji koja određuje trajanja ciklusa obnavljanja fosfora u celom lancu). U analizi nećemo obuhvatiti neorgansku frakciju, jer njena koncentracija stoji u obrnutoj proporciji prema koncentracijama fosfora u organskim frakcijama.

Pada u oči da od organskih frakcija najnižu vrednost za specifičnu brzinu sinteze ima šećerna frakcija, kod koje istovremeno najveći transport fosfora ostvaruje srazmerno nisku koncentraciju svog vezanog fosfora. Ova je činjenica, u dobroj saglasnosti sa poznatim pravilom u reverzibilnim reakcijama zatvorenih sistema gde postizanje ravnoteže pomoću velikih koncentracija ulaznih supstancija uz male koncentracije proizvoda sinteze, ukazuje na malu specifičnu brzinu sinteze. Prema

tome u otvorenom lancu transport vrši principijelno identičnu ulogu u procesu sinteza, koju u zatvorenom sistemu reverzibilnih reakcija inače obavlja koncentracija reagujućih supstancija. S druge strane posedovanje male specifične brzine sinteze može se uzeti kao potvrđan kvalitet za frakciju šećera, tj. da je sposobna stajati na čelu lanca fosfornog metabolizma, pošto su još pre više decenija Pütter i Winterstein (12, 21) kasnije i Jost (6), a u novije vreme i Gurney (3), ustanovili da brzina prenošenja u lancu metabolizma zavisi od brzine njegovog najsporijeg člana. Ako usvojimo zaključak iz Hevesy-evih rezultata (5), da je količina šećera u hrani određujući faktor za količinu organskog vezivanja fosfora u jetri pacova, nužno moramo usvojiti da tu ulogu šećer može ostvariti samo ako se nalazi na čelu lanca. Ako je posedovanje male specifične brzine za sintezu (šećer, labilna i stabilna frakcija APT-a, fosfolipoidi) kriterijum za položaj na čelu lanca, onda je logičan i obrnuti zaključak da frakcije sa velikim specifičnim brzinama sinteza moraju stajati na zadnjem kraju lanca. Prema ovom kriterijumu kofermenti, adenilna kiselina, a verovatno i nukleoproteidi moraju biti pri završetku lanca. Neposredno iza šećera morala bi stajati po ovom kriterijumu labilna frakcija ATP-a, a odmah iza nje došla bi stabilna frakcija ATP-a i fosfolipoidi (upoređi sa grafikonom br. 1).

Da bi sve količine koje služe kao pokazatelji i kriterijumi za određivanje položaja pojedine frakcije u reakcionom poretku metabolizma fosfora u jetri pacova postale neposredne i očigledne, sastavili smo grafikon br. 1. Mada je sastavljen na čisto kvantitativnoj osnovi, ovaj grafikon služi kao izvanredno ubjedljiv argument za kvalitativne zaključke.

Sledeći kriterijum za procenjivanje redosleda frakcija u poretku prenošenja daju veličine specifičnih brzina razlaganja (vidi grafikon br. 1). Dok za sintezu fosfora najmanju specifičnu brzinu ima grupa šećera, ona ujedno ima najveću specifičnu brzinu razlaganja (vidi II deo kolona 3, tablice br. 4). Ova osobina čini grupu šećera naročito pogodnom za funkciju prenošenja, pošto svoj fosfor ne može dugo zadržavati vezanog. Dakle i po ovom kriterijumu šećerna grupa mora stajati na čelu lanca. Specifična brzina razlaganja u labilnoj frakciji ATP-a manja je svega za 8% od specifične brzine razlaganja u šećernoj frakciji. Stabilna frakcija dolazi na treće mesto po veličini specifične brzine razlaganja (za 24% manja nego u grupi šećera). Najmanje specifične brzine razlaganja nalazimo u frakcijama nukleoproteida i fosfolipoida. Kofermenti u tom pogledu zauzimaju srednji položaj. Prema ovome kriterijumu na zadnjem kraju lanca bili bi nukleoproteidi i fosfolipoidi. Potsećamo da fosfolipoidi prema prvom kriterijumu treba da zauzmu mesto negde napred (upoređo sa stabilnim fosforom iz ATP-a), dok je drugi kriterijum protivurečan sa prvim, jer po njemu treba da budu pozadi zajedno sa nukleoproteidima. Nukleoproteidi po prvom kriterijumu treba da budu negde iza sredine lanca, dok ovde vidimo da treba da budu poslednji po redu. Prema kriterijumu sinteza kofermenti i adenilna kiselina došli bi na kraju lanca, dok po kriterijumu razlaganja dolaze više napred, tj. negde po sredini lanca (Pogledaj grafikon br. 1).

Novi kriterijum za određivanje redosleda u lancu prenošenja fosfora nalazi se u podacima o procentnom obnavljanju fosfora u pojedinim frakcijama u jedinici vremena. Kolona 3 tablice br. 1 obnavljanje fosfora iskazuje u procentima njegove koncentracije. Vidi se da u ovoj koloni frakcija šećera sa 304% obnavljanja koncentracije stoji na čelu celog lanca. Odmah iza šećera dolazi labilna frakcija fosfora u ATP-u, sa 279% obnavljanja frakcije, a za njom dolazi stabilna frakcija sa 232% obnavljanja. Najmanje procenete obnavljanja fosfora u frakciji pokazuju nukleoproteidi i fosfolipoidi. I prema ovom kriterijumu šećeri se nalaze na čelu lanca; za njima slede labilna, a odmah zatim stabilna frakcija ATP-a. Na završetku lanca nalaze se (po ovom kriterijumu) nukleoproteidi i fosfolipoidi. Kofermenti i adenilna kiselina nalaze se u sredini lanca, iza labilne i stabilne frakcije ATP-a (Vidi grafikon br. 1).

I apsolutna količina unošenja fosfora u strukturu frakcije tokom prva dva sata (posle davanja radiofosfora pacovima) daje određeni kriterijum za formiranje pretstave o poretku prenošenja fosfora. Tako na pr. frakcija šećera koja sadrži 8,36 mg stacionarnog fosfora, primi tokom prva dva sata novih 25,4 mg fosfora. Za to vreme labilni fosfor na svoju stacionarnu koncentraciju od 5,53 mg primi još 15,3 mg novog fosfora, dok stabilni fosfor svoju koncentraciju od 3,36 mg obnovi sa 7,77 mg novog fosfora. Skoro sa istom apsolutnom količinom kao i stabilni fosfor iz ATP-a (tj. sa 7,44 mg) obnavljaju fosfolipoidi svoju veliku stacionarnu koncentraciju od 85 mg. Prema apsolutnoj količini unošenja novog fosfora u frakciju, fosfolipoidi stoje skoro uporedo sa stabilnom frakcijom iz ATP-a. Iza stabilne frakcije i fosfolipoida po ovom kriterijumu nalaze se nukleoproteidi. Najmanje apsolutno obnavljanje pokazuju frakcije kofermenata, dok adenilna kiselina ima nešto veće apsolutno obnavljanje fosfora u svojoj frakciji. I prema ovom kriterijumu šećerna grupa se nalazi na čelu lanca. Na repu lanca se po ovom kriterijumu nalaze kofermenti, a odmah ispred njih adenilna kiselina.

Vreme koje je neophodno da se čitavi fosfor frakcije zameni novo-došlim, takode daje određene kriterije za redosled frakcija (vidi kolonu 4 tablice br. 1). Najkraće vreme potrebno je šećernoj grupi da obnovi čitavu koncentraciju fosfora sadržanog u frakciji (39 minuta). Za obnavljanje ukupne količine labilnog fosfora u frakciji ATP-a potrebno je 43, a za stabilni fosfor 52 minuta. Najduže vreme za obnavljanje čitavog fosfora u frakciji potrebno je nukleoproteidima. Prema ovom kriterijumu šećeri bi morali biti na čelu, a nukleoproteidima na repu lanca. Ispred ovih nalazili bi se fosfolipoidi. Na prednjem kraju, odmah iza šećerne frakcije, najpre bi, po ovom kriterijumu, došla labilna, a odmah zatim stabilna frakcija.

Apsolutna količina otpuštanja fosfora tokom prva dva sata (putem razlaganja frakcije), takode može poslužiti kao samostalan kriterijum za ustanovljavanje redosleda prenošenja fosfora (kolona 9 tablice br. 1). Odmah pada u oči da šećerna grupa, labilna i stabilna frakcija ATP-a tokom prva dva sata otpuste jednake količine fosfora sa onim koje su za to vreme same primile, te time svoju koncentraciju drže na istom nivou, neizmenjenu. Najmanju apsolutnu količinu fosfora (ravnu petnaestini od primljene količine za to vreme) otpuštaju tokom prva dva sata nukleoproteidi; jedanest puta veću količinu prime (nego što u

OSNOVE ZA KRITERIJUM	NAZIV FRAKCIJE						
	ŠEĆERI	LABILNI P IZ ATP-2	STABILNI P IZ ATP-2	ADENILNA KISELINA	KOFERMENTI	NUKLEO PROTEINI	FOSFO LIPOIDI
SPECIFIČNE BRZINE SINTEZA K <sup>s</sup>	39 × 10 <sup>3</sup>	650 × 10 <sup>3</sup>	8,06 × 10 <sup>3</sup>	6,74 × 10 <sup>3</sup>	80 × 10 <sup>3</sup>	208 × 10 <sup>3</sup>	12,45 × 10 <sup>3</sup>
SPECIFIČNA BRZINA RAZLAGANJA K <sup>r</sup>	30 × 10 <sup>3</sup>	277 × 10 <sup>3</sup>	232 × 10 <sup>3</sup>	70,5 × 10 <sup>3</sup>	53,6 × 10 <sup>3</sup>	450 × 10 <sup>3</sup>	875 × 10 <sup>3</sup>
PROCENTUO OBNAVLJANJE FRAKCIJE TOKOM PRVA DVA SATA	30,7%	277%	28,8%	90,5%	92,5%	450%	875%
ABSOLUTNO OBNAVLJANJE FRAKCIJE U mgr TOKOM PRVA 2 h	25,45	75,5	277	165	125	402	765
VREME OBNAVLJANJA FRAKCIJE IZRAŽENO U MINUTAMA	37 min	43 min	52 min	170 min	225 min	245 min	247 min
ABSOLUTNO OTPUŠTANJE FOSFORA IZ FRAKCIJE TOKOM PRVA 2 h	25,45 mgr	75,5 mgr	277 mgr	116 mgr	0,67 mgr	0,247 mgr	0,05 mgr
ABSOLUTNO PRENOŠENJE FOSFORA DUŽ CELOG LANCA U mgr	335 mgr	838 mgr	119 mgr	222 mgr	19,3 mgr	72,3 mgr	118,1 mgr
EKVIV Prenošenje FOSFORA DUŽ CELOG LANCA TOKOM JEDNOG CIKLUSA	24,00	42,00	4,50	1,80	1,00	4,00	6,00

Grafikon br. 1.

periodu prva 2 h oslobode) fosfolipoidi, dok kofermenti u tom periodu prime oko 2 puta više nego što otpuste, itd. Prema ovom kriterijumu opet se na čelu lanca nalazi šećerna grupa, dok se na repu nalaze nukleoproteidi. Skoro uporedo sa njima nalaze se fosfolipoidi i kofermenti. Adenilna kiselina ima relativno veliku sposobnost otpuštanja fosfora tokom prva dva sata, te dolazi odmah iza stabilne frakcije ATP-a.

Sasvim nov kriterijum dobijamo ako sve frakcije lanca analizujemo kao celinu. Razume se da je teško analizovati nešto što još nije definisano (naime mi još uvek tražimo mogući reakcioni poredak, a želimo da ga analizujemo kao da je već poznat). Mada još ne znamo njegov stvarni poredak, ipak je moguće izračunati neke podatke iz perspektive cele grupe. Osnova za to sadržana je u sledećem. Ako prenošenje fosfora ima lančasti karakter, te u lancu učestvuju sve organske frakcije jetre, onda treba da vidimo koje je vreme potrebno da se fosfor obnovi u celom lancu. U prethodnom izlaganju pokazano je da će to svakako morati biti ravno vremenu obnavljanja najsporiije frakcije. Već su u tablici br. 1 izračunate veličine obnavljanja svih frakcija iz perspektive obnavljanja nukleoproteida kao najsporiije frakcije u jetri pasova. Uzeli smo da je jedan ciklus prenošenja fosfora kroz čitavi lanac završen u vremenu u kome se obnovi sav fosfor u nukleoproteidima (ovo je utoliko više opravdano, što nukleoproteidi završavaju ciklus ne samo kvantitativno, a prema većini dosadašnjih kriterijuma i po redosledu). Ako u jednom ciklusu prenošenja duž čitavog lanca obnavljanje samih nukleoproteida označimo sa 1 (ili sa 100%, kako je učinjeno u koloni 5 tablice br. 1), tada se za to vreme posebno obnavljanje pojedine frakcije može iskazati brojevima iznetim u istoj koloni. Ova su vremena grafički prikazana i u grafikonu br. 1.

Iz ovih cifara moguće je stvoriti još jedan novi kriterij, ako se brojevi obnavljanja celih ciklusa pojedinih frakcija pomnože sa svojim stacionarnim koncentracijama. Tada se mogu uporediti apsolutne količine izražene u miligramima prenošenja fosfora kroz sve frakcije za vreme koje je potrebno da se obnovi jedan ciklus čitavog lanca. Kolona 6 tablice br. 1 sadrži baš ove podatke. Da bi se obnovila cela količina fosfora (73,3 mg) u nukleoproteidima, šećerna grupa mora preneti 47,3 puta svoju celu koncentraciju, što u miligramima fosfora iznosi: 395. Za isto vreme labilna frakcija će preneti 43 puta svoju koncentraciju (238 mg) fosfora, stabilna frakcija ATP-a preneće svoju čitavu koncentraciju 35,5 puta, što iznosi 119 mg fosfora. Istovremeno adenilna kiselina preneće svoju koncentraciju fosfora svega 10,85 puta, što iznosi 25,2 mg. Kofermenti će preneti 19,3 mg, a fosfolipoidi 115 mg.

U koloni 8 tablice br. 1 nalaze se brojevi koji mogu označavati kako pojedine molekule, tako i ekvivalente prenošenja za vreme trajanja jednog ciklusa čitavog lanca. Pri izradi grafikona br. 1 sve ekvivalente pomnožili smo sa 2, da bi vrednosti u frakcijama adenilne kiseline i stabilnog ATP-a bile iskazane takode u celim ciframa.

## 2. Pokušaj rekonstrukcije reakcionog poretka metabolizma fosfora u jetri pacova

Pre nego što predemo na pokušaj rekonstrukcije mogućeg poretka prenošenja, smatramo za potrebno da objasnimo neke podatke iz kolona 7 i 8 (Vidi tablicu br. 1).

1) Najpre želimo ukazati na to da su cifre (ekvivalenti) prenošenja, koje su ucrtane u šemu poretka, pozamljene iz kolone 8 tablice br. 1. Ovi podaci na uprošten način prikazuju količine (ekvivalentno) transporta, te služe kao prvoklasni pokazatelji sposobnosti frakcije da na određenom mestu snabdeva lanac potrebnim količinama fosfora. Između ovog i ostalih kriterijuma prvenstveno mora postojati usklađenost.

Već je napred izneto da cifre u koloni 8 tablice br. 1 prikazuju količine transporta frakcija u periodu postignute ravnoteže obnavljanja za razmak vremena od 1845 minuta (period ciklusa lanca). Izuzev nukleoproteida (a i fosfolipoida), sve su frakcije u tom periodu obnovile svoj fosfor mnogo puta, predavši ga svaki put dalje. Pri tom stacionarna koncentracija ostaje neizmenjena, mada se neprekidno iznova formira i rastura, saglasno veličinama specifičnih brzina sinteza i razlaganja frakcije, kao i proporcionalno kvadratu apsolutne količine transporta. Kako apsolutna količina prenošenja fosfora u kranjoj liniji zavisi (za sve frakcije) od količine glukoze u hrani, to znači da koncentracija svih frakcija neprekidno zavisi od svih tih dinamičnih veličina.

2) Smatramo da je korisno najpre ustanoviti opšte uslove koje mora ispuniti svaka frakcija na mestu koje joj pripada u redosledu prenošenja fosfora. Tako napr. prednje frakcije lanca moraju imati takve kapacitete transporta da mogu zadovoljiti potrebe primanja kasnijih članova koje one snabdevaju fosforom. Pri tom ovi prednji članovi moraju imati naročito obezbeđen dovoljan kapacitet otpuštanja fosfora i to već u prvim časovima prenošenja. Napr. za fosfolipoide bi se moglo pretpostaviti da po kapacitetu prenošenja tokom ciklusa celog lanca, kao i prema kapacitetu primanja u prva 2 h dolaze skoro uporedo sa stabilnom frakcijom ATP-a (koja ima inače velik kapacitet prenošenja). Međutim puni kapacitet otpuštanja fosfolipoidi (kao što smo već naveli) postižu tek u 1369 minutu, dok je tokom prvih sati otpuštanje fosfora iz njih minimalno. To znači da oni u prvim satima ne mogu u dovoljnoj količini biti snabdevači drugih frakcija. Činjenice ipak pokazuju da ostale frakcije nisu otkrile postojanje slabog kapaciteta svog snabdevanja, dakle ni zavisnost od fosfolipoida.

3) Dalje se vidi da pojedine frakcije za položaj u lancu imaju protivrečne uslove, jer po izvesnim kriterijumima dobivaju određeno mesto u redosledu, dok drugim sasvim drugo. Postavlja se pitanje koji će kriterijum biti odlučujući za redosled. Treba dalje istaći da svi kriterijumi nemaju podjednak značaj, tj. podjednaku obavezu. Neki samo pokazuju na principijelnu mogućnost zauzimanja određenog položaja, dok drugi decidirano isključuju takvu mogućnost, te su prema tome obavezni. Uzmimo primer adenilne kiseline i nukleoproteida. Prema kriterijumu specifične brzine sinteza adenilna kiselina treba da zauzme mesto u lancu iza nukleoproteida, dok bi prema kriterijumu specifične brzine razlaganja njihov raspored u lancu trebalo da bude obrnut; i prema apsolutnoj količini primanja adenilna kiselina bi takođe trebalo da je iza nukleoproteida, a prema apsolutnoj količini otpuštanja fosfora obrnuto. Koji je kriterijum tačan? Ako pak uporedimo količinu primanja jedne i otpuštanja druge komponente ili obratno, možemo videti da se one uzajamno nikako ne mogu snabdevati fosforom: u prva dva sata nukleoproteidi primaju 4,82 mg, a adenilna kiselina otpušta svega 1,16

mg, dok adenilna kiselina u to vreme prima 1,63 mg, a nukleoproteidi otpuštaju samo 0,317 mg. Prema tome ni jedna od njih ne može u prva dva sata snabdeti onu drugu fosforom u punom kapacitetu. Dakle ni jedan od pomenutih kriterijuma, posebno uzetih, nema decidiranu vrednost. Zaključak je da obe frakcije moraju doći na kraj lanca, ali ne u međusobnom redosledu, već uporedo, pošto je svaki njihov uzajamni redosled isključen kapacitetima primanja i otpuštanja obeju frakcija.

Iz toga proizlazi da se odluka mora osloniti na kombinaciju svih, ili barem većeg broja neobaveznih i naročito na obavezne kriterije za pojedinu frakciju. Kao polaznu osnovu za raspored redosleda uzeli smo kriterijum prema kvantitativnom poretku prenošenja duplog broja ekvivalenata (kolona 8 tablice br. 1), a ostale kriterijume upotrebili smo obično za korekciju mogućeg ili isključenog mesta u redosledu.

Zanimljivo je da svi analizovani kriterijumi unisono šećernoj grupi određuju položaj na čelu lanca. Nema ni jednog kriterija koji bi im to mesto osporavao. Ovo je još jedna nova potvrda za ispravnost Hevesy-evog zaključka da šećeri funkcionišu kao regulatori sinteze fosfornih organskih jedinjenja u jetri pacova. Stoga smatramo da prenošenje fosfora preko šećera bez rezerve možemo staviti na čelo čitavog lanca organskih frakcija. Ovde postoji samo jedan prigovor, koji ne proizlazi ni iz naših kriterija, niti iz Hevesy-evih eksperimenata, već iz istraživanja encimologa. Prema reakcionoj šemi koju iznosi Breusch (2) šećer može ući u proces svoga razlaganja samo ako prethodno primi dva organski vezana fosfora od labilne frakcije ATP-a. Smatrali smo da nam je dužnost i ovaj prigovor uzeti u obzir kod sastavljanja lanca, mada ne proizlazi iz naših kriterijuma. On u suštini ne menja našu šemu. Naprotiv, on je samo upotpunjuje, a ujedno i koriguje za 10% u pogledu izvora fosfora kojim se snabdeva šećerna grupa. Šta više kada ovaj prigovor ne bi postojao, naša bi šema imala priličnu teškoću u II stadijumu fosfornog transporta, jer u poslednjim članovima lanca nema frakcija sa potrebnim kapacitetima primanja da ove ekvivalente prihvate. Pošto smo u šemi uzeli dvostruki broj ekvivalenata iz kolone 8 tablice br. 1, izlazi da šećerna grupa prenosi na frakcije čitavog lanca u po dva ciklusa po 42 ekvivalenta fosfora.

Pošto smo na taj način i pomoću opisanih kriterijuma ustanovili položaj šećera u lancu, treba da vidimo koja frakcija zauzima mesto iza njega. Svi kriterijumi daju labilnoj frakciji mesto odmah iza šećera, što bi trebalo da znači da joj to mesto nije osporeno. Međutim time nije rešen i ceo problem primanja fosfora od šećera, jer labilna frakcija ATP-a ima kapacitete sposobne da prime svega 26 (možda čak i svega 25?) ekvivalenata u toku dva uzastopna ciklusa, dok šećerna grupa za isto vreme prenosi čitavih 40 (ili 42) ekvivalenata. Treba dakle naći još jednog ili nekoliko partnera labilnoj frakciji ATP-a. Kao partneri sa približno podjednakim kapacitetima prenošenja dolaze principijelno u obzir dve frakcije, a to su: stabilna frakcija ATP-a i fosfolipoidi. Za stabilnu frakciju ne postoji nijedan kriterijum, koji bi njen položaj blizu čela lanca činio spornim, te ona po svim kriterijumima ima uslove da zauzme mesto kako neposredno iza labilne frakcije, tako i uporedo sa njom. Nije nam poznat mehanizam primanja stabilnog fosfora iz



ATP-a (čini nam se da je uopšte nepoznat), ali prema našim kriterijumima ATP prima svoj stabilni fosfor neposredno od šećera uporedo sa labilnim fosforom. Za fosfolipoidne postoje doduše kriteriji da mogu biti uporedo sa stabilnom frakcijom ATP-a, ali postoje isto tako i suprotni kriterijumi, koji zahtevaju da oni budu na zadnjem kraju lanca. Naravno, čito je težak prigovor da oni sa fosforom, koji otpuste u toku prva dva sata, ne mogu snabdeti ni jednu frakciju potrebnim kapacitetom fosfora. Iz oba razloga smatramo da je verovatnije da je stabilni fosfor onaj partner koji u lancu zauzima mesto neposredno iza šećerne grupe, a uporedo sa labilnim fosforom iz ATP-a. Fosfolipoidi bi morali imati posebno mesto u lancu, ukoliko želimo udovoljiti zahtevima svih kriterijuma.

Ako tako postavimo tri pomenute frakcije u dva stepena prenošenja, onda je prihvatanje fosfora koga oslobađa šećerna grupa iscrpno svega za 93%, jer šećeri prenose 42 ekvivalenta, u toku dva ciklusa čitavog lanca. Za 7% fosfora iz šećera ne možemo da nademo prihvatne kapacitete, za koje bi odgovarajući kriteriji dozvoljavali da ih postavimo odmah iz šećerne grupe. Bilo bi možda moguće tražiti rešenje u pretpostavci da se deo fosfora oslobađa iz glikogena posle završne sinteze, prelazeći u neorganski (ili obratno pri pretvaranju glikogena u glukozu, koja zatim odlazi u krv). Ovo pitanje moramo ostaviti otvoreno. Mislimo da ovaj mali nedostatak prenosilaca za odvoz fosfora sa šećera ne mora (ukoliko se ne nađu ozbiljniji prigovori, koji obavezno čine naš lanac nemogućim) dovesti do zaključka da je uloga šećera u lancu neusklađena.

Pošto smo najzad rešili koje frakcije nužno zauzimaju prve dve stepenice transportnog lanca, pokušaćemo da ustanovimo šta se nalazi u trećoj stepenici. Labilnu i stabilnu frakciju ATP-a moramo, iz analitičkih (tj. laboratorijskih) razloga, tretirati kao dve posebne frakcije (a verovatno i zbog mehanizama njihovih sinteza i razlaganja, kao i njihovih uloga u metabolizmu). U našoj šemi zauzeli su posebno mesto i kao celina, ali se tamo pojavljuju samo figurativno kao jedinstvena frakcija ATP-a sa 39 ekvivalenta fosfora. Ovo je učinjeno jedino zato da bi se videlo da kao takvi postoje, s tim da njihov ekvivalent predstavlja samo ponovljenu vrednost iz drugog stepena prenošenja, prikazanog sada u jedinstvenoj cifri. Potrebno je da se ovo ima u vidu kod eventualnih sumacija ekvivalenta iz šeme i onih iz kolone 8 tablice br. 1.

Prema tome treći stepen prenošenja u šemi polazi tek od 13 ATP-a. Sledeći član prenošenja mogu biti samo fosfolipoidi, zato što nekoliko njihovih kriterijuma zahtevaju da budu postavljeni negde blizu čela lanca. S druge pak strane oni ne mogu doći kao međučlan između ATP-a i kasnijih frakcija lanca, jer postoji prigovor da u prva dva sata nemaju dovoljan kapacitet odavanja fosfora. Velika sposobnost primanja uz malu sposobnost odavanja daje fosfolipoidima posebno mesto u lancu. Prema sposobnosti primanja mogli bi biti stavljeni uporedo sa stabilnom frakcijom ATP-a, ali po brzini otpuštanja dolaze među poslednje frakcije lanca. Ova dva suprotna kriterijuma se isključuju samo dok pokušavamo da fosfolipoidne postavimo u glavnu osovinu lanca. Međutim oni se mogu lepo nadopuniti ako ih postavimo u bočnu granu lanca. Tada fosfolipoidi

mogu biti postavljeni napred, odmah iza ATP-a, a ujedno mogu biti i jedini (dakle poslednji) član svoje bočne grane. Time položaj fosfolipoida u lancu ipak nije sasvim definisan, jer fosfolipoidi moraju ne samo po našim kvantitativnim kriterijumima, već i prema izvoru iz koga primaju drugu svoju komponentu, doći čak uporedo sa obe frakcije ATP-a, tj. odmah iza grupe šećera. To se odnosi na poreklo njihove glicerinske komponente. Glicerinska komponenta može u fosfolipoidu ući kao gotov produkt iz masti, ali nije nemoguće da glicerol dolazi i iz razloženih proizvoda glukoze. Poznato je da svaki molekul glukoze može proizvesti dva molekula glicerofosfata. Ipak odnos fosfolipoida prema glukozu nije identičan sa odnosom obih frakcija ATP-a (labilne i stabilne) prema njoj, jer za fosfolipoidu nije utvrđeno da svoj fosfor predaju drugim organskim radikalima, niti se njihova glukoza razlaže dalje od stepena glicerina u samom procesu prenošenja fosfora (dok se glukoza, koja služi snabdevanju stabilne i labilne frakcije ATP-a fosforom razloži do kraja). Ova razlika ispoljila se i u našoj šemi prenošenja, jer je za sintezu 12 ekvivalenata fosfolipoida u lancu obezbeđeno posebnih 6 molekula glukoze (iz kojih će najpre nastati 12 glicerofosfata). Glicerofosfati u vidu stepena stoje u šemi samo figurativno (kao intermedijerni stupanj), ali njihovi ekvivalenti u našim tablicama nisu iskazani posebno. Kako su za aktivisanje svake glukoze potrebna dva fosfora iz labilne frakcije ATP-a, to je za sintezu 12 glicerofosfata neophodno dovesti unazad — retrogradno — do stepena slobodne glukoze 12 ekvivalenata fosfora iz trećeg fosfora ATP-a.

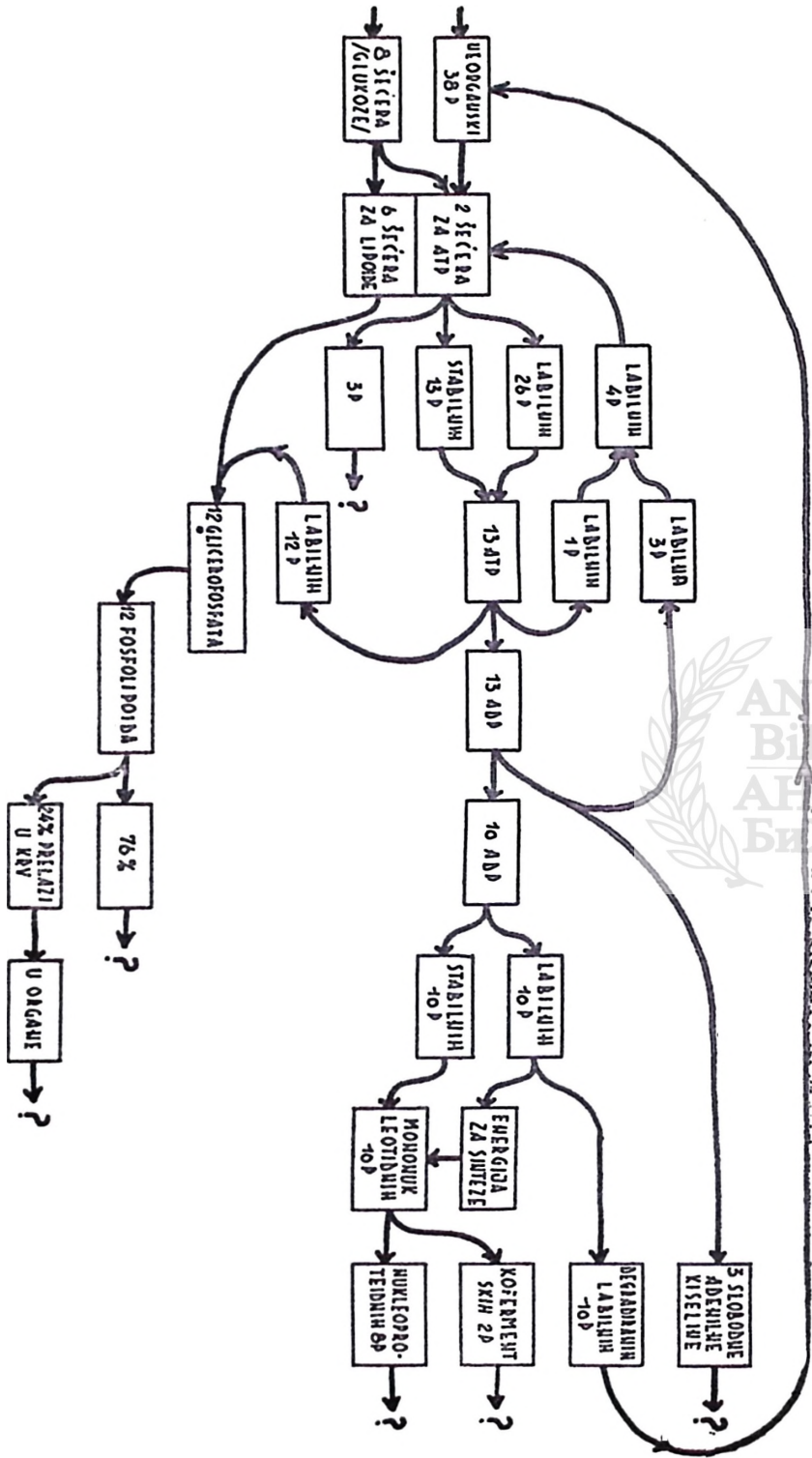
Pošto prema našim podacima izlazi da su fosfolipoidi poslednji član svoje bočne grane u prenošenju organskog fosfora, ostaje da vidimo koju sudbinu doživljuje taj fosfor, jer posle 1369 minuta čitav fosfor fosfolipoidne frakcije biva zamenjen novim fosforom. Za jedan deo fosfolipoida Hevesy možda ima rešenje, našavši da do 24% fosfolipoida kao celi melokuli napuštaju jetru tokom 24 h, prelazeći u krv, a iz ove ubrzo zatim u razne organe. Šta biva sa ostatkom fosfolipoida, koji ostaje u jetri nije nam poznato, niti smo u literaturi naišli na neke indikacije, koje bi mogle dati ideju o tome pitanju. Ostaje dakle u celini otvoreno pitanje sudbine fosfora iz fosfolipoida nastalih u jetri.

Obzirom da su kapaciteti prihvatanja u fosfolipoidima sposobni primiti samo 12 ekvivalenata drugog labilnog fosfora iz ATP-a, dok ovaj otpušta jedan ekvivalent fosfora više (tj. ukupno 13 ekvivalenata) potrebno je ispitati kuda odlazi taj jedan ekvivalent fosfora. Možda ćemo moći lakše da odgovorimo na ovo pitanje ako najpre proučimo sudbinu ADP-a\*) koji ostaje posle otpuštanja trećeg (krajnjeg labilnog) atoma fosfora iz ATP-a.

Iz preostalih 13 ekvivalenata Adenozin-Di-Phosphata (ADP) principu mogu nastati molekuli slobodne adenilne kiseline, koji i kao celina mogu biti ugrađeni u strukturu kofermenata, odnosno nukleoproteida.

Pošto adenilna kiselina u lancu stvarno postoji ne samo u vezanom, već i u slobodnom stanju, to ćemo najpre proučiti njeno mesto u lancu. U našoj šemi se vidi da se tokom dvaju nukleoproteidskih ciklusa u adenilnoj kiselini obnavljaju 3 ekvivalenta fosfora. Kako za vreme dvaju

\*) ADP = Adenozin-Di-Phosphat.



Sema br. 1.

ciklusa obnavljanja fosfora u čitavom lancu organskih frakcija jetre, frakcija ADP učestvuje sa 13 ekvivalenata, jasno je da adenilna kiselina sa svoja 3 ekvivalenta obnavljanja ne može biti jedini potrošač fosfornih komponenata iz ADP-a. Međutim sa tri ekvivalenta ona je u stanju da vrši ulogu parcijalnog sledbenika ADP-a. Da bi se iz ADP-a dobila slobodna adenilna kiselina, ADP mora najpre otpustiti svoj drugi labilni fosfor. U tom slučaju, pored 3 ekvivalenta slobodne adenilne kiseline, dobićemo još i 3 ekvivalenta slobodnog, energetski bogatog labilnog fosfora, sposobnog da se veže na druge organske radikale. Ovome treba dodati i ranije pomenuti ekvivalentat viška labilnog fosfora oslobođenog iz ATP-a uporedo sa procesom prenošenja 12 ekvivalentenata labilnih fosfora na fosfolipoide. Dosada smo rešili redosledna mesta u lancu prenošenja za sve frakcije osim za nukleoproteide i kofermente, koji prema nekim kriterijima treba da zauzmu uporedna mesta na završetku lanca. Moglo bi se pretpostaviti da oni možda mogu primiti ova četiri ekvivalenta slobodnog labilnog fosfora (jedan raniji fosfor iz ATP-a; tri nova fosfora iz ADP-a, oslobođenih u procesu stvaranja slobodne adenilne kiseline). Već smo napred ukazali na činjenicu da nukleoproteidi i kofermenti ne vezuju posebni labilni fosfor, već isključivo čitave mononukleotide. Prema tome oni ne mogu biti potrošači ovih 4 ekvivalenta labilnog fosfora oslobođenih iz ATP-a i ADP-a. Ostaju samo dve mogućnosti: ili da se ova 4 ekvivalenta »degradiraju« na stupanj matičnog neorganskog fosfora, ili da nađu drugog organskog potrošača u lancu ili izvan njega. Naš lanac bi mogao da im pruži potrošača samo u prvoj organskoj komponenti lanca, tj. u grupi šećera. Ako je to tačno, morala bi postojati potreba da šećerna grupa veže labilni fosfor iz ATP-a odnosno iz ADP-a. U našem lancu to bi moralo naći odraza i u ekvivalentima šećera koji unose fosfor u lanac organskih frakcija. S obzirom da je za dalje zaključke od velikog značaja, pokušaćemo da ustanovimo broj ekvivalentenata glukoze potrebnih da prenesu 42 ekvivalenta fosfora u ostale članove lanca. Breutsch citira (2) nekoliko eksperimenata u kojima je ispitivano koliko se ekvivalentenata fosfata može preneti u organske spojeve na osnovu potpune oksidacije glukoze, polazeći od činjenice da svaki mol organskog fosfata sobom nosi oko 11 do 17 Kcal, ako je u lako hidroliziranim spojevima, odnosno oko 2 do 4 Kcal, ako je esterski vezan. Ochoa (11) je ustanovio da pri oksidaciji glukoze svaki mol potrošenog kiseonika ( $O_2$ ) proizvede maksimalno 4 mola organski vezanog fosfata. To znači da 6 mola kiseonika (koliko se troši za oksidaciju jednog mola glukoze) može proizvesti 24 mola organski vezanog fosfora. Lipmann (7, 8) je došao do istog nalaza kao i Ochoa, ali na osnovu kalkulacije redokspotencijala kod razlaganja glukoze. Pošavši od činjenice da se sva energija od razlaganja glukoze oslobađa tek prilikom oksidacije  $12 \times 2H = 24H$  izdvojenih iz jedne glukoze (tačnije: iz dvaju molekula pirogroždane kiseline), Lipmann je sastavio šemu oksidacije, u kojoj je rasporedio gradijent opadanja redokspotencijala, kao i sukcesivna mesta stvaranja organski vezanih fosfata. Iz njegovog proračuna takođe izlazi da proizvodnja 24 mola organski vezanih fosfata nastaje putem oksidacije  $12 \times 2H$  iz glukoze.

Kako u našem lancu postoji višak transporta od 4 ekvivalenta labilnog — organski vezanog — fosfora, bilo bi moguće njima aktivisati

dva mola glukoze. Ova se činjenica sasvim lepo slaže sa rezultatom do kojih su došli Ochoa (11) i Lipmann (7, 8). Naime pomoću dva ekvivalenta glukoze može se preneti 48 akvivalenata organski vezanog fosfata, što za 6 ekvivalenata premašuje kapacitet prenošenja glukoze u našem lancu. Čak je naš kapacitet prenošenja prevelik, što se vidi i iz činjenice da šećerna grupa našeg lanca prenosi 3 ekvivalenta više od kapaciteta primanja sledećih članova lanca. Ovo bi možda trebalo tumačiti tako, da se ima uzeti da ova tri ekvivalenta bivaju vraćena neorganskoj frakciji direktno iz samih šećera (napr. posle završene sinteze glikogenskih molekula, ili posle proizvodnje glukoze iz glikogena za regulaciju krvnog šećera?). Prema tome moramo se saglasiti da su za prenošenje 42 ekvivalenta fosfora sasvim dovoljna dva mola glukoze. Višak ekvivalenata labilnih fosfora, kojima ne možemo naći potrošače u zadnjem delu lanca, mogu dakle biti ekvivaletno potrošeni jedino u prvom članu lanca. Stvar bi izgledala tako da svaki ekvivalenat šećera prenosi u lanac ne samo količinu fosfora potrebnu za udovoljenje svih afiniteta frakcija lanca, već daje i višak od dva labilna fosfora iz ATP-a, koji se vraćaju na čelo lanca, služeći za pokretanje novog ciklusa. Prema tome pomoću ekvivalenata retrogradno vraćenog labilnog fosfora ostvaruje se autoregeneracija lanca. Za pokretanje svakog ciklusa dovoljan je jedan ekvivalenat glukoze, koji sam biva aktivisan pomoću dva ekvivalenta labilnog fosfora iz prethodnog ciklusa, a budućem ciklusu stavlja na raspoloženje ta dva ekvivalenta labilnog fosfora. Za slučaj da se smanji količina šećera u hrani, opašće i njegova količina u jetrinim ćelijama. Tada će se i stepen regeneracije ciklusa takođe smanjiti, te će i kapacitet prenošenja čitavog lanca biti smanjen. S druge strane porast količine šećera morao bi takođe u samom lancu imati mogućnost da putem proširenja regeneracije poveća količinu fosfora u lancu. Da vidimo da li naši ekvivalenti otvaraju takve perspektive? Na prvi pogled vidimo da u našem lancu postoje razne rezerve slobodnih ekvivalenata labilnog fosfora, pogodnih za autokatalizu regeneracije narednog ciklusa prenošenja fosforne kiseline. Ne bi morala biti isključena mogućnost, da pojava viška šećera dovodi do delimične derivacije izvesne količine organskog fosfora sa drugih smerova prenošenja. Ne vidimo prepreku da se neiskorišćene rezerve fosfora u samoj grupi šećera upotrebe za povećanu proizvodnju ATP-a, čime se stvara osnova za uvođenje novih glukoza u lanac. Svaki ekvivalenat nove glukoze nosi maksimalno 24 novih organskih fosfata, Retrogradna derivacija nazad ka šećerima bila bi moguća i iz procesa stvaranja fosfolipoida, jer se tamo labilni fosfor iz ATP-a inače dovodi nazad ka šećernoj grupi, i to u šest puta većoj količini ekvivalenata, nego što se inače troši za autoregeneraciju ciklusa. Ovi šećeri, dobivši labilni fosfor, umesto da se na stupnju glicerofosfata odmah ugrađuju u fosfolipoidne, mogli bi biti upotrebljeni za proširenu regeneraciju ciklusa, itd.

Prema tome slobodni višak labilnih fosfora iz redovnog prenošenja u ciklusu služi za normalnu regeneraciju lanca, dok bi neiskorišćeni višak (kao i prikrivena rezerva fosfora koja se inače troši za sintezu fosfolipoida) mogla principijelno služiti za proširenu regeneraciju lančastog ciklusa. Proširenje ili suženje lančastog ciklusa, putem ovog mehanizma,

bilo bi u krajnjoj liniji uvek regulisano (po zakonu o delovanju aktivnih masa), koncentracijom šećera koji se jetri donosi putem hrane, kao što je već u svojim eksperimentima pokazao Hevesy.

Iz naših ranijih izlaganja vidi se da frakcije adenilne kiseline, kofermenata i nukleoproteida moraju stajati na završetku lanca — na zajedničkom stepenu — pošto ni jedna od ovih triju frakcija ne može služiti kao uzajamni snabdevač fosforom one druge: svaka od njih ima znatno veći kapacitet primanja od kapaciteta otpuštanja fosfora. Za adenilnu kiselinu već smo videli da se nalazi u lancu iza ADP-a. Međutim pre nego što predemo na ustanovljavanje mesta kofermenata i nukleoproteida u lancu na osnovu njihovih ekvivalenata prenošenja, bilo bi korisno malo da pronalizujemo opšti položaj i ulogu adenilne kiseline u lancu.

Kada smo pokušali da konstruišemo lanac prenošenja, smatrali smo da sve grupe organskih frakcija koje u strukturi imaju mononukleotid adenilne kiseline, moraju biti u međusobnoj transportnoj vezi. Izgledalo nam je najprirodnije da se u jetri najpre stvori slobodna adenilna kiselina kao najjednostavnija frakcija, koja bi zatim bila upotrebljena kao osnova za sintezu ostalih frakcija (jer se adenilna kiselina nalazi ugrađena u njihovoj strukturi). Na ovakvu misao došli smo putem analogije sa mišićnim ATP-om, koji nastaje iz slobodne adenilne kiseline i energetski bogatog fosfora (iz kreatin-fosforne kiseline). Očekivali smo da će se najjednostavnija takva upotreba ispoljiti već u sintezi samog ATP-a. Međutim lančasti ciklus u dva uzastopna obnavljanja unese 13 ekvivalenata adenilnih kiselina u strukturu ATP-a, a i odnese isto toliko. U isto vreme u nukleoproteide se ugradi 8 novih ekvivalenata mononukleotida adenilne kiseline, a u kofermente još dva. U svemu u dva kruga lančastog ciklusa obrazuje se i razgradi 23 ekvivalenta ugrađene adenilne kiseline. Očigledno je da slobodna adenilna kiselina, sa svega svoja 3 ekvivalenta obnavljanja ne može u dva kruga ovog ciklusa istovremeno snabdeti sve tri frakcije. Ona bi po svom ukupnom kapacitetu prenošenja mogla snabdeti jednu jedinu i to samo najmanju frakciju od njih, tj. kofermente (koji tokom dva kruga primaju svega 2 ekvivalenta fosfora). Međutim ako uporedimo kapacitete prenošenja ovih frakcija tokom prvih dva sata, vidimo da za to vreme kofermenti prime 1,25 mg, dok je za to vreme sposobna adenilna kiselina da otpusti samo 1,16 mg što znači da slobodna adenilna kiselina ne može biti snabdevač čak ni ove najmanje frakcije. Još je gora situacija u pogledu snabdevanja ATP-a i nukleoproteida. ATP obnovi tokom prvih dva sata oko 6 puta veću količinu vezane adenilne kiseline, nego što slobodna adenilna kiselina može otpustiti, o blizu pet puta više nego što se uopšte i stvori slobodne adenilne kiseline (prema našim ekvivalentima). Dakle adenilna kiselina nikako ne može biti korišćena kao sirovina za ugrađivanje u strukture ni jedne od pomenutih frakcija, mada ove u sebi inače sadrže vezanu adenilnu kiselinu. Prema količini otpuštanja ni kofermenti ni nukleoproteidi ne mogu biti snabdevači ATP-a sa potrebnom količinom vezane adenilne kiseline, jer obe ove komponente na kraju drugog sata, čak ni skupa, ne mogu osloboditi ni onu malu količinu koju u to vreme inače oslobodi sama adenilna kiselina. Prema tome ove



dve frakcije (čak i udružene) ne mogu u prva dva sata podmiriti ni šestinu količine koju u to vreme potroši ATP za sopstvenu sintezu.

Ako ovim argumentima dodamo još i podatke iz ranije opisanih kriterija, čini nam se da je sasvim nužan zaključak da kofermenti i nukleoproteidi svoje vezane adenilne kiseline mogu dobiti jedino iz neiskorišćenih viškova ekvivalenata ADP-a. Ovih 10 ADP-a mogli bi u principu takođe sadržati i skrivenu rezervu od 10 ekvivalenata labilnog fosfora za proširenu regeneraciju. Čini nam se da ipak prednost imaju oni labilni fosfati, koji se prilikom stvaranja fosfolipoida već zbog svog redovnog prenošenja vezuju za glukozu. Postoji i drugi razlog koji govori u prilog da se ovih 10 ekvivalenata labilnog fosfora troše na drugom mestu.

Videli smo da je posle prenošenja 12 ekvivalenata trećeg fosfora (labilnog) na frakciju fosfolipoida i jednog povratnim putem na šećere za regeneraciju ciklusa, preostalo još 13 ekvivalenata ADP-a od kojih su tri utrošena za proizvodnju slobodne adenilne kiseline, dok je 10 ekvivalenata ADP-a slobodno za dalje reakcije. Kako nukleoproteidi u dva kruga svog ciklusa prenošenja učestvuju sa 8 ekvivalenata, a kofermenti sa 2, vidimo da se time bez manjka i bez ostataka potroši sva količina adenilne kiseline iz frakcije ADP-a, pri čemu se kofermenti i nukleoproteidi potpuno snabdeju potrebnim količinama mononukleotida.

U vezi ovog prenošenja ostaje jedna na prvi pogled protivrečna činjenica. U 10 ekvivalenata ADP-a sadržano je 20 ekvivalenata fosfora, međutim u 8 ekvivalenata nukleoproteida i 2 ekvivalenta kofermenata biva ugrađeno samo 10 ekvivalenata adenilne kiseline sa 10 ekvivalenata fosfora, dok se 10 ekvivalenata labilnog fosfora iz ADP-a ne pojavljuje ni u jednoj reakciji. S obzirom da se u dva kruga (ciklusa) obnovi 13 ekvivalenata ADP-a, od kojih 3 biva pretvoreno u slobodnu adenilnu kiselinu, a 10 preneseno u dve završne frakcije, sve je u redu, izuzev ovih 10 ekvivalenata labilnog fosfora. Pošto je prenošenje prema svim kriterijumima inače ostvareno u jedino mogućem smeru, onda treba rešiti šta se desilo sa 10 ekvivalenata iščezlog fosfora?! Poznato je da se labilni fosfor može koristiti kako za prenošenje na nove organske komponente, tako i samo za transport energije. Pošto u ovom slučaju nije usledilo prenošenje labilnog fosfora u novu komponentu, jedino ostaje zaključak da je u nju preneto samo slobodna energija iz tih ekvivalenata labilnog fosfora. Analogna pojava već je poznata u Szent-György-evom lancu prenošenja energije sa šećera na sistem miozina u mišićima (19). Zato moramo pretpostaviti da je labilni fosfor iz ADP-a u samom aktu sinteze kofermentske i nukleoproteidske frakcije svoju energiju oslobodio za potrebe vezivanja mononukleotida u strukture tih frakcija. Pri tom se sam labilni fosfor morao degradirati na nivo slobodnog neorganskog fosfora. Ovo je drugi slučaj, u kome kvantitativni podaci o prenošenju fosfora kroz lanac organskih frakcija nagone na zaključak, da određeni broj fosfornih ekvivalenata biva vraćen nazad ka čeonom kraju lanca.

Kako se sve tri mononukleotidne frakcije (adenilna kiselina, kofermenti i nukleoproteididi) neprekidno obnavljaju, moraju primljeni fosfor dalje preneti (bilo u sastavu mononukleotida, ili kao sastojci

čitavih frakcija, napr. odilaženjem iz jetre — slično onome što je Hevesy ustanovio za fosfolipide). Najzad, postoji mogućnost da se fosfor oslobodi i u neorganskom stanju.

Na kraju poglavlja možemo rezimirati naše pretstave o reakcionom lancu kao jedinstvenom procesu metabolizma. On je u jetri pacova organizovan kao proces lančastog transporta fosfora preko frakcija raspoređenih u tri sukcesivna stadijuma. U prvom stadijumu transport ostvaruje grupa šećernih frakcija; u drugom stadijumu to čini ATP; u trećem (poslednjem) transport ide preko većeg broj heterogenih frakcija.

Sa stanovišta potrošnje, glukoza (zajedno sa intermedijernim proizvodima svog razlaganja) spada u potrošače I reda, jer može neposredno reagovati sa neorganskim fosforom i prenositi ga na ostale potrošače. Tu sposobnost (prema našim kriterijumima) nema ni jedna druga frakcija. Svoj fosfor glukoza ne može prenositi na sve potrošače neposredno. Direktno ga može predati samo labilnoj i stabilnoj frakciji ATP-a, koji je jedini sposoban da vrši ulogu potrošača II reda. Ostale frakcije čine heterogenu grupu potrošača III reda. Ovi su sposobni da se snabdevaju fosforom samo posredstvom labilne ili stabilne frakcije ATP-a (odnosno ADP-a), jer ne mogu reagovati niti sa neorganskim, ni sa šećernim fosforom. Naše analize nisu otkrile dalju sudbinu fosfora iz sastava potrošača III reda. Izuzetno je utvrđeno da se u svakom ciklusu lanca po dva ekvivalenta labilnog fosfora iz ATP-a (odnosno iz ADP-a) iz II stadijuma retrogradno vraćaju nazad u I stadijum, gde aktivišu novi molekul glukoze koja svojim razlaganjem pokreće 21 ekvivalent novih fosfora u lanac. Takođe je poznato da se 5 ekvivalenta labilnog fosfora u svakom ciklusu metabolizma lanca degradira u neorganski fosfor u trenutku, kada stabilni fosfor prelazi iz ADP-a u strukturu kofermenata ili nukleoproteida. O značaju vraćanja ekvivalenta labilnog fosfora iz II-gog u I-vi stadijum već je bilo ranije reči u ovom poglavlju. Na ovom mestu to je zanimljivo, jer pokazuje da glukoza uporedo vrši uloge u I i u III stadijumu transporta. U III stadijumu ona kao potrošač učestvuje svega sa 4 ekvivalenta, dok 38 ekvivalenta uzima iz neorganske matice. Da bi prenela oko 90% neorganskog fosfora u metabolični lanac, glukoza mora prethodno primiti 10% organski vezanog (labilnog) fosfora iz ATP-a (ili ADP-a), čime se aktivise za izvršenje svoje uloge.

Za stadijume prenošenja fosfora karakteristično je da su količine (ekvivalenti) transporta u sva tri stadijuma međusobno jednake (po 39 ekvivalenta u dva, ili po 19,5 ekvivalenta u jednom ciklusu obnavljanja). Izuzetak od tog ponašanja nalazimo u grupi šećernih frakcija, koja ukupno primi 42 ekvivalenta fosfora, dok u lanac unese svega 39. Ranije je već izneta pretpostavka da bi višak od tri ekvivalenta fosforog transporta mogao služiti funkciji regulacije krvnog šećera, ali izvan našeg lanca. Međutim u trećem poglavlju se pokazalo da bi višak mogao nastati na veštački način usled nedovoljno pouzdane osnove za izračunavanje količine transporta u grupi šećernih frakcija.

Karakteristično je da transportni stadijumi u pogledu koncentracija fosfora u svojim frakcijama ne pokazuju analogno ponašanje. Dok je zbir transportnih ekvivalenta frakcija jednog stadijuma ravan zbiru transportnih ekvivalenta ostalih stadijuma, dotle zbir koncentracija

frakcija progresivno raste od početnog do završnog stadijuma. Sve frakcije I stadijuma imaju ukupnu koncentraciju od 8,36 mg na g. jetre, taj zbir u II stadijumu iznosi 8,89 mg, a u III stadijumu 162,95 mg na 100 gr. sveže jetre. Prema tome uz jednake ekvivalente transporta u svim stadijumima, zbirna koncentracija fosfora u njima progresivno raste, da bi u završnom stadijumu oko 20 puta premašila koncentraciju prvog stadijuma. To znači da u odnosu na te dve funkcije, frakcije pojedinih stadijuma pokazuju sasvim različita ponašanja.

Zanimljivo je da kod odabiranja mesta za pojedine frakcije nismo mogli pretpostaviti da će transport pokazati stadijnu organizaciju, pogotovo, da će ona biti zasnovana na ekvivalenciji prenosa. Čak ni sama šema prenošenja nije otkrila tu činjenicu, jer pri rekonstrukciji to nam nije palo u oči. Tek kada je već bio završen celi tekst trećeg poglavlja ovog dela, uočili smo stadijnost transporta i njegovu ekvivalenciju po stadijumima. Zato je ovaj tekst naknadno ubačen u završni deo drugog poglavlja.

Pošto smo ustanovili stadijnost, pomislili smo da je to možda primarna odlika transporta, a da individualno mesto pojedine frakcije nije bitno. Pokušali smo da sumiranjem transporta načinimo i drugi raspored frakcija po stadijumima zadržavajući ekvivalenciju transporta. Pokazalo se da je to nemoguće. Jedino bi moglo doći u obzir da se u II stadijum na mesto frakcije stabilnog fosfora stave fosfolipoidi, jer među njima postoji minimalna razlika u količini transporta. Ali takav pokušaj dolazi u sukob sa sistemom kriterijuma, te se sasvim poremećuje skladnost rasporeda frakcija prema individualnim osobinama i ulogama u pogledu sposobnosti primanja i odavanja fosfora. Dakle stadijnost može zadovoljiti zahtev ekvivalencije jedino ako se najpre udovolji svima individualnim zahtevima kriterijuma svake pojedine frakcije. Iz toga sledi da je stadijnost samo odraz pravilnog rasporeda frakcija na ona mesta transportnog lanca, na kojim jedino mogu ostvariti svoju hemijsku (tj. metaboličnu) ulogu. Prema tome stadijnost i ekvivalencija na svoj način iznova potvrđuju ispravnost šeme reakcionog poretka metabolizma fosfora u jetri pacova.

### 3. Odnos između transportne i akumulacione funkcije u lančastom metabolizmu fosfora

U prethodnom poglavlju raspravljali smo o poretku prenošenja fosfora u jetri pacova posredstvom lanca organskih frakcija. Pri tom nismo raspravili odnos između količina fosfora u transportu i u koncentracijama frakcija, i značaj tih odnosa za sam poredak lanca.

Fosfor se u transportu može pojavljivati u tri razne modifikacije, koje su funkcionalno u čvrstom međusobnom odnosu. To su:

- 1) Proces ulaženja fosfora u sastav frakcije i uticaj na obrazovanje njene koncentracije.
- 2) Proces izlaženja fosfora iz frakcije zavisno od koncentracije.
- 3) Proces transporta (prenošenja) fosfora duž reakcionog lanca, bez izmena samih koncentracija frakcija.

Ova tri procesa najprisnije su povezana sa stacionarnim koncentracijama fosfora u frakcijama. Mada se ispoljava kao stacionarna veličina, koncentracija je u svojoj suštini takođe uključena u proces transporta te je moramo uvrstiti u isti red činjenica uporedo sa gornja tri procesa. Stoga i koncentraciju označujemo kao specifičnu formu transportne pojave.

#### 4) Obrazovanje, održavanje i rasturanje stacionarne koncentracije.

U II delu ove publikacije detaljno je opisano kako smo, upotrebom dveju analitičkih metoda (merenje radioaktivnosti fosfora i njegovo kvantitativno određivanje hemijskom analizom), a zatim koordinacijom rezultata tih dveju vrsta analiza došli do apsolutnih iznosa za pomenute transportne veličine. Prva tri procesa otkriveni su (i izračunate su njihove proporcionalne veličine) analizom unesenog veštačkog radiofosfora. Apsolutne veličine dobivene su naknadno primenom proporcije radioaktivnosti na koncentracije neaktivnog fosfora u frakcijama, koje su određene običnom hemijskom analizom. Primena podataka o porastu radioaktivnosti za izračunavanje apsolutnih vrednosti transporta omogućena je na osnovu jednakih proporcija između sadržaja radioaktivnog i običnog fosfora u frakcijama posle postignute ravnoteže radioaktivnosti u svim frakcijama (tj. posle 1845 minuta od davanja radiofosfora pacovima).

Brojčani podaci o apsolutnim veličinama mogu nam pokazati određene nove pravilnosti transporta, koje se inače ni iz ranijih tablica za reakcione konstante, niti iz šeme prenošenja, direktno ne mogu uočiti. Zato smo apsolutne podatke za gorepomenuta četiri procesa prikupili u zajedničku tablicu, prikazavši neke u tri, a neke, šta više, i u četiri tipa međusobnih relacija. U tablici br. 2 ta četiri tipa prikazivanja iznesena su pod četiri posebne glave. Pod glavom B svi su podaci dati kao apsolutne vrednosti. Pod glavom C neorganska frakcija je uzeta kao 100%, dok su organske iskazane u procentima neorganske frakcije. U glavi D svi su transporti upoređeni sa stacionarnom koncentracijom sopstvene frakcije, koja je za svaku frakciju označena kao 100%. U glavi pod E, zasebno su sabrane sve transportne veličine, a posebno su sumirane i sve koncentracije. Ovdje je zbirna veličina transporta svih frakcije uzeta kao 100% za upoređenje posebnog transporta svake frakcije sa transportom celog lanca (upoređuje se udeo frakcije u odnosu na transport lanca). Slično se upoređuje udeo frakcije u raspodeli koncentracije, u odnosu na ukupnu koncentraciju fosfora iz svih frakcija jetre (vidi kolonu 14 i 15 glave E u tablici br. 2).

Najpre ćemo analizovati glavu B, u kojoj se nalaze posebne kolone za sve četiri vrste transportnih procesa (ulaženje fosfora u frakciju, izlaženje iz nje tokom prva dva sata, transport preko frakcije u toku obnavljanja lanca, tj. tokom 1845 minuta, i kolona za stacionarne koncentracije frakcija). Sve veličine u ovoj glavi označuju apsolutne iznose frakcija. Već na prvi pogled uočljivi su određeni odnosi među veličinama u raznim kolonama za istu frakciju. Vidi se da gornje četiri frakcije (neorganska, šećerna, labilna i stabilna frakcija iz ATP-a) u koloni za ulaženje fosfora imaju (kolona 2) identične cifre sa veličinama svoje frakcije u koloni izlaženja fosfora iz frakcije (kolona 3). Naprotiv cifre u četiri donje frakcije (adenilna kiselina, kofermenti, nukleoproteidi i



fosfolipoidi) kolona za ulaženje fosfora (u periodu posle 2 h — kolona 2) ima znatno veće količine, od kolone za izlaženje fosfora (kolona 3). Različito ponašanje gornjih i donjih frakcija tabele potiče otuda što su gornje četiri frakcije već posle 2 h postigle ravnotežu prenošenja fosfora, dok to u donjima nije slučaj. Kolone 4 i 5 ove glave popunjene su podacima iz kasnijeg transportnog perioda, u kome su i sve frakcije iz donje polovine tabele već dospjele u stanje ravnoteže (posle 1845 minuta).

Ako apsolutne cifre transporta iz perioda jednog ciklusa (kolona 4) uporedimo sa apsolutnim ciframa koncentracija (kolona 5), odmah nam pada u oči da je cifra transporta u svim frakcijama znatno veća od cifre koncentracije, izuzev u frakciji nukleoproteida. Te dve cifre u nukleoproteidima međusobno su jednake za transportni period tokom vremena od 1845 minuta. Transport u frakciji fosfolipoida za isto vreme nadmašio je koncentraciju za svega 35%. Kolona 12 sastavljena je iz cifara koje pokazuju koliko puta transportna količina u ovom periodu (tj. u vremenu potrebnom da se izvrši jedan celi ciklus obnavljanja fosfora duž celog lanca) nadmašuje veličinu koncentracije u frakciji. Vidi se da najveći transport u odnosu na sopstvenu koncentraciju ima neorganska frakcija (73,3 puta se transportuje više nego što iznosi koncentracija). Najmanji transport u odnosu na sopstvenu koncentraciju pokazuju nukleoproteidi. Njihov transport u poređenju sa drugim frakcijama nije doduše najmanji u apsolutnom merilu, jer napr. adenilna kiselina i kofermenti izvršuju manji apsolutni transport od nukleoproteida. Međutim u odnosu na sopstvene koncentracije tih dveju frakcija vidimo da transport u adenilnoj kiselini premašuje sopstvenu koncentraciju za 10,8 puta, dok je proporcija transporta prema koncentraciji u kofermentima 8,3 : 1.

Sasvim drugačije izgledaju cifre u kolonama glave C. Ovde su veličine za neorgansku frakciju (kolona 6—9) uzete kao 100%, a ostale frakcije su preračunate prema toj osnovi. Time se omogućuje uvid u to koliki deo neorganskog transporta prelazi u organski transport, odnosno koliki deo ostaje u koncentraciji neke frakcije u poređenju sa neorganskom koncentracijom. Odmah vidimo da najveći procenat u odnosu na neorganski fosfor prima i transportuje grupa šećera, a najmanje kofermenti, ako kolonu ulaženja fosfora u frakcije posmatramo za prva dva sata. Ako uporedimo veličinu izlaženja fosfora za isto vreme, videćemo da je procenat izlaženja najmanji u nukleoproteidima, dok je istovremeno u frakcijama fosfolipoida i kofermenata izlaženje u tom periodu dva puta veće. Procenti iz kolona 6, 7 i 8 potvrđuju našu tezu da se kod postignute ravnoteže transporta (posle 1845 minuta ravnoteža celog lanca ostvarena), proporcija ulaženja izjednačuje ne samo sa proporcijama izlaženja, već i sa srazmerom prenošenja duž celog lanca, jer su već posle 2 h cifre procenata u gornjim frakcijama glave C izjednačene u kolonama 6 (ulaženja), 7 (izlaženja) i 8 (transporta duž lanca). U donjim frakcijama ove glave ulaženja nadmašuju izlaženje fosfora i u procentnim razmerama. Međutim neočekivan je nalaz da su procenti ulaženja već posle 2 h (ako se upoređuju u procentnoj razmeri — znači proporcionalno) izjednačeni sa procentima transporta posle 1845 minuta. Dok se u glavi B odmah vidi da ulaženje nadmašuje izlaženje, tamo nije evidentno da je proporcija ulaženja u frakcije tokom

2 h identična sa proporcijom transporta tokom 1845 minuta, što postaje evidentno tek pri procentnom upoređivanju. Možda bi se moglo zaključiti da ulaženje odmah služi transportu. To je u jednu ruku tačno, jer ćeone frakcije već vrlo rano otpuštaju velike količine primljenog fosfora, čak i pre nego što je postignuta definitivna ravnoteža. Međutim ako svaku frakciju posmatramo posebno, možemo uočiti da njeno učešće u transportu dostiže punu meru tek kada se izlaženje izjednači sa ulaženjem, tj. kada nastane ravnoteža transporta. Do toga vremena ulaženje se koristi najvećim delom za popunjavanje koncentracije frakcije, a ne direktno za dalji transport. Tek kada koncentracija dostigne onu veličinu koja joj je neophodna da zajedno sa specifičnom brzinom razlaganja frakcije poveća apsolutno izlaženje do visine ulaženja, onda će ulaženje biti potpuno u službi transporta, jer je koncentracija već formirana, te se više ne javlja kao potrošač ulaznog transporta. Šta više moglo bi se pretpostaviti da bi u slučaju sekundarnog smanjenja ulaza, izlaz u početku morao ostati veći, što bi nužno dovelo do pada koncentracije na nivo koji pokreće izlaz u tolikoj meri da bude ravan ulazu.

Očigledno je da je koncentraciju frakcije nemoguće odvojiti od njenog učešća u transportu. Zato će biti korisno da uporedimo međusobni odnos transporta i koncentracije neorganske frakcije (kao liferanta materijala za oba procesa) sa veličinom transportne, odnosno koncentracione uloge drugih frakcija. Ti su odnosi iskazani u kolonama 8 i 9 glave C u tablici br. 2. Odmah se vidi da šećerna grupa učestvuje u transportu fosfora oko pet puta manje od neorganske, dok ostale frakcije sudeluju još znatno manje. Nukleoproteididi učestvuju u transportu sa svega 3,9% u poredenju sa neorganskim transportom, dok fosfolipoidi sudeluju sa 6,12% transporta. Najmanji transport u odnosu na neorgansku frakciju pokazuju kofermenti i adenilna kiselina. Sasvim je druga slika kod učešća frakcije u stvaranju svojih koncentracija. U tablici je neposredno evidentno napr. da je u svim frakcijama proporcija svoje koncentracije prema koncentraciji neorganske frakcije veća od proporcije njihovog transporta prema neorganskom transportu. Tako napr. šećerna grupa (u poredenju sa neorganskim) učestvuje u transportu samo sa 21%, dok u koncentraciji učestvuje sa 32,55%. Ili napr. učešće frakcije nukleoproteida u formiranju svoje koncentracije u odnosu na neorgansku frakciju iznosi 285,2%, dotle njeno učešće u transportu iznosi svega 3,9%. Maksimalno formiranje koncentracije nalazi se u grupi fosfolipoida, kod kojih ta veličina iznosi 330,5 u odnosu na neorgansku frakciju, dok istovremeno ova frakcija učestvuje u transportu sa svega 6,12%. Učešće frakcija u formiranju koncentracija (u poredenju sa tom funkcijom u neorganskoj frakciji), iz sopstvenog transporta progresivno raste od čela do repa lanca (ako se formiranje koncentracije u neorganskoj frakciji prema sopstvenom transportu označi kao 100:100).

Odnos između koncentracije i transporta može se prikazati i iz perspektive celog lanca, što ima određene prednosti od prethodnog načina. Prethodni način je osobito pogodan za upoređivanje tih veličina tokom razvijanja procesa transporta od prvog minuta do stadijuma ravnoteže. Drugi način je moguć jedino posle ravnoteže proticanja. Međutim pošto je kod prvog metoda upoređivanja neophodno neorgansku frakciju za svaki proces svesti na jednaku polaznu tačku, onda se apsolutne veličine različite procese neorganske frakcije uvek izravnavaju

na 100%, tj. uzimaju se izjednačene mada su stvarno veoma različite. Ako se želi uporediti ravnotežni lanac u ranom stadijumu transporta, onda je to jedino upotrebljivi sistem. Međutim, ako se želi uporediti koncentracija sa transportom u kasnim stadijumima, tj. u ravnotežnom lancu, tada je korisnije sabrati transporte svih frakcija u zajedničku veličinu transporta celog lanca, a zatim transporte pojedinih frakcija preračunate u procenete prema zbirnom transportu lanca (koji se uzima kao 100%). U tom slučaju se prema jednakoj osnovi upoređuju organske sa neorganskom frakcijom. Takve proporcije date su u glavi E tablice 2. Vidi se da od ukupnog transporta u lancu na neorgansku frakciju otpada 66,3%, na šećere 13,8% itd. Najmanji transport imaju kofermenti i adenilna kiselina. Ako uporedimo raspodelu ukupne koncentracije lanca (totalnog fosfora jetre) na pojedine frakcije, vidimo da najveće učešće nema frakcija sa najvišim transportom, već fosfolipoidi, a odmah za njima nukleoproteidi, koji inače u transportu lanca vema slabo učestvuju (4,02% i 2,56%).

Prema formuli za izračunavanje koncentracije pomoću reakcionih konstanti (utvrđenih iz proporcionalnih veličina radioaktivnosti frakcija u sukcesivnim periodima), vidi se da je koncentracija svake frakcije proporcionalna umnošku kvadrata apsolutne količine prenošenja fosfora u jedinici vremena (2 h) sa količinom  $K^S/K^R$ , (Pogledaj tablicu br. 4, II dela, kolona 5). Iz formule izlazi da bi koncentracije frakcija bile proporcionalne samo njihovom razlomku  $K^S/K^R$ , ako bi sve frakcije imale istu apsolutnu veličinu transporta. U tom bi slučaju neorganska frakcija imala najmanju koncentraciju, jer je njen razlomak  $K^S/K^R$ , najmanji. U stvari koncentracija neorganske frakcije ipak je veća od svih organskih iz acidsolubilne grupe frakcija, jer neorganska frakcija ima neuporedivo veći transport. Nukleoproteidi bi morali imati 1840 puta veću koncentraciju, pošto je njihov količnik specifičnih brzina za toliko puta veći nego u neorganskoj frakciji. U stvarnosti pak koncentracija nukleoproteida svega za 2,85 puta premašuje koncentraciju neorganske frakcije. Ovako mala razlika između koncentracija ovih dveju frakcija, nastala je usled toga što je transport fosfora u neorganskoj frakciji oko 26,3 puta veći od transporta u nukleoproteidima. Kako je koncentracija proporcionalna ne jednostavnogm apsolutnom transportu, već kvadratu transporta, jasno je da transport deluje na formiranje koncentracije u neorganskoj frakciji oko 660 puta intenzivnije nego u nukleoproteidima. Zanimljivo je uporediti veličinu koncentracije frakcije stabilnog fosfora iz ATP-a sa koncentracijom u fosfolipoidima, pošto su im apsolutni transporti skoro identični (u stabilnoj frakciji veći je transport svega za 1,035 puta od onoga u fosfolipoidima). To nam pruža zgodnu priliku da proverimo gornje postavke. Ako se koncentracija fosfora u stabilnoj frakciji ATP-a ili u fosfolipoidima iskoriguje da odgovara razlici kvadrata transporta, tada bi te dve koncentracije morale biti proporcionalne razlomcima svojih specifičnih brzina (sinteze i razlaganja). Kako je kvadrat transporta stabilne frakcije veći od kvadrata transporta u frakciji fosfolipoida za 1,072 puta, mora se ili koncentracija fosfolipoida pomnožiti, ili stabilna frakcija podeliti sa tom cifrom. Ako pomnožimo

koncentraciju fosfolipoida (85) sa tim brojem, dobićemo  $= 85 \times 1,072 = 91,2$ . Dakle proporcija koncentracije biće:  $91,2 : 3,36 = 27,15$ , dok će proporcija razlomaka  $K^S/K^R$ , iznositi:  $1,53 : 0,0554 = 27,6$ . Vidimo dakle da i ova kontrola pokazuje dobro slaganje između koncentracije i razlomaka specifičnih brzina (pod uslovima jednakih transporta dveju frakcija), što znači da je jednačina za koncentraciju ( $C = K^S/K^R \cdot Ap^2$ ) još jednom položila ispit sa uspehom.

Iz formule za koncentraciju izlazi takode i jedan drugi direktni zaključak, da se koncentracije dveju posebnih frakcija moraju odnositi jedna prema drugoj u proporciji kvadrata njihovih apsolutnih količina transporta, u koliko im se izjednače specifične brzine sinteza i razlaganja (odnosno ako im se izjednače razlomci  $K^S/K^R$  bez izjednačenja samih specifičnih brzina). U krajnjoj liniji to bi moralo značiti da pod tim uslovima eksperimentalno izmerene koncentracije frakcija nužno moraju biti proporcionalne samo kvadratima svojih eksperimentalno utvrđenih transporta.

I za ovo upoređenje veoma su zanimljivi fosfolipoidi, jer imaju proporciju između specifične brzine sinteze i specifične brzine razlaganja skoro istovetnu sa proporcijom tih brzina u frakciji kofermenata  $K^S/K^R$ . Nažalost naši su nam eksperimenti ovakvu komparaciju omogućili samo za te dve frakcije.

U kofermentima razlomak  $K^S/K^R$  iznosi  $= 1,493$ , dok je u frakciji fosfolipoida ove proporcija ravna  $= 1,53$ , tj. samo za 2,5% veća nego u kofermentima. Kako je ekvivalent transporta u fosfolipoidima oko 6 puta veći nego u kofermentima, morala bi i njihova koncentracija biti veća od one u kofermentima za  $6^2 = 36$ . Dakle ako koncentraciju fosfolipoida (85) podelimo sa koncentracijom kofermenata (2,33), dobićemo:  $85,5 : 2,33 = 36,5$ . Prema tome rezultati se veoma dobro podudaraju, jer koncentracija ovih dveju frakcija (zasebno izmerene hemijskom analizom), stoje u istoj međusobnoj proporciji u kojoj se nalaze kvadrati njihovih (odvojeno ustanovljenih) transporta. Namesto ovih približnih vrednosti za koncentracije i transporte, u tablici br. 3, kolone 6 i 7 se nalaze sasvim tačne cifre, i tamo se vidi sasvim dobro podudaranje između proporcija koncentracija i kvadrata transporta ovih dviju frakcija sa skoro jednakim razlomcima za  $K^S/K^R$ .

Oba poslednja računa nesumnjivo su potvrdila da su naše eksperimentalne osnove za specifične brzine sinteza i razlaganja, kao i jednačine za njihova izračunavanja tačne. Na međufrakcijskom planu dokazana je i tačnost jednačine za izračunavanje koncentracija iz količina transporta, veličina specifičnih brzina sinteza i razlaganja. Pošto zasada ne vidimo drugu vezu između frakcija izuzev transporta fosfora, čini nam se da smo dužni zaključiti da podudarnost biva ostvarena na međufrakcijskom planu baš putem transporta. Da jednačina za koncentraciju važi na planu jedne iste frakcije, mislimo da smo dokazali već u II delu ove publikacije (vidi tablicu br. 4 kolona 4 saopštenja pod 18).

Možda bi se moglo pomisliti da ova dva upoređenja čine izuzetak u našim eksperimentalnim nalazima, usled toga što je priroda samih

frakcija ponudila mogućnost upoređivanja, dok se u ostalim frakcijama slične podudarnosti ne bi mogle pokazati. Mada nam priroda nije bila naklonjena u pogledu pogodnosti za upoređivanja proporcija između transporata i koncentracija na bazi jednakosti razlomaka  $K^S/K^R$  smatramo da bi ipak bilo važno proveriti na svim frakcijama ispravnost naših formula, i verodostojnost naših analiza. Ako nam priroda frakcija nije pružila mogućnost neposrednog upoređivanja tih odnosa, to nam omogućuje matematika: računskim putem moguće je međusobno izjednačiti razlomke  $K^S/K^R$  svih frakcija, a koncentracije korigovati u odgovarajućim proporcijama. U tom slučaju korigovane vrednosti za koncentracije frakcija morale bi takođe biti ravne kvadratima svojih transporata.

Kako smo u prvom poglavlju ovog rada za izračunavanje ekvivalenata transporta već upotrebili transport kofermenata, smatrali smo za pogodno da njihov razlomak  $K^S/K^R$  iskoristimo kao bazu na kojoj će se izjednačiti razlomci svih frakcija. U tu svrhu smo razlomke specifičnih  $K^S/K^R$  pojedinih frakcija podelili sa tim razlomkom za kofermente (1,493). Sa dobivenim brojem za jednu frakciju podeljena je vrednost njene koncentracije, jer je ta vrednost u jetri formirana na bazi postojećeg transporta i postojećeg razlomka te frakcije. U uslovima drugog razlomka za  $K^S/K^R$  isti transport frakcije formirao bi sasvim drugu koncentraciju, saglasno novom razlomku. Izračunate (korigovane) koncentracije frakcija realno bi morale postojati pod uslovima izjednačenih razlomaka  $K^S/K^R$ . Veličine faktora za korekturu razlomaka  $K^S/K^R$  i koncentracija frakcija ispisane su pod kolonom 3 tablice br. 3. Radi upoređenja date su paralelno stvarne i korigovane koncentracije frakcija (vidi kolone 4 i 5 tablice br. 3). Da bi i koncentracije mogle biti iskazane u ekvivalentima na istoj osnovi na kojoj i transporti, korigovane vrednosti za koncentracije svih frakcija podeljene su sa vrednošću koncentracije za kofermente, koja je uzeta kao jedinica (tj. podeljena je sama sa sobom). U koloni 6 tablice br. 3 ispisane su ove ekvivalentne veličine za koncentracije frakcija. To omogućuje da koncentracije frakcija budu upoređene sa kvadratima ekvivalenata svojih (apsolutnih) transporata za period obnavljanja jednog ciklusa celog lanca fosfornog metabolizma u jetri pacova (tj. za period od 1845 minuta). Sami kvadrati ekvivalenata apsolutnih transporata frakcija izneti su u koloni 7 iste tablice, neposredno uz vrednosti ekvivalenata i korigovanih koncentracija. U kolonu 8 prenete su originalne veličine ekvivalenata apsolutnih transporata (iz tablice br. 1, kolona 7) izračunatih za ciklus obnavljanja celoga lanca.

Prethodni proračuni izvedeni su u svrhu upoređivanja na principu ekvivalenata celog lanca, pri čemu je kao osnova uzeta frakcija kofermenata, odnosno njihov transport i njihov razlomak  $K^S/K^R$ . Pored prednosti za upoređenje koncentracija sa kvadratima transporata na

Tablica br. 3

Naziv frakcije	Vrednosti K <sup>s</sup> /K <sup>R</sup>		Apsolutne veličine koncentracija		Ekvivalentne veličine transporta		K <sup>s</sup> /K <sup>R</sup> = 1		Formiranje koncentracije u transportnom lancu		
	Orig- nalna vrednost	Faktor za ko- rekciju koncen- tracije na osnovu izjedna- ženih K <sup>s</sup> /K <sup>R</sup> na vrednost = 1,493	Orig- nalna aps- olutna vrednost	Korigo- vana vrednost pomoću faktora za izje- dnačenje K <sup>s</sup> /K <sup>R</sup> na nivo = 1,493	Ekviva- lentni aps- olutni koncen- tracija iz: Korigo- vana koncen- tracija Kong. kofe- menata	Ap <sup>1</sup>	Ap	$1 \times A^2 = C$	$V = \frac{1}{A^2}$	Učestoće kolititika K <sup>s</sup> /K <sup>R</sup> u %	Učestoće kvadrata trans- porta (Ap <sup>2</sup> ) u %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Neorganski P	0,00176	0,001170	25,69	21,600,—	9,390,—	0,400,—	38,—	14,600,—	122,0	0,0067	99,9933
P iz grupe sekura	0,0131	0,00878	0,36	034,—	363,—	420,—	20,5	658,—	25,65	0,152	99,848
Labilni P iz ATP-a	0,0212	0,01427	5,93	393,—	163,5	154,—	12,4	256,5	16,—	0,34	99,66
Stabilni P iz ATP-a	0,0554	0,0371	3,36	90,5	38,7	37,7	6,17	60,6	7,79	1,85	98,15
P iz adenilne kiseljine	0,875	0,585	2,32	3,95	1,70	1,72	1,31	2,65	1,628	12,4	87,60
P iz kofemenata	1,493	1,—	2,33	2,33	1,—	1,—	1,—	1,56	1,25	33,1	66,9
P iz nukleoproteida	3,16	2,11	73,3	34,7	14,87	14,45	3,8	23,25	4,82	68,3	31,7
P iz fosfolipida	1,53	1,025	85,—	93,—	35,6	35,4	5,96	53,6	7,46	34,8	65,2

osnovi obnavljanja celog lanca, ovaj postupak ima jednu nezgodnu stranu, što razlomak  $K^S/K^R$  u kofermentima nema vrednost jedinice, već je ravan = 1,493. Na nesreću ni jedna druga frakcija nema vrednost ravnu tačno jedinici. Najbliža vrednost jedinici za  $K^S/K^R$  nalazi se u frakciji adenilne kiseline, gde iznosi = 0,8767, (znači da je za oko 12% manja od jedinice). Prema tome moraćemo preračunati sve razlomke  $K^S/K^R$  bez oslonca na realnu vrednost neke od frakcija. To ćemo nabrže ostvariti ako veličine korigovanih koncentracija iz kolone 5 tablice br. 3 podelimo sa vrednošću razlomka  $K^S/K^R$  koji nam je poslužio kao osnova za ekvivalenciju, tj. sa 1,493 (iz frakcije kofermenata). Ovako preračunate vrednosti za koncentracije frakcija unete su u kolonu 9 tablice br. 3. One imaju tu odliku u odnosu na cifre iz kolona 5 i 6 da su zasnovane ne samo na izjednačenim vrednostima proporcija između specifičnih brzina sinteza i specifičnih brzina razlaganja, već su ti razlomci istovremeno svi ravni jedinici. To znači da se upoređenje vrši na pretpostavci da je u svakoj frakciji specifična brzina sinteze izravnata sa specifičnom brzinom razlaganja. U tom slučaju jednačina za koncentraciju postaje sasvim uprošćena, jer vrednost  $K^S/K^R = 1$  automatski ispada, te ostaje da je koncentracija ravna samom kvadratu transporta, tj.  $C = Ap^2 \cdot 1$ .

U koloni 10 ispisane su vrednosti kvadratnih korenova izvučenih iz cifara kolone 9 tablice br. 3. Ni ove koncentracije nisu mogle biti ustanovljene u organizmu, jer su preračunate za pretpostavku jednakosti specifičnih brzina sinteza i razlaganja unutar svake frakcije, što u organizmu nije ostvareno baš ni za jednu frakciju.

Kolona 9 pružila nam je mogućnost jedne nove analize sasvim očiglednih odnosa. Naime u toj koloni koncentracije se formiraju tako da sinteza i razlaganje deluju sa jedinicom, dok kvadrat transporta sa odgovarajućom vrednošću za svaku frakciju. To omogućuje izračunavanje procentnog učešća tih dveju veličina u formiranju koncentracije pojedine frakcije. Procenat učešća sinteze i razlaganja (odnosno njihovog razlomka  $K^S/K^R$ ) iznet je u koloni 11, a procenat učešća kvadrata transporta u koloni 12 tablice br. 3.

Bili smo vrlo prijatno iznenađeni kada smo ustanovili da su korigovane koncentracije (kako one koje su izračunate na jednakosti razlomaka  $K^S/K^R$  sa = 1,493, tako i one koje imaju kao osnovu jednakost toga razlomka sa jedinicom — vidi kolone 5 i 6 i kolonu 9 tablice br. 3) većine frakcija skoro identične sa kvadratima sopstvenih transporta. Ova činjenica nije zavisna od nivoa izjednačenja razlomaka  $K^S/K^R$  pa prema tome važi i za stvarno postojeće vrednosti za specifične brzine sinteza i razlaganja. Sistem ovog načina iskazivanja ima prednost što gornje relacije čini sasvim očiglednim.

Zanimljivo je da smo najveći stepen podudarnosti između veličina korigovanih koncentracija i kvadrata transporta ustanovili u onim frakcijama čije smo veličine transporta i koncentracija sami ustanovili uporednim analizama, dok u frakcijama za koje smo transporte izračunavali iz tuđih eksperimenata odstupanja su veća, a u grupi šećera

čak postoji upadljivo neslaganja između koncentracije i kvadrata transporta (izračunatog pomoću modifikovane jednačine Guldberg-Wage-ovog zakona iz aproksimativno procenjene koncentracije šećera u jetri pacova). Izuzetno od ovih slučajeva u neorganskoj frakciji podudaranje između analizovane koncentracije i izračunatog transporta (iz tuđih analiza) je idealno. Odstupanja u grupi šećera pokazuju da naša procena koncentracije šećera u jetri nije bila sasvim tačna, a ni izračunavanje pomoću adaptiranih Guldberg-Waage-ovih jednačina nismo imali prilike da proverimo merenjem radioaktivnosti u periodu porasta. Čini nam se da ipak možemo biti zadovoljni što odstupanja ne premašuju iznos od 11,57% kod upotrebe tako zaobilaznog puta i nedovoljno pouzdane osnove za izračunavanje transporta. Previsok nivo transporta pokazao se već kod pokušaja rekonstrukcije reakcionog poretka. Tada smo smatrali da to potiče od upotrebe fosfora iz šećera možda za procese izvan lanca (napr. za sintezu ili razlaganje glikogena u funkciji regulacije krvnog šećera). Karakteristično je za tablicu br. 3 da koncentracije upoređuje sa transportima na osnovu lančastog procesa, ne obuhvatajući i ona vezivanja fosfora za grupu šećera koja ne prelaze u lanac. Da i u toj činjenici može biti razlog neslaganja između veličine koncentracije fosfora i njegovog transporta u grupi šećernih frakcija, pokazuje i sledeći podatak. Naime neslaganje od 11,57% smanjuje se na svega 5%, ako za upoređenje ne koristimo sav transport fosforne šećerne grupe, već samo onaj deo koji faktički biva primljen od sledećih frakcija našeg lanca. Kako su labilna i stabilna frakcija ATP-a jedini neposredni primaoci fosfora iz grupe šećera, onda zbir njihovih ekvivalenata ( $13 + 6,5 = 19,5$ ) mora predstavljati količinu koju šećeri faktički unose u lanac. Pošto je  $19,5^2 = 380$ , a korigovana koncentracija za šećere u koloni 6 iznosi  $= 363$ , vidimo da neslaganje neznatno premašuje odstupanja u frakciji stabilnog fosfora (2,6%), odnosno da je čak manje nego u frakciji labilnog fosfora iz ATP-a (6,5%), za koji smo transport izračunali iz vremena obnavljanja utvrđenog od strane Rappoport-a. Prema tome možemo u celini uzeti da se i transporti, za čije smo izračunavanje upotrebili izvore iz radova drugih autora, dobro podudaraju sa vrednostima za korigovane koncentracije, čije smo originalne (nekorigovane) iznose ustanovili u našim sopstvenim analizama pomoću dveju tehnika (kolorimetrijskom za obični i merenjem radioaktivnosti u periodu zasićenosti frakcija radiofosforom).

Ne želimo isključiti ni mogućnost pogreške pri kalkulaciji transporta za grupu šećera. Međutim smatramo da i u granicama ustanovljenih nepodudarnosti nećemo pogrešiti ako zaključimo, da su poklapanja (uprkos svim neslaganjima) još uvek ipak tako upadljiva da potvrđuju kako teorijsku vrednost naših jednačina (koje smo primenili iz jedne naše ranije publikacije — odnosno iz II dela ove publikacije — (vidi navod literature br. 14), tako i analitičku pouzdanost podataka za koncentraciju, odnosno za transport, (čak i u slučajevima gde smo koristili tude nalaze za izračunavanje veličine transporta).

Možda bi na ovom mestu trebalo raspraviti jedan specijalni problem. Postavlja se pitanje da li podudaranje cifara u našim računima ne proizlazi iz primenjenog računskog sistema, odnosno iz upotrebljenih jednačina, koje sopstvenom procedurom stvaraju prividni krug

uzročnosti? To bi moglo već samo po sebi — automatski — dovoditi do podudaranja izračunatih vrednosti! Proanalaziraćemo malo odnose i računski metod.

Svi izvorni podaci za izračunavanje reakcionih konstanti dobiveni su posebnim merenjima za svaku frakciju i svaku vrstu činjenica. Koncentracije su ustanovljene kolorimetrijom i merenjem radioaktivnosti u periodu ravnoteže radioaktivnosti (tj. posle 48 h). Transporti za četiri frakcije ustanovljeni su iz porasta radioaktivnosti (u periodu njenog uspona — dakle pre nego što je došlo do ravnoteže). Za tri frakcije vremena obnavljanja upotrebljena su iz literature. Za grupu šećera transport je izračunat na sasvim treći način, što je sve opisano u II delu ove publikacije. Koncentracije fosfora uopšte nisu sporne, jer je u I delu pokazano da se kolorimetrijske analize podudaraju sa radioaktivnim, kada se uporede na procentnoj bazi, a obe vrednosti se podudaraju sa nalazima J. Sachs-a, ako se organske frakcije upoređuju na bazi ekvivalentnosti fosfora iz šećerne grupe frakcija.

Za izračunavanje veličine transporta koristili smo tri posebno izmerene veličine: 1) stepen početnog zasićavanja radioaktivnosti frakcije u jedinici vremena; 2) punu zasićenost radioaktivnosti u periodu ravnoteže; 3) vreme zasićavanja radioaktivnosti do punog iznosa. Iz naših analiza izlazi da su ove tri veličine funkcionalno vezane i međusobno uslovljene, u slučaju da se transport u jedinici vremena ne menja. Jednačina njihove uslovljenosti glasi:

$$1) \quad T_0 \cdot O = C$$

pri čemu simboli znače sledeće vrednosti:

$T_0$  = vreme zasićavanja (odnosno obnavljanja) radiofosfora.

$O$  = procenat porasta radioaktivnosti (stepen zasićavanja) u jedinici vremena.

$C$  = puna zasićenost radioaktivnosti, koja je proporcionalna veličini koncentracije običnog fosfora za pojedinu frakciju. »Puna zasićenost« radioaktivnosti za radiofosfor ima vrednost analognu sa »koncentracijom« za obični fosfor.

Računsko »kruženje« veličina unutar ove jednačine uslovljeno je samim materijalnim procesima tokom određenog vremena, pošto su za svaku frakciju tri vrednosti iz ove jednačine funkcionalno vezane među sobom u čvrst proces. Ako se ma koja izmeni, nužno se u proporciji jednačine moraju izmeniti i one druge dve veličine. Mislimo da je slučaj izračunavanja transporta za grupu šećera pomoću zakona o delovanju aktivnih masa (naša modifikovana jednačina) veoma instruktivan, jer potvrđuje da su transporti (vrednosti za 0) izračunati iz radioaktivnosti, podudarni sa transportom šećera, mada je izračunat sasvim drugom procedurom. S obzirom na problematiku koju određujemo, koncentracija fosfora i njegov transport u svakoj frakciji su polazne eksperimentalne činjenice iz kojih su izvedeni svi obračuni ostalih reakcionarnih konstanti, koje se neposredno ne mogu ustanoviti putem eksperimenata, već se moraju izračunati pomoću jednačina.

Same jednačine za specifičnu brzinu sinteze i za specifičnu brzinu razlaganja, kao i formula za izračunavanje koncentracija iz porasta radioaktivnosti, izvedene su iz tih dveju eksperimentalnih činjenica upotrebom Guldberg-Waage-ovog zakona o delovanju aktivnih masa za izražavanje ravnoteže proticanja fosfora preko lančastih reakcionih nizova irever-

zibilnog metabolizma (14). Jednačine prikazuju odnose između transporta na ulaznom procesu koji obezbeđuje sintezu frakcije i koncentracije kao određujućeg faktora za razlaganje, čime se obezbeđuje produženje transporta, posredstvom same frakcije. Ova četiri procesa čine neraskidivi sukcesivni niz koji se neprekidno iznova formira, a ujedno i stalno rastura koncentraciju frakcije u njen transport, te su uvek u uzročnoj, odnosno funkcionalnoj povezanosti i kvantitativnoj proporcionalnosti (dok se proces nalazi u ravnoteži). U ravnoteži jednačine slikaju konstantni odnos između ovih veličina, te odražavaju na računskom planu »kruženje« u tolikoj meri u kojoj je ono prisutno u samom procesu frakcije, odnosno u međufrakcijskim korelacijama.

Dok bi se možda za pojedine procese u jednoj jedinoj frakciji moglo i pomišljati na mogućnost »kruženja«, jer se u jednačini povezuju posebni procesi iste frakcije, dotle takva mogućnost za međufrakcijske odnose a priori otpada, jer u jednačinama nikada nisu obuhvaćeni nikakvi podaci (tj. eksperimentalne činjenice) iz drugih frakcija, već samo iz sopstvene. U koliko postoje podudaranja između koncentracija i transporta raznih frakcija, one su uvek zasnovane na upoređivanju posebno utvrđenih činjenica putem odvojenih eksperimenata! To je znači uvek izvan dometa naših jednačina i nezavisno od njih, prema tome i od računskog kruženja, ako bi bilo uslovljeno jednačinama!

Jednačina za koncentraciju ukazuje da se na osnovu transporta, pod pogodnim uslovima, mogu upoređivati i veličine koncentracija raznih frakcija, uprkos činjenici da su i transporti i koncentracije izmereni putem posebnih i odvojenih analitičkih postupaka. Ako jednačina pretpostavi da veličine koncentracije i transporta za jednu frakciju imaju određenu proporciju prema tim veličinama u drugoj frakciji, onda računsko »kruženje« ostaje nemoćno. U lančastom sistemu vezu među frakcijama ostvaruje transport. Kako je za svaku frakciju veličina njenog transporta ustanovljena iz posebnih merenja radioaktivnosti (u periodu porasta) u njoj samoj, a za šećere čak i sasvim drugim analitičkim putem, proporcionalnosti među frakcijama moraju biti dirigovane tipom ostvarenja transporta u sopstvenoj frakciji, ali su saglasne i prenosu duž celog metaboličnog lanca. Možda bi bilo nužno i za međufrakcijske zakonitosti ustanoviti odgovarajuću jednačinu, jer se zasada ta zakonitost može ustanoviti samo indirektnim putem, na osnovu upoređivanja činjenica iz jednačina za posebne članove lanca. Međutim za taj zadatak još nemamo dovoljno podataka (svakako ni iskustva!), te zasada ne možemo čak ni približno sagledati eventualni izgled takve jednačine.

Ako posebne jednačine otkriju neko »kruženje« i međuzavisnost činjenica iz raznih frakcija, onda je to posledica već završenog procesa, koji su naše intervencije i analize zatekle i prekinule u različitim stepenima njegovog razvitka. Naši rezultati samo slikaju ono što se zbilo na međufrakcijskom planu i u pojedinim frakcijama. Prema tome ako su naše analize i jednačine sposobne da otkriju međufrakcijska »kruženja« i odnose, onda treba da ih prihvatimo kao pouzdano pomagalo za analizu lanca.

Upoređujući podatke izložene u kolonama tablice br. 3 otkrili smo više iznenadujućih rezultata. Najpre nismo mogli predvideti da li će koncentracije svih frakcija pod jednakim uslovima sinteza i razlaganja dosledno slediti formulu za koncentraciju. Nismo mogli dalje zamisliti

da li će koncentracije biti identične sa kvadratima transporata svojih frakcija, nezavisno od nivoa izjednačenja razlomaka njihovih specifičnih brzina. Treća stvar, koja nas je iznenadila, odnosi se na strogu proporcionalnost među veličinama koncentracija i transporata frakcija pri jednakim vrednostima za njihove razlomke  $K^S/K^R$ . Neočekivana je bila i činjenica da kod izjednačenosti vrednosti  $K^S/K^R$  na jedinici, koncentracije bivaju izjednačene sa kvadratima transporta u jedinici vremena (tj. prema našem kriterijumu 2 h, vidi II deo ovog rada). Veoma nas je iznenadila činjenica da jednačina dozvoljava korigovanje koncentracije preko faktički postojećeg transportnog kapaciteta, koji ni pod kakvim uslovima ne bi koncentraciju mogao stvoriti! Tako napr. koncentracija za neorgansku frakciju iz kolone 5 premašila bi transport koji se ostvaruje tokom jednog ciklusa lanca za 11,6 puta, ako bi obnavljanje teklo brže od izlaženja za 1,493 puta. Transport bi bio premašen za 7,8 puta ako bi ulaženje moglo teći istom brzinom kojom izlaženje. Najveće su nam iznenađenje ipak priredile kolone 11 i 12 iste tablice. Neposredno iz formule ne bi se stekao utisak da transport ima tako veliko kvantitativno učešće u formiranju koncentracije u tekućem lancu metabolizma. Transport napr. u neorganskoj frakciji učestvuje u formiranju koncentracije sa 99,9933%, dok je uloga količnika  $K^S/K^R$  zanemarujući malena (hiljaditi delovi od jednog procenta). Ovo u nešto blažoj meri važi i za sledeće tri frakcije (ispod neorganske) u toj koloni. Čak i u frakciji u kojoj sinteza za 316% teče brže od razlaganja (tj. u nukleoproteidima), transport još uvek učestvuje sa 31,7% u formiranju koncentracije sopstvene frakcije. Najzad iznenađujuća je bila i činjenica da, izuzev tri frakcije, cifarsko podudaranje vrednosti za koncentracije sa vrednostima za kvadrate transporta leži u vrlo uskim granicama eksperimentalnih grešaka. Čak i opisana odstupanja za slučajevne korišćenja tuđih izvora za izračunavanje transporta nisu prešla dozvoljene granice.

Prekomerna vrednost korigovanih veličina za koncentracije pri izjednačenim vrednostima razlomka  $K^S/K^R$  (kakve bi nužno morale nastati kada bi u jetri postojala mogućnost za izjednačenje tih količnika za sve frakcije), pokazuje da, ono što smo mi računski izveli, organizam nikada ne bi mogao učiniti, tj. da pri postojećim veličinama transporta frakcija izjednači njihove količnike  $K^S/K^R$ . Za naš konkretni zadatak to i nije bitno, jer u granicama postojećih specifičnih brzina ne samo transport već i formiranje njihovih koncentracija biva po pravilima, kao da je i takav slučaj mogućan. Za nas je bilo osnovno utvrditi tačnost naših formula za specifične brzine i za njihove konkretne veličine, kao i ispravnost formule za izračunavanje koncentracije iz dinamičnih reakcionih konstanti metabolizma radiofosfora. Račun je u suštini potvrdio s jedne strane naše teze i naše formule, a s druge strane i konkretne veličine naših reakcionih konstanti. Neposredno je dokazano na primerima drugih frakcija čije bi korigovane koncentracije mogle stvarno biti formirane iz postojećeg transporta, da principi opisani u ovom radu imaju realnu podlogu. One ipak važe i u slučajevima u kojima to nepo-

sredno nije uočljivo. To se može zaključiti iz činjenice da je korekcija koncentracije postignuta deljenjem vrednosti faktične koncentracije pomoću istog broja, pomoću koga je postignuto izjednačenje razlomaka  $K^S/K^R$  za pojedine frakcije. To znači da izvršenim računskim operacijama nismo dirali postojeće proporcije koncentracija i transporta, već smo ih samo preveli u lako uporedive veličine, odnosno omogućili im da neposrednije iskažu određene pravilnosti na kojima su zasnovani odnosi sinteza, razlaganja, transporta i koncentracija u lančastom sistemu metabolizma fosfora.

Izgleda nam da je moguće naći donju granicu vrednosti za  $K^S/K^R$  pri kojoj bi koncentracija još realno mogla biti stvorena. Za to nam daje priliku frakcija stabilnog fosfora, čiji razlomak  $K^S/K^R = 0,0554$ , pomnožen sa kvadratom transporta ( $7,74^2 = 59,0$ ) daje koncentraciju 3,36 mg. Međutim ako se razlomak  $K^S/K^R$  za tu frakciju povisi na vrednost za kofermente što je učinjeno u koloni 5 tablice br. 3), tada koncentracija poraste na 90,5, što je još uvek za 28,5 mg (vidi kolonu 6, tablice br. 1) ispod apsolutnog transporta za vreme trajanja jednog ciklusa obnavljanja lanca (1845 minuta). Donja granica vrednosti razlomka  $K^S/K^R$  za realnu korekciju koncentracije pri izjednačenim vrednostima tih razlomaka na nivou razlomka kofermenata mora biti oko 0,045. Nemamo nikakvih eksperimenata za zaključak o tome da li je u živom organizmu moguća izmena specifičnih brzina reakcije, pa prema tome ni o tome da li ovi naši računi mogu biti realizovani u samom metabolizmu!

Upadljivo je da čeona frakcija (neorganska) u procesima lanca najviše učestvuje svojim transportom, a najmanje razlomkom  $K^S/K^R$ . Istovremeno frakcije sa repa lanca (nukleoproteidi i kofermenti, delom i adenilna kiselina, kao i frakcija fosfolipoida koja inače zauzima posebno završno mesto u bočnom repu lanca) imaju uvek visoke vrednosti za  $K^S/K^R$  dok su im ekvivalentni transporti uvek maleni.

Frakcije, čiji transport relativno manje učestvuje u formiranju sopstvene koncentracije, održavaju znatno veću stabilnost svojih koncentracija, jer je zavisnost od kvadrata transporta stalno u velikoj meri

korigovana pozitivnim doprinosom razlomka  $K^S/K^R$  (u korist koncentracije: napr. kod nukleoproteida, a u izvesnoj meri i kod fosfolipoida, kao i kod kofermenata, mada ovde manje, jer transport kod ovih dveju frakcija još uvek učestvuje sa 2/3 u stvaranju koncentracije), Naprotiv u frakcijama u kojima je transport skoro isključiva količina za obrazovanje koncentracije (napr. neorganski P ili P iz šećerne grupe), ova je izložena nesrazmerno većim kvantitativnim kolebanjima pri izmeni brzine transporta.

Gore smo videli kako se principijelno formira koncentracija i u kojoj srazmeri zavisi od veličine transporta, odnosno od proporcija ulaženja prema izlaženju fosfora. U svim tim razmatranjima posmatrali smo kako to izgleda kada je koncentracija već dostigla svoju punu

vrednost, tj. kada prođe period obnavljanja fosfora frakcije. Međutim iz tih razlaganja nije jasno kakve su veze između koncentracije i transporta za vreme dok se koncentracija tek formira u frakciji, kada još ne postoji ravnoteža transporta. Da bismo to pitanje bolje sagledali i našli odgovor na njega, načinili smo tablicu br. 4, u kojoj su izračunate veličine izlaza radiofosfora za periode u kojima se tek formira veličina njihove koncentracije, a saglasno formuli za brzinu razlaganja. Kako prema tablici br. 2 ulaženje fosfora u neorgansku frakciju od početka mora bivati istom proporcijom kao i posle ravnoteže, to je i u tablici br. 4 iskazano u koloni br. 1. U koloni 2 iste tablice ispisane su sukcesivne veličine koncentracija kako postepeno (po dekadama) formiraju ravnotežne koncentracije. Počeli smo sa milijonitim delom koncentracije, da bismo videli koliki deo izade pri toj početnoj koncentraciji. Odmah se vidi da kod milijonitog dela od završne veličine koncentracije izlazni transport iznosi  $1/1000 = \sqrt[3]{10^{-6}}$  od ulazne veličine. U sledećoj dekadi koncentracija će porasti na 10 puta veću vrednost, dok će istovremeno izlazni transport porasti za svega kvadratni koren od 10 (tj. 3,18 puta). Na taj način će svaki porast koncentracije za jednu dekadu dovesti do povećanja izlaznog transporta za svega kvadratni koren od 10. Najzad

Tablica br. 4

Brzina ulaženja za period od 120 min.	Koncentracija		Brzina iz loženja za 120 min.	
	Apsolutne količine	Proporcije formiranja	Proporcije porasta	Apsolutne veličine
1	2	3	4	5
120,0	0,00002569	$C = C_0 \times 10^{-6}$	$A_p = A_{p_0} \times \sqrt[3]{10^{-6}}$	0,1210
120,0	0,0002569	$C = C_0 \times 10^{-5}$	$A_p = A_{p_0} \times \sqrt[3]{10^{-5}}$	0,3860
120,0	0,002569	$C = C_0 \times 10^{-4}$	$A_p = A_{p_0} \times \sqrt[3]{10^{-4}}$	1,210
120,0	0,02569	$C = C_0 \times 10^{-3}$	$A_p = A_{p_0} \times \sqrt[3]{10^{-3}}$	3,860
120,0	0,2569	$C = C_0 \times 10^{-2}$	$A_p = A_{p_0} \times \sqrt[3]{10^{-2}}$	12,210
120,0	2,569	$C = C_0 \times 10^{-1}$	$A_p = A_{p_0} \times \sqrt[3]{10^{-1}}$	38,60
120,0	25,69	$C = C_0 \times 10^0$	$A_p = A_{p_0} \times \sqrt[3]{10^0}$	121,0

kada početna koncentracija poraste milion puta, te dostigne svoju završnu ravnotežnu veličinu tj. punu vrednost C, izlazni će se transport izravnati sa ulaznim, porastavši od svoje početne vrednosti za kvadratni koren od milion, tj. povećanje transporta prema početnom iznosi svega

za 1.000 puta. Iz ovog jasno sledi da se koncentracija frakcije formira brže od stvaranja izlaznog transporta. Povećanje izlaznog transporta proporcionalno je samo kvadratnom korenu postignute koncentracije. Ovaj odnos pokazuje da koncentracija frakcije mora najpre porasti za kvadrat, da bi izlaz porastao samo za kvadratni koren. Videli smo da

je uopšte pravilo da dve frakcije sa jednakim razlomkom  $K^S/K^R$  formiraju koncentracije proporcionalno kvadratima sopstvenih transporta. Moglo bi se zameriti da se ovde ne radi o dve različite frakcije, niti o transportu uravnotežene frakcije. Prvi prigovor mora otpasti. Najidealnije je kada ista frakcija formira razne koncentracije (a to se događa svaki puta kada unesemo radiofosfor, te on postepeno počinje ulaziti u frakciju gde formira sopstvenu radioaktivnu »koncentraciju«), jer je tada na istoj frakciji moguće proveriti odnos raznih veličina koncentracija prema odgovarajućim transportima. Neobično je što se ovde proporcija ogleda na izlaznoj veličini fosfora. Međutim u koncentraciji koja još nije dostigla svoju maksimalno moguću veličinu izlazni transport, odnosno razlaganje frakcije, proporcionalno je samoj koncentraciji, ali po obrnutom pravilu po kome transport obrazuje koncentraciju svoje frakcije. U tablici br. 2 već se u kolonama 2, 6 i 8 vidi da ulazjenje od početka teče punim kapacitetom, dok to nije bio slučaj sa izlaženjem.

Prethodna izlaganja jasno su pokazala da koncentracija nije samo proizvod transporta, već i njegov tvorac za sledeću etapu prenošenja: izlazna brzina iz frakcije u stvari je merilo njenog transportnog kapaciteta. Koncentracija diriguje veličinu izlaznog transporta prema formuli o brzini razlaganja (prema zakonu o delovanju aktivnih masa). Koncentracija je s jedne strane proizvod ulaznog transporta, ali je ona sama tvorac izlaznog transporta. U lančastom metabolizmu ona se nikako ne može ni formirati niti održati bez transporta, jer je ona i sama specifična forma, odnosno posebna manifestacija transporta.

Ostalo je da se razjasni još jedno pitanje u vezi sa transportom kroz metabolični lanac. To je pitanje odnosa vremena prema veličini transporta. Videli smo da su naše specifične brzine i razlaganja izračunate iz brzina obnavljanja frakcije (to znači iz brzine transporta). Međutim kada se radi o transportu, onda moramo potsetiti da je svaki transport funkcionalno zavisano od vremena. Tablica br. 5 prikazuje za šećernu frakciju zavisnost transporta od vremena, kao i uticaj količine transporta na veličine reakcionih konstanti. Već smo u II delu videli da

Tablica br. 5

Vreme transporta u min.	Veličina transporta	$K^S$	$K^R$	$K^S/K^R$	$K^S \cdot K^R$
1	2	3	4	5	6
12	2,565	0,39	0,307	1,27	0,12
120	25,65	0,039	3,07	0,0127	0,12
1200	256,5	0,0039	30,7	0,000127	0,12

je količina transporta direktno proporcionalna vremenu njegovog trajanja (upoređi kolone 1 i 2 ove tablice). Kako je prema našim formulama specifična brzina sinteze ravna recipročnoj vrednosti apsolutne količine transporta, iz gornjeg upoređenja izlazi da bi za svako vreme transporta trebalo imati posebnu specifičnu brzinu sinteze. Iz naše originalne formule ne vidi se zavisnost specifične brzine od vremena trajanja transporta (mada on raste proporcionalno svom trajanju). Dok smo za pojedine frakcije izračunavali reakcione konstante, to nije dolazilo do izražaja, jer smo sve račune izvodili prema brzini obnavljanja frakcije u vreme našeg prvog merenja radioaktivnosti (2 h = 120 minuta). Međutim, kada se pojavi nužnost da specifične brzine određujemo i iz nalaza u drugim vremenima (kao napr. u tablici br. 5) moraćemo najpre ustanoviti koja je od označenih brzina baš specifična. Pošto je specifična brzina sinteze recipročna vrednost apsolutnog transporta, izlazi da će račun u kraćem vremenu, usled manjeg transporta, pokazati veću specifičnu brzinu sinteza i obratno. Ako želimo da dobijemo stvarne specifične brzine od kog bilo transporta, onda recipročnu vrednost datog transporta treba pomnožiti sa brojem jedinica vremena tokom kojega je on izvršen. Dobićemo u tom slučaju sledeću formulu za specifičnu brzinu sinteze:

$$K^S = \frac{t}{A_p t}$$

Dakle specifična brzina sinteza ravna je recipročnoj vrednosti transporta u ma kom vremenu, pomnoženoj sa brojem vremenskih jedinica u kojima je transport realno izmeren (u nas je jedinica vremena za konstante = 2 h).

I u formiranju specifične brzine razlaganja učestvuje transport. Kako tablica br. 5 pokazuje, sa porastom vremena morala bi se povećati specifična brzina razlaganja, ako je ne ograničimo vremenom u kome je izvršen transport. To se nužno mora odraziti i u formuli za specifičnu brzinu razlaganja:

$$K^R = \frac{A_p t}{c x t}$$

Ako je vreme transporta ravno jedinici, onda za obe specifične brzine ostaje ranije predložena formula. Međutim kada je vreme veće ili manje od jedinice, onda treba vrednost transporta korigovati na jedinicu vremena, što je novim predlogom formula obezbeđeno. Specifična brzina razlaganja takođe se može izračunati iz transporta u ma kom vremenu, ako se dobivena vrednost podeli sa brojem jedinica vremena.

Čini nam se da bi formiranje koncentracije u frakciji, kao i njenu ulogu u ostvarenju transporta pomoću koncentracije, najlepše mogli ilustrovati sa jezerom kroz koje protiče reka. Dok je jezero prazno, rečni transport najpre služi samo punjenju jezera. Ako je ulaz širok, a izlaz mali, vodeni kapacitet jezera biće veći: pri tom će uski izlaz propustiti izlaznu količinu vode tek kada nivo površine dostigne veliku visinu. Naprotiv, ako je izlaz širi od ulaza, količina izlazne vode izravnaće se sa ulaznom, pri niskom nivou, koji će biti dostignut mnogo ranije.

\*)  $A_p$

= veličina transporta tokom vremena t.

Kada se postigne ravnoteža punjenja i pražnjenja jezera, tada rečni tok više ne može formirati novi nivo, već sva voda koja uđe kroz ulaz biva propuštena na izlazu. Reka tada samo protiče kroz jezero, a jezero u odnosu na reku vrši samo transport, dok je u početku pretežno vršilo akumulacije rečne vode. Visok nivo vode u jezeru sa uskim ulazom i širokim izlazom može biti formiran samo vrlo velikim transportom.

Slično možemo zamisliti i transport metabolita kroz frakcije: svaka frakcija ličila bi na jezersko proširenje metabolične reke. Kao i rečno jezero i metabolično će najpre koristiti transport da svoj kapacitet napuni do mere potrebne da transport može preko sebe produžiti u nizvodni tok reke. Ako je ulaz u frakciju uzak, onda će pritisak pred ulazom dovesti ipak do velikog transporta u frakciju, te će se u frakciji brzo formirati dovoljan nivo, da kroz široko grlo izlaza protera primljenu količinu. Obrnuto biva ako je ulaz širok, a izlaz uzak. Tada je kapacitet koncentrovanja frakcije velik. Međutim velik kapacitet dovodi do visokog nivoa, pod čijim dejstvom veličina izlaza biva povećana do veličine ulaza. Širina ulaznog grla uslovljavala bi specifičnu brzinu sinteze, dok bi širina izlaznog grla uslovljavala specifičnu brzinu razlaganja. Visok nivo koncentracije frakcije sa uskim ulazom i širokim izlazom (tj. sa malom specifičnom brzinom sinteze i velikom specifičnom brzinom razlaganja) može biti ostvaren samo vrlo velikim transportom.

## OPŠTI ZAKLJUČCI ZA ČETIRI PUBLIKACIJE SA ZAJEDNIČKOM TEMOM

### (O ispitivanju metabolizma fosfora u jetri pacova pomoću radiofosfora)

Pristupajući proučavanju metabolizma fosfora metodom markiranja pomoću radiofosfora, smatrali smo za potrebno da učinimo maksimalan napor da iskoristimo prednosti te metode. Činilo nam se da nam ona omogućuje da se približimo uslovima koji vladaju u organizmu za vreme njegovog života. Umesto da se bavimo samo odvojenim proučavanjima »sastava«, »stanja« ili »struktura« pojedinih hemijskih sastojaka i njihovih posebnih reakcija, želeli smo da pojedinačne analize posebnih supstancija i reakcija organizujemo na takav način i u takvim kombinacijama, da nam omoguće otkrivanje veza među njima, sagledavanje povezanih reakcionih tokova, odnosno elemenata i pokazatelja reakcionog poretka. Odvojeni podaci o posebnim činjenicama u metabolizmu fosfora zanimali su nas samo u meri u kojoj su otkrivali interfrakcijske odnosno intersistemske veze i reakcije. Kako se veze mogu održavati premeštanjem, to nas je posebno zanimalo proces seobe, odnosno transporta fosfora u funkciji povezivanja odvojenih reakcija, kao i zakonitosti takvih sistema.

Da će nas već samo postavljanje takvog zadatka dovesti pred teške probleme tehničkog, metodskog i teorijskog reda, bilo nam je a p r i o r i jasno. Da na tom putu nužno moramo doživjeti mnoge neuspjehe (iz objektivnih razloga, ili zbog sopstvenih pogrešaka), smatrali smo kao neizbježno. Privlačnost ovako postavljenog zadatka izgledala nam je ipak mnogo veća od rizika kome smo se izlagali. Četiri publikacije za

koje sastavljamo zajednički zaključak neka pokažu u kojoj smo se meri prevarili prilikom donošenja odluke za takav istraživački put.

Naša predviđanja (kako u pogledu teškoća, tako i u pogledu omaški) potpuno su se obistinila. Prve teškoće doživeli smo pri pokušaju da u naučnim publikacijama nađemo oslonac i putokaz za naš zadatak. Izuzev u radovima G. Hevesy-a i J. Sachs-a, nismo nigde našli rezultate kompleksno organizovanih analiza metabolizma fosfora u jetri pacova. U glavnom smo se morali orijentisati na saopštenja o ispitivanjima posebnih problema, odnosno pojedinačnih fosforovih jedinjenja, itd. Čak ni pomenuta dva autora, mada su analize izvodili kompleksno, nisu postavljali zadatak da iz te kompleksnosti sagledaju jedinstvo metabolizma fosfora u jetri, niti da ispituju reakcioni poredak toga metabolizma.

Druga teškoća pojavila se na pitanju metodike i eksperimentalne tehnike. Bili smo prisiljeni da uporedo primenjujemo tehnike raznih autora za izdvajanje odgovarajućih grupa frakcija. Napr. za frakcionisanje acidsolubilnih jedinjenja fosfora upotrebili smo tehniku J. Sachs-a, za fosfolipoidne modifikovanu tehniku G. Hevesy-a, a za nukleoproteide dve razne tehnike (Kjeldahl-ovu u početnim analizama, a kasnije žarenje u električnoj peći). Za merenje radioaktivnosti koristili smo Geiger-Müller-ove brojače, a kolorimetrijska merenja izvršili smo tehnikom po Benedict-u (na Pulphrich-ovom fotometru i na Beckmann-ovom spektrofotometru).

Kada smo posle trogodišnjih analiza pokušali sistematizovati rezultate na način koji bi nam omogućio pristupanje rešavanju postavljenog zadatka, došli smo u krizu. Bili smo skoro šokirani, kada smo doživeli neuspeh pri poređenju naših sa Sachs-ovim rezultatima analiza običnog (neradioaktivnog) fosfora u jetri pacova. Dok je između proporcija raspodele običnog i radioaktivnog fosfora u frakcijama postojala potpuna podudarnost u našim analizama, dotle su ove proporcije bile potpuno neuporedive sa Sachs-ovim. Oko šest meseci smo bili potpuno obeshabreni činjenicom da su Sachs-ove vrednosti za organske frakcije po nekoliko puta premašivale naše. Hevesy-ev nalaz, da je količina organski vezanog fosfora određena bogatstvom šećera u hrani pacova pokazao je da razlike između naših i Sachs-ovih rezultata potiču od neadekvatnog načina upoređivanja. Kada smo naše rezultate uporedili sa Sachs-ovim na bazi ekvivalencije fosfora u šećernim frakcijama, dobili smo skoro identične procenete raspodele fosfora u acidsolubilnim frakcijama.

Mada nas je to ohrabrilo (jer smo ustanovili ravnoteže istog reda čak i u rezultatima sasvim različitim od naših), ipak od preglednije deskriptivne sistematizacije materijala nismo mogli dalje krenuti. Pretresli smo ogromnu literaturu, ali tek u Bertalamffy-u (1) i De Groot-u (4) našli smo potstrek, da bi vredelo pokušati rešenje putem primene zakona o delovanju aktivnih masa na lančaste reakcije metabolizma. Ista proporcionalnost raspodele fosfora u jetri pacova upućivala nas je na mogućnost formulacije ravnoteže u smislu Bertalamffy-evog »Fließgleichgewichte« (odnosno na steady state« engleskih autora). Međutim u literaturi nismo našli na mogućnost primene Guldberg-Waage-ovih jednačina za tekuće lance metabolizma. Tek posle dugog lutanja i teškog napora formulisali smo jednačine za ravnoteže u ireverzibilnim lancima metabolizma. Poslije konsultacija hemičara, biohemičara, fiziologa i pret-

hodnog saopštenja na I kongresu fiziologa Jugoslavije u Sarajevu (1956), objavili smo ovu metodsku raspravu. Ona nam je pružila jednačine za specifičnu brzinu sinteze i specifičnu brzinu razlaganja, kao i jednačinu za izračunavanje veličine koncentracije iz podataka o količini transporta i specifičnih brzina. Tako smo došli u posed formule da vrednost koncentracije običnog fosfora izračunamo iz veličine porasta njegove radioaktivnosti.

Za primenu jednačina trebalo je najpre utvrditi veličine transporta za svaku frakciju. Prvo poglavlje našeg saopštenja o reakcionim konstantama metabolizma fosfora u jetri pacova pokazuje na koji smo način taj zadatak izvršili (18).

Ipak za izračunavanje konkretnih specifičnih brzina nismo imali dovoljno eksperimentalnih podataka o veličinama transporta. Svega za četiri frakcije mogli smo transporte izračunati iz naših sopstvenih merenja radioaktivnosti u periodu uspona. Za tri frakcije morali smo koristiti podatke iz literature, mada nismo bili sasvim sigurni da li će se podudarati sa izračunatim iz naših analiza. Kasnije je pomoću jednačine za koncentraciju utvrđeno da odgovaraju veličini stvarne koncentracije (doduše u manjem stepenu od transporta izračunatih u našim analizama). Najteže je bilo izračunati količinu transporta iz šećerne frakcije, jer niko (ni mi, kao ni drugi autori) nije ispitivao veličinu porasta radioaktivnosti u periodu porasta u grupi šećera. Već pomenuti Hevesy-ev nalaz omogućio je pokušaj rešenja ovog pitanja na nov način.

Da za izračunavanje transporta možemo koristiti naše modifikacije Guldborg-Waage-ovih jednačina, setili smo se slučajno. To je moguće samo za čeonu frakciju (tj. za šećer, koji bi prema Hevesy-evom nalazu i našoj pretpostavci mogao stajati na čelu) lanca, koja nastaje iz dve slobodne supstancije, sa definisanim koncentracijama (iz glukoze i neorganskog fosfora). Nažalost ni mi, ni drugi autori (koji su ispitivali fosfor u jetri) nisu uporedo analizovali i količine šećera. Zato smo Magnus-Levy-evu (7) maksimalnu koncentraciju glukoze u jetri (pri bogatoj ishrani šećerom) kombinovali sa minimalnom koncentracijom neorganskog fosfora iz Hevesy-evih analiza (pod analognim uslovima ishrane), i — obratno. Iz približne vrednosti za koncentraciju šećera i poznate za fosfor, izračunali smo verovatnu količinu transporta za šećere. Pomoću jednačine za koncentraciju ustanovili smo da je izračunati fosfor za oko 3,5% veći od stvarnog (tj. pomoću gornje jednačine daje vrednost za koncentraciju veću od stvarne za oko 11%).

Pošto smo na razne načine ustanovili procenete (a zatim i apsolutne) količine za transporte, za sve frakcije smo izračunali specifične brzine sinteza i specifične brzine razlaganja. Kako o pothvatu ove vrste nismo našli nikakve informacije u literaturi, moglo bi se možda uzeti da je ovo izračunavanje specifičnih brzina za sinteze i razlaganja u metaboličnim reakcijama organa *Intra vitam*, tj. u intaktnom živom organizmu, prvi slučaj u biohemiji i fiziologiji.

Sa izračunatim podacima o specifičnim brzinama najpre nismo znali šta da činimo! — Doduše mogli smo ih odmah objaviti kao gole činjenice, jer bi to samo po sebi moglo imati naučnog interesa. Ipak to nismo učinili, jer se nismo mogli zadovoljiti polovičnim rešenjem započetog zadatka. Najpre je trebalo stvoriti kvantitativnu osnovu za iskazivanje transporta sa stanovišta celog lanca. Učinilo nam se logično da će lanac

kao celina biti obnovljen kada njegova frakcija sa najdužim periodom obnavljanja završi svoju regeneraciju. Stoga smo transporte za sve frakcije preračunali za period od 1845 minuta (vreme obnavljanja nukleo-proteida, jer je ono najduže).

Kada smo specifične brzine, količine transporta, odnosno vremena obnavljanja frakcija ucrtali u grafikon, odnosi su dobili sasvim konkretne oblike. Na osnovu grafikona izrađeni su zatim principi i kriterijumi za pokazatelje redosleda frakcija u procesu transporta fosfora u metaboličnom lancu. To nam je omogućilo da najzad rekonstruišemo i šemu reakcionog poretka za metabolizam fosfora u jetri pacova.

Kako u šemi nisu obuhvaćeni podaci o koncentracijama fosfora u frakcijama, bilo je nužno ustanoviti da li i one imaju neki značaj za reakcioni poredak, koji je inače bio konstruisan isključivo iz podataka o transportu i o specifičnim brzinama (sinteza i razlaganja). S obzirom da koncentracije frakcija u organizmu realno postoje, moraju naći mesto i ulogu i u našoj šemi reakcionog poretka. Načinjene su i tablice, koje su te odnose postavile na kvantitativnu osnovu. Pokazalo se da reakcioni lanac na zakonit način sjedinjuje funkciju transporta sa funkcijom akumulacije fosfora u koncentraciji frakcije.

Pomoću jednačine za koncentraciju omogućeno nam je da proverimo odnos kolektivne i posebne uloge svake frakcije u lancu. Pokazalo se da unutar jedne frakcije koncentracija ima vrednost ravnu kvadratu svog transporta, ako su obe veličine iskazane u ekvivalentima zajedničkim za sve frakcije lanca (kao osnovu za ekvivalenciju uzeli smo apsolutne

$$\frac{S}{R}$$

količine transporta i koncentracije, kao i vrednost  $\frac{K}{K}$  za kofermentata). Izuzetno je za grupu šećernih frakcija vrednost kvadrata transporta veća za 11% od odgovarajuće koncentracije. Ako su u lancu količine transporta sukcesivnih stadijuma ekvivalentne, interfrakcijski odnosi transporta i koncentracija, odnosno specifičnih brzina sinteza i razlaganja pokazuju određenu zakonitost. Tako napr. stabilna frakcija ATP-a i fosfolipoidi imaju bezmalo jednake vrednosti transporta, ali im se koncentracije ipak veoma razlikuju (u fosfolipoida veća je za 27,15 puta). Pokazalo se da razlika potiče otuda, što se specifično razlaganje u fosfolipoida vrši 27,6 puta sporije nego u stabilnoj frakciji ATP-a. S druge strane fosfolipoidi imaju podjednaku srazmeru između brzine specifične sinteze i specifičnog razlaganja sa kofermentima, pa ipak im koncentracije nisu jednake (u fosfolipoida koncentracija je 35,6 puta veća). Ustanovljeno je da to potiče od toga što fosfolipoidi imaju 5,96 puta veći transport, te je kvadrat toga broja ( $5,96^2$ ) ravan koncentraciji fosfolipoida. Dakle koncentracije dveju frakcija sa istim razlomkom

$$\frac{S}{R}$$

specifičnih brzina  $\frac{K}{K}$  razlikuju se isto toliko, koliko i kvadrati njihovih transporta. To važi kako za slučajeve gde prirodno postoji jednakost razlomaka specifičnih brzina, tako i za slučajeve u kojima je to izravnato računskim putem.

Jedinstvo lančanog sistema potvrđeno je naročito otkrićem stadijnog principa organizacije transporta (tri osnovna sukcesivna stadijuma) sa ekvivalencijama transporta pojedinih stadijuma. Najzad sposobnost lanca da povratnim snabdevanjem čeine frakcije aktivnim (organski vezanim-labilnim) fosforom obezbedi proces autoregeneracije, spada u

najjače potvrde funkcionisanja ovog metaboličnog lanca kao jedinstvenog procesa.

Uloga čeone frakcije (I stadijuma) bitno je različita od uloga frakcija iz završnog stadijuma lanca. Dok je za čeone frakcije (a pretežno i za frakcije srednjeg stadijuma) karakteristična skoro isključiva transportna uloga, prema minimalnoj ulozi akumulacije fosfora (transport nadmašuje koncentraciju: u I stadijumu 73,2 puta; u II stadijumu 47,3 puta, odnosno 43 puta). Naprotiv u frakciji nukleoproteida (iz III stadijuma) akumulaciona snaga frakcije nadmašuje transportnu za 2,33 puta.

Mnoge greške i propusti otežali su nam rad. Usled nejasnoće konkretnog zadatka (opšti je bio postavljen) nismo mogli najceliskodnije organizovati sakupljanje činjeničkog materijala. Kasno startovanje na merenja radioaktivnosti prisililo nas je da iskoristimo i rezultate drugih autora, mada uslovi njihovih eksperimenata, kao i zadaci, nisu bili slični našima. Čak smo usled toga kod šećera morali upotrebiti sasvim drugi put za utvrđivanje količine transporta.

I pored velikog broja sukcesivnih vremena, ipak je bilo nedovoljno za utvrđivanje napr. transporta kod svih frakcija (svega 12 vremena za merenje radioaktivnosti). S druge strane rascepanost analiza u različita vremena, učinila je da je ukupno veliki broj analiza ipak bio nedovoljan da u nekom posebnom vremenu obezbedi minimum analiza za udovoljenje principu statističke verovatnoće (u nekim vremenima analize vršene samo na 4 životinje, a maksimalno na 12 životinja). Prigovor o rascepanosti analiza u razna vremena otpada kada se rezultati iskazuju u procentima neorganske frakcije, jer se pokazalo da su proporcije raspodele radiofosfora jednake za sva vremena, nezavisno od apsolutnih količina radioaktivnosti.

Jedna od najnepovoljnijih posledica merenja radioaktiviteta u raznim vremenima ispoljava se u činjenici da se ista životinja ne može upotrebiti za razna vremena kada je potrebno uzimati uzorke iz unutrašnjih organa. Stoga su podaci za istu frakciju iz raznih vremena uvek dobiveni od drugih životinja, što veoma pogoduje oscilacijama nalaza.

Mnoštvo vremena dalo je i neke prednosti. Naime pokazalo se da, i pored progresivnog opadanja radioaktivnosti u sukcesivnim vremenima, proporcije raspodele ostaju manje više neizmenjene, što se ne bi sa takvom pouzdanošću mogla ustanoviti bez velikog broja vremenskih analiza.

Vremena izabrana za merenja radioaktivnosti imaju različito značenje za pojedine frakcije. Napr za 4 čeone frakcije sva merenja aktivnosti pala su u periodu posle zasićenja tih frakcija radiofosforom, tj. posle ustanovljavanja njegove konstantne raspodele. Tako je kod njih raspodela izračunata na maksimalnom broju analiza, ali nije uopšte bilo podataka za transport (zato smo ih pozajmili od drugih autora). Obrnut je slučaj u frakcijama fosfolipoida i nukleoproteida. U odnosu na njih polovina životinja je analizovana u periodu uspona radioaktiviteta, dok je druga polovina pacova ispitana u periodu ravnoteže prometa radiofosfora. Za izračunavanje transporta ove su frakcije od svih drugih u najpovoljnijem položaju, dok su usled toga u najnepovoljnijem položaju za izračunavanje raspodele radiofosfora.

Čini nam se da postoje razlozi, da na kraju ipak treba da budemo zadovoljni, jer nam ni methodske teškoće, niti eksperimentalni propusti, nisu sasvim onemogućili da izvršimo postavljeni zadatak. Čak su nas nagnali na inicijativu, da podemo izvesnim zaobilaznim putevima, ka rešavanju zadatka, što se u suštini takođe pokazalo korisnim. Stoga eksperimentalno ustanovljenim podacima (kao i iz njih izračunatim, napr. količine obnavljanja, odnosno transporta; specifične brzine sinteza i razlaganja, itd.) možemo ipak pripisati visok stepen verovatnoće. Šema reakcionog poretka izgleda nam ubedljiva, jer je konstruisana isključivo iz kvantitativnih podataka, kao i usled toga što pokazuje niz primera harmoničnog funkcionisanja lanca kao jedinstvenog procesa.

Imamo utisak da neke karakteristične činjenice iz tri dela naše publikacije o metabolizmu fosfora mogu poslužiti kao idikator, da rezultati naših ispitivanja sa mnogo verovatnoće daju sliku stvarnog reakcionog poretka fosforovog metabolizma u jetri pacova. Ponovićemo samo najtipičnije činjenice:

1) U našim analizama podudaraju se procenti raspodele običnog fosfora sa procentima distribucije radiofosfora.

2) Procentne raspodele običnog fosfora u frakcijama jetre (kod pacova) iz analize J. Sachs-a, poklapaju se vrlo dobro sa obim vrstama fosfora iz naših analiza (ako se uporede na bazi ekvivalencije šećernog fosfora).

3) Iz Rappoport-ovih i Hevesy-evih merenja radioaktivnosti (u periodu uspona) izračunati transporti sasvim se skladno uklapaju u naš reakcionarni poredak. Nađeno je da vrednosti koncentracija, koje smo (za odgovarajuće frakcije, primenom jednačine za koncentraciju) izračunali iz tog transporta, imaju skoro iste veličine sa eksperimentalno izmerenim koncentracijama.

4) Količina prenošenja fosfora preko šećernih frakcija harmonično se uključuje u reakcioni lanac, pored sve nepouzdanosti osnove, iz koje je izračunat transport te frakcije. Zanimljivo je da ovaj transport svega za oko 3,5% premašuje količinu fosfora, koja bi se morala transportovati saglasno zahtevu jednačine za koncentraciju (pomoću koje bi se transport izračunao iz stvarne koncentracije).

5) Naši nalazi potvrdili su ranije opšte zaključke Hevesy-a (davši im sasvim konkretnu formulaciju) o ulozi šećera u metabolizmu fosfora u jetri pacova.

6) Uloga frakcije u lancu može se specifično ostvariti samo na mestu, koje su joj odredili kriterijumi (utvrđeni iz reakcionih konstanti frakcije). Uloga svake frakcije adekvatna je njenoj stadijnoj adaptaciji. Njena transportna, kao i akumulaciona uloga potpuno su prilagođene stadijumu u kome se nalazi i frakcija.

Da reakcioni lanac funkcionise kao jedinstveni proces, pokazuju određeni indikatori:

1) Stadijna organizacija transporta fosfora može biti objašnjena samo na osnovu reagovanja lanca kao celine. Pomoću tri racionalno raspoređena stadijuma, lanac ostvaruje svoju prvenstveno energetska i plastičnu ulogu. Dok čeone frakcije vrše skoro isključivo energetske uloge, dotle završne frakcije obezbeđuju plastične uloge u lancu (narocito nukleoproteidi i fosfolipidi). Ostale frakcije vrše ili uloge posrednika, ili katalizatora u jetrinom metabolizmu.

2) Jedinstvo lanca potvrđuje se i kvantitativnim činjenicama: sva tri stadijuma lanca imaju izjednačene ekvivalente transporta. Transport fosfora je jedina spona među frakcijama ugrađenim u reakcioni poredak. To je dakle osnovni proces njihovog jedinstva. Sve drugo u stadijumima je različito.

3) Da je transport fosfora osnovno sredstvo korelacije među frakcijama sukcesivnih stadijuma, vidi se i iz činjenice, da kod izjednačenih bilansa između procesa sinteze i razlaganja (jednakost  $K^S/K^R$  za razne frakcije, kao napr. u kofermentima i fosfolipoidima) koncentracije takvih frakcija imaju vrednosti jednake sa kvadratima svojih transporata. Čak i u frakcijama sa nejednakim srazmerama između specifične brzine sinteze i razlaganja njihove koncentracije ipak imaju veličine proporcionalne kvadratu svojih transporata, s tom razlikom da je apsolutna (stvarna) vrednost koncentracije u svakoj frakciji prilagođena veličini odstupanja njenog razlomka za  $K^S/K^R$ . Izjednačenje kvadrata transporta sa koncentracijom odmah nastupa, ako se ova koriguje na odgovarajuću veličinu za izjednačene vrednosti za  $K^S/K^R$ .

4) Za razliku od ekvivalencije transporta fosfora, stadijumi ne pokazuju ekvivalencije svojih koncentracija (tj. zbira koncentracija frakcije tog stadijuma). Najmanja koncentracija postoji u I stadijumu (8,36). Sasvim neznatna je veća koncentracija frakcija II stadijuma (8,89). Nesrazmjerno je visak zbir koncentracija frakcija III stadijuma (162,95), jer oko 20 puta premašuje koncentraciju svakog od prvih dva stadijuma. Razlika potiče od nejednako raspoređenih specifičnih brzina sinteza i razlaganja duž lanca.

5) Mehanizam autoregulacije najjače potvrđuje da metabolizam fosfora u jetri pacova funkcioniše kao jedinstveno tekući proces.

#### A. SABOVLJEV, AN ATTEMPT AT RECONSTRUCTION WITH UTILIZATION OF RESULTS AND DATA OF PART I AND REACTION CONSTANTS DETERMINED IN PART II\*

##### Summary

Part I of the study on the metabolism of phosphorus in the liver of rats (17) recorded only the experimental results of our researches (i. e. their descriptive systematization only), whereas Part II was concerned with the computation of reaction constants of the metabolism in question (with quantities of phosphorus transport, the renewal periods of fractions, the specific velocities of the synthesis and those of the splitting of fractions *in vivo*) (18). In Part III, the present report, an attempt has been made to reconstruct — on the basis of the material of Part I and the reaction constants determined in Part II — the order of reaction in the metabolism of phosphorus in the liver of rats. Moreover, Part III is concerned with the relation between concentration

\* Order of reaction in Phosphorus metabolism in liver of rats.

and transport viewed from the perspective of individual fractions and of the reactive arrangement as a whole. The experimental material of Part I has also been found useful in working out a methodical (theoretical) basis for the computation of reaction constants in the system of irreversible chain metabolism (14). The equations that resulted from this study (14) have made it possible to elaborate Parts II and III.

In dealing with the problematic of this Part III, three themes have been discussed. The first of these is concerned with indicators of the order of reaction: bases have been established and principles defined for criteria that can serve as indicators of the site and role of each fraction in the reactive arrangement. Special criteria have been determined concretely for each fraction. In chapter 2, a reconstruction of the order of reaction has been attempted on the basis of concrete indicators from Chapter 1. A graphic illustration of the reactive arrangement has thus been made possible. Chapter 3, describes the role of fractions in the formation of their own concentrations through the instrumentality of transport and the co-action of synthesis reactions and the splitting process. Quantitative dependence of concentration upon the inflowing transport, and, conversely, the conditionality of the out-going transport upon concentration have also been established.

In addition to the criteria borrowed directly from Part I of the publication (percentual quantities of the renewal of fractions in the unit of time; the times of phosphorus syntheses of fractions; specific velocity of the synthesis and of the splitting of fractions), new bases have subsequently been computed in this chapter for concrete criteria of individual fractions as, for instance, absolute quantities of phosphorus renewal and those of phosphorus transmission in the unit of time; absolute and equivalent transport quantities of individual fractions in the time of the renewal of a metabolic cycle of the whole chain. All bases (except those of specific velocities illustrated in Table 4 of Part II of this publication — (18) are systematically set out in Table No. 1. In all computations the symbol 2 h stands for the time unit (this being the shortest period at which the measuring of phosphorus radioactivity in the fractions began), and 1845 m. represents the period of phosphorus renewal in the whole metabolic chain (which is identical with the period during which the fraction with the longest renewal, i. e. that of nucleoproteides, regenerates). In the sequence scheme itself, the transports have been given a period twice as long (i. e. 3690 m.), actually comprising two cycles of renewal of the chain, whereby computation with decimals has been avoided (e. g. in the ATP stable phosphorus fraction and those of adenylic acid). Absolute quantities of phosphorus transport for the renewal period of the whole chain (1845 m.) have been computed by multiplying the frequency rate of the period of renewal of the fraction by the quantity of its concentration. The absolute transport quantity of a fraction divided by the minimum of absolute transport among the fractions of the chain (in coferments = 19,3 mg) will give us the transport figure of the fraction in equivalent quantities. The round figures (i. e. the nearest integers except for two fractions where the equivalents represent halves between two integers) of these transport equivalents have been used as the principal basis (in addition to other criteria) for

a direct reconstruction of the chain. Thus the reconstruction of the chain has in principle been based upon the function of phosphorus transport through its fractions (combinations) in the liver of rats.

Graph 5 has been designed to facilitate comparisons of particular criteria for different fractions. All the bases mentioned for concrete criteria are recorded in the graph as graphically comparable quantities. Thus the task has been made considerably easier.

In chapter 2 of Part III an estimate has been made of the indicatory value of certain criteria. In order to be able to fulfil their respective roles at the fore-end of the metabolic chain, the fractions need to have the following features: a low rate of specific velocity of synthesis combined with a high rate of specific velocity of splitting; high values as regards both the absolute quantity of renewal and that of phosphorus transmission in the unit of time and for the whole period of the chain; and, lastly, a short period of time for a single renewal of a whole fraction combined with a high frequency rate of the totality of its renewal over the period of the whole chain (1845 m.). Properties opposed to those enumerated above have been made to serve as criteria that exclude the possibility of a fraction occupying a front position but, at the same time, being favourable to its being situated at the end part of the chain. This definition of the criteria ensures a frontal chain position for the fraction that reaches a great measure of transport within a short time, which, concurrently with a low specific velocity rate of synthesis provides a guarantee that a fraction with a later position in the chain shall be able to take up considerable quantities of phosphorus transport without delaying the process of transportation that goes on in it. The low underlying power for any prolonged stay of phosphorus at frontal fractions (which is conditioned by the low specific velocity of synthesis, in conjunction with simultaneous high specific velocity of splitting) is »condition sine qua non« for dealing effectually with the great volume of transport without an increase in the fractions' own concentrations, i. e. without a long stay of phosphorus in them.

As regards some of the fractions, it has been established that all of their criteria demand the identical position to be occupied by the respective fraction in the chain of reactive arrangement. This applies specially to the group of sugar fractions (and to the labile, or the stable fraction from ATP alike, but not to the other fractions, though). On the other hand, there are many fractions certain criteria of which are mutually contradictory, and it is owing to this that some of the criteria lay it down that the fraction should take a position at the fore-end of the chain, while others demand the contrary, i. e. a position at the end part. All these criteria have been given the rank of indicators the demands of which have to be satisfied without prejudice to other claims. As a matter of necessity, the criteria with excluding force have been given certain priority and full obligatoriness. The criteria opposed to these have been treated as facultative or auxiliary indicators that merely point to the possible position of the fraction. Contradictions among the criteria cannot be accidental, for they arise from the actual position of the fraction in the chain. Should for instance some criteria claim a frontal and others a posterior situation for a fraction, then the fraction

must occupy such a position as to be simultaneously situated among the frontal and the posterior fractions. In this situation, each criterium is logical, for it denotes something real. However, if a criterium is viewed only in relation to its partner (apart from the actual position of the fraction), then two of them appear to be quite contrary.

The system of indicators, which was built up exclusively on the basis of quantitative data, in its entirety provides information about the situation and characteristic behaviour of each fraction in the order of reaction. With the help of these criteria a clear view can be had not only of the bases but also of the structure of reactive arrangement in the metabolism of phosphorus in the liver of rats. Nine criteria (eight of which are illustrated graphically) have been set up for each fraction. A tenth criterium has been discovered subsequently after the scheme of the order of reaction had been completed. This criterium is of great value, for it shows subsequently and in a novel way that the reconstructed scheme also satisfies its own demands with regard to the arrangement of fractions in the chain.

When all indicators point to the same direction regarding the position of the fraction, it will be found quite easy to determine its situation and role in the chain. An example of this is provided first of all by the group of sugar fractions, where all the criteria without exception demand for it a position at the very front of the chain, which is in full agreement with the findings of Hevesy concerning the dependence of the amounts of organically bound phosphorus in the liver of rats upon the quantity of sugar contained in food. The frontal situation of sugar fractions also accords with our own findings to the effect that the proportions of phosphorus distribution in organic fractions of the liver of rats are almost identical with those found by Sachs (although the absolute quantities resulting from the two analyses are strikingly different) when our results and those of Sachs are compared on the basis of phosphorus equivalence in the group of sugar fractions (13, 17).

The convincingness of our scheme as regards the organization of the order of reaction in phosphorus metabolism in the liver of rats, derives not only from the fact that the system of criteria has been drawn exclusively from quantitative data but more particularly from the finding that the experimentally determined transport quantities fit, quite equivalently (without any deficiencies or excesses except for the group of sugar fractions) into the transport chain at the place and stage assigned to the fraction by other criteria.

The frontal position of sugar fractions derives in the first place from the fact that theirs is the lowest rate of specific velocity of synthesis simultaneously with the highest rate of specific velocity of splitting, etc. These fractions possess the enumerated conditions for a frontal situation to a greater degree than any of the organic fractions. Next after the sugar fraction comes the fraction of labile phosphorus from ATP, its criteria bearing the closest similarity to those of the sugar group. Since the labile fraction receives altogether 26 equivalents of phosphorus (out of 42 equivalents transmitted by sugar), it is clear that it must have a partner for the rest of the equivalents. Now there are two partners with criteria near to those that apply to sugars and the labile phosphorus,

and they are the stable phosphorus from ATP and the phospholipoids. As regards the stable fraction, its criteria all point to one direction requiring it to occupy the particular position. On the other hand, among the criteria of the phospholipoid fraction there are some that exclude this possibility (e. g. the slow rate towards the achievement of full transport capacity, small quantity of transmission in the initial period, etc.) requiring the fraction to take its position at the end part of the chain.

The labile and the stable fractions jointly transport a total of 39 phosphorus equivalents, which is 3 equivalents less than the transport capacity of sugar (42 equivalents in 3690 minutes). The analyses in chapter 3 of Part III have shown that the calculated sugar transport exceeds the value which, according to the equation relative to concentration, should correspond to the concentration actually found. The probability therefore exists that the excess is due to insufficient reliability of the basis for calculating the rate of transport in the group of sugar fractions. On the other hand, the excess of the transport may well by-pass the chain in performing its function of blood sugar regulator for the needs of synthesis and splitting of glycogen.

According to our criteria, the ATP transport its phosphorus at a very rapid rate, yet in such a way that the dynamics of the transport differ completely as regards the labile and the stable fraction. The stable phosphorus can only be transported from the ATP along with its organic carrier into the structure of free adenylic acid, the coferments and the nucleoproteids.

The consumers of labile phosphorus are of two types, (1) those that carry phosphorus into their structure, and (2) those that only use its energy. The greatest consumer of the type (1) are the phospholipoids which have all the qualifications needed for taking a position next to ATP; however, the above-mentioned exclusive indicators point to their being incapable of occupying a leading position in the principal line of transport. Nevertheless, this in no way prevents them from retaining this position in the chain, namely as a lateral branch of the chain. Thus the demands of all contradictory criteria of phospholipoids are met, for though situated at the end of the lateral branch, they are at the same time positioned directly behind ATP. The graph shows clearly that the phospholipoids occupy a distinct place in the chain; besides being positioned behind ATP they are also situated parallel to them, getting their amount of phosphorus out of glucose. That is to say, phosphorus as a labile fraction retrogrades to enter into the structure of glucose, from which it passes into and combines with phospholipoids in the form of glycerophosphates. Phospholipoids therefore are situated not only behind the ATP but at once parallel to them and at the lateral end of the chain. This position is reflected in the contradictory nature of the criteria themselves.

In the course of their transport the phospholipoids consume 12 equivalents of the total transport of labile phosphorus from the ATP (13 equivalents). None of the remaining fractions with an unassigned position possesses the criteria favourable enough to enable it to receive the unconsumed 13th part of labile phosphorus from the ATP. We must therefore look a likely consumer of this phosphorus elsewhere.

From the process involving the transmission of 12 equivalents of phosphorus to phospholipoids and of one equivalent of phosphorus to the unknown consumer, there resulted (through decomposition of ATP) 13 equivalents in all. It is characteristic of the fractions occupying positions at the end part of the chain that they are incapable — owing to their structures and criteria — of obtaining even one equivalent of labile phosphorus from the ADP (nor for that matter from the ATP). The three fractions at the lower end of the chain compete as consumers of stable phosphorus. Their joint capacity of intake equals the capacity of the ADP yield. In the process, these 3 consumers merely integrate the whole of the organic complex with the stable phosphorus built in.

Three equivalents of adenylic acid originate from the ADP which passes on to a consumer three parts of labile phosphorus. Our criteria throw a slightly different light on the position and role of this fraction; consequently, our conclusions differ from current opinion. According to experiments *in vitro*, the fraction in question could be used for the syntheses of all those organic compounds in whose structure it is found as a bound complex. Our experiments have revealed no qualitative but only quantitative grounds for our not being able to concur with current opinion; our objection however has an exclusive force. While the ATP becomes, according to Szent-Györgyi, reversibly rephosphorized (from the ADP, and this in turn from the free adenylic acid) in muscles when it works, no such phenomenon is observable in the liver of rats. Thus, for instance, if the free adenylic acid were able to meet the needs of the renewal of ATP, it would have to renew itself 13 times (within 3690 minutes), whereas, actually, it does so 3 times in all. Nor does the capacity of transport via the free adenylic acid meet the needs of regeneration of the nucleoproteids, for it could only satisfy one third of these. More interesting still is the case of coferments whose capacity of renewal could be amply satisfied by the free adenylic acid — with even a surplus of one equivalent of unused stable phosphorus. However, a comparison of the initial increase of radioactivity in these two fractions showed that the coferments had satisfied their capacity of regeneration before the free adenylic acid was able to transport the required amount of phosphorus. Consequently, the regeneration in question must have proceeded through other channels. The velocity rate of the renewal of coferments here does not correspond with the velocity the adenylic acid would need to enable it to fulfil its role. Therefore, the general conclusion must be to the effect that free adenylic acid is not an intermediate stage for the syntheses of combinations in which it is present as a bound component. It appears that the bound and the free acids are transported by different ways.

Though the free adenylic acid cannot provide us with any information as to its role in the metabolism of the liver in rats, such knowledge might be gained from the movements of its partner from which it separates at the moment of its formation. Its partners are the three equivalents of labile phosphorus which, as shown above, cannot be consumed by the fractions situated at the end part of the chain. Consequently, the possible consumers of the three equivalents of labile phosphorus from the ADP and of the 13th equivalent of labile phosphorus from the ATP must be sought among the frontal

fractions. Sugar seems to be the only likely consumer, for it is known from an earlier study of the metabolism of glucose (9, 10) and enzymologic researches (2) that glucose is able to join the process of decomposition only provided it first becomes transformed into hexozodiphosphorus acid, and in condition that it obtains for this stage both kinds of phosphorus from the labile fraction of ATP (respectively ADP). The above-mentioned transport surplus of 4 equivalents makes the conclusion inevitable that through these four equivalents only two mols of glucose can be caused to react. Moreover, studies by Ochoa and Lipmann (11, 7, 8) have shown that in complete oxidation any glucose can serve for the purpose of changing 24 new kinds of inorganic phosphorus into organically bound ones. It is obvious that two mols of activated glucose have a potential capacity high enough to effect the whole transport in the chain. There even remain unused 6 equivalents of the potential. It seems to us that we may assume that the capacity of glucose to provide the chain with inorganic phosphorus, and the capacity of the surpluses of labile phosphorus to activate glucose in the performance of its role, is not an accidental correspondense. On the contrary, we are convinced that the two processes are in mutual relationship as partners in the performance of the same task, viz. in the regeneration of the chain of phosphorus metabolism in the liver of rats. In point of fact, approximately 10 per cent of the activated phosphorus goes back from the stage of ATP and reenters the glucose, thus supplying it with the energy necessary to set in motion a new cycle of metabolism. From all that has been set out above there are grounds for supposing that the free adenylic acid in the liver of rats is produced as an irreversible and incidental product of the process by which the metabolic chain is provided with activated phosphorus for the needs of its autoregeneration.

Interesting is the destiny of 10 ADP equivalents the consumers of which can only be the coferments and the nucleoproteids, which integrate 10 equivalents of stable phosphorus. These fractions, however, lack the consumptive capacity for 10 equivalents of labile phosphorus, nor does the stable fraction enter into combination with them along the gradient of free adenylic acid. The only remaining possibility is that the labile phosphorus separates from the stable one in the act of synthesis at the moment when the ADP adenylic acid is passing over into the structure of coferments or nucleoproteids (making use of the energy present in its labile phosphorus).

At the end of chapter 2 it has been stated that the scheme as constructed makes possible an analysis of the order of reaction in the form of a uniform system. It can be seen that the entire transport process is accomplished in three basic stages. The first stage is effected by the group of sugar fractions transmitting 39 equivalents of phosphorus to the ATP to be built in there (two thirds of them as the labile fraction and one third as the stable one). The sugar fractions are first-class carriers, for it is they that activate phosphorus directly (inorganic into organic). The ATP is a second-class carrier because it obtains, as the only system at the second stage, phosphorus from the group of sugar fractions. All the other fractions get their supplies of phosphorus through the ATP and they are therefore third-class consumers and carriers. The third transport stage comprises, in various ways, five different

fractions including glucose which is, in other respects, the »genohead« of all first-class carriers. Glucose obtains, in retrograde way, about 10 per cent of activated phosphorus from the labile fraction, while taking approximately 90 per cent of phosphorus from the common inorganic fund. It is a feature worth noting that each of the three successive stages has the same equivalence of transport capacity as the other two (each stage obtaining and transmitting 39 equivalents at a time within a period of 3690 minutes).

In chapter 3 an analysis has been attempted of the relation between the transport and the accumulation roles of the fractions in the chain of transmittance. It is obvious that the frontal fractions with their high specific velocities of decomposition and low velocities of synthesis show a very pronounced function of transport and a minimum function of accumulation (73,2:1;-47,3:1;-43:1). On the other hand, with reference to the fractions at the end part of the chain with specific velocities of synthesis higher than those of decomposition, the transport function only just surpasses the accumulation function of the fraction (in the case of coferments and phospholipoids the relevant ratio is approx. 2:1 in favour of transport) or even the other way round, the accumulation function exceeds the transport function (nucleoproteid = 2,3:1 in favour of accumulation of phosphorus in the concentration).

In this chapter, the criterium of uniformity as regards the reaction of the reactive chain has been examined and checked from another aspect. The results have shown that in conditions of equivalence among transports of particular stages the proportions of concentrations in different fractions are in the same relations as the square proportions of their transports provided their fractions  $K^S / K^R$  are mutually equated. This applies in much the same degree both to the cases where this equation actually exists and to those where the equation of the fractions  $K^S / K^R$  has been arrived at by arithmetical computation. As the concentrations were determined by colorimetry and the transports computed from the quantity of the rise in radioactivity during the period of their increase in the fractions, this correspondence goes to show that the reaction chain functions as a uniform system, the factor of combination resting upon the transport of phosphorus by way of the chain.

At the end of chapter 3 the equations for computation of specific velocities in the running chain have been made to conform to the fact that the quantity of transport depends for its realization on the function of time.

## L I T E R A T U R A

1. Bertalamffy, L.: Theoretische Biologie — II Bd. — Bern — (1950).
2. Breusch, F. L.: Stoffwechsel der Kohlenhydrate — Physiol. Chemie — Berlin, — Heidelberg (B. Flaschenträger & E. Lehnartz) — (1954).
3. Gurney, R. W.: Ark. Kemi. Mineral. Geol., 143, 17 (1940).
4. De Groot, S. R.: Thermodynamics of irrenversible processes, Amsterdam — (1952).
5. Hevesy, G.: Radioactive indicators, New York-London — (1948).
6. Jost, A.: Handbuch d. norm. und pathol. Physiol., Bd. V (Bethe-Bergmann) Berlin — (1928).

7. Lipmann, F.: Green's Currents Biochem., Res. S. — 144.
8. Lipmann, F.: Adv. Enzymol.: 145 — (1941).
9. Magnus-Levy, A.: Handbuch d. Biochemie, Bd. 8, 399 — (1925).
10. Meyerhof, O.: Ergebn. Physiol., 39 — (1937).
11. Ochoa, S.: J. Biol. Chem., 138, 751 — (1941).
12. Pütter, A.: Vergleichende Physiologie, Jena — (1911).
13. Sachs, J.: J. Biol. Chem., 182/2, 655 — (1949).
14. Sabovljević, A.: Acta Naučnog društva NR Bosne i Hercegovine, Medic. VIII/4, 55 — (1957).
15. Sabovljević, A.: Ibid., VIII/4, 70 — (1957).
16. Sabovljević, A. i Perić, B.: Ibid, I, 179 — (1953).
17. Sabovljević, A, Bećarević, A, Micković, L. i Fajgelj, A.: Acta Naučnog društva NR Bosne i Hercegovine, Medic. IX/5 — (1958).
18. Sabovljević, A.: Ibid, X/6 — (1958).
19. Szent-Györgyi, A.: Acta litt-reg. Univ. Hung. Fr. Jozeph, Sect, Med. 9, 1 — (1937).
20. Szent-Györgyi, A.: Chemistry of muscular contraction, Academic press, New York — (1951).
21. Winterstein, H.: Handbuch d. Vergleichenden Physiologie, Jena — (1919—1925).

